



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ARGUMENTAIRE

# Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic sérologique de la toxocarose (*Larva migrans viscérale*)

Mars 2017

Cet argumentaire, réalisé en vue d'une prise en charge par l'assurance maladie obligatoire, est téléchargeable sur  
[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)

**Haute Autorité de Santé**

Service communication - information

5, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine Cedex

Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

# Sommaire

Abréviations et acronymes .....	4
Résumé .....	5
Introduction .....	6
<b>1. Contexte .....</b>	<b>7</b>
1.1 Source d'information.....	7
1.2 La toxocarose ou syndrome de <i>Larva migrans</i> viscérale .....	7
1.3 Les traitements .....	9
1.4 Diagnostic de toxocarose .....	10
1.5 Immunodiagnostic .....	11
1.6 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie .....	13
<b>2. Champ et méthode d'évaluation .....</b>	<b>14</b>
2.1 Recherche documentaire .....	14
2.2 Sélection des documents identifiés.....	15
2.3 Recueil de la position des professionnels.....	17
<b>3. Résultats de l'évaluation .....</b>	<b>18</b>
3.1 Analyse de la littérature .....	18
3.2 Analyse des données de pratique en France .....	19
3.3 Synthèse de la position des professionnels.....	22
Conclusion .....	25
Annexe 1. Recherche documentaire.....	26
Annexe 2. Analyse des documents citant les tests sérologiques préconisés pour la détection et/ou la confirmation de la toxocarose ( <i>Larva migrans</i> viscérale).....	29
Annexe 3. Réponses <i>in extenso</i> des parties prenantes .....	36
Annexe 4. Listes des tableaux et figures .....	46
Références .....	47
Fiche descriptive .....	48

## Abréviations et acronymes

Ac.....	anticorps
Ag.....	antigène
CDC .....	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
cf. ....	<i>confer</i>
CHAP .....	Commission de hiérarchisation des actes et des prestations
CNAMTS.....	Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés
COES.....	coélectrosynérèse
ECP.....	<i>Eosinophil Cationic Protein</i> (protéine cationique des éosinophiles)
EIA .....	technique immunoenzymatique
ELISA.....	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
ELS .....	électrosynérèse
fig .....	figure
HAGG .....	hémagglutination sensibilisée
IDD.....	immunodiffusion double
IE.....	immunoempreinte
IELP .....	immunoélectrophorèse
IFI.....	immunofluorescence
IgE.....	immunoglobuline E
LMO .....	<i>Larva migrans</i> oculaire
LMV.....	<i>Larva migrans</i> viscérale
NABM.....	nomenclature des actes de biologie médicale
PCR .....	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (réaction en chaîne par polymérase)
TES-Ag .....	<i>Toxocara Excretory-Secretory</i> (TES) <i>Antigens</i>
TC .....	toxocarose commune ( <i>covert</i> )
TN .....	toxocarose neurologique

## Résumé

### Objectif

L'objectif de ce travail était de préciser les techniques sérologiques de recherche d'anticorps anti-*Toxocara* actuellement validées pour la recherche initiale (dépistage) et la confirmation du diagnostic de toxocarose (*Larva migrans* viscérale) afin de répondre à une demande de l'Assurance maladie relative à l'actualisation de la liste des actes de diagnostic biologique, qu'elle rembourse. Cette demande prévoyait de limiter la recherche initiale aux techniques immunoenzymatiques, et la confirmation à l'immunoempreinte.

### Méthode

Elle a d'abord consisté en une analyse critique de la littérature synthétique identifiée par une recherche documentaire systématique portant sur la période 2010-2016. Aucune recommandation de bonne pratique, rapport d'évaluation technologique, méta-analyse ni revue systématique n'a été identifiée au terme de cette recherche documentaire. La littérature analysée a consisté en des revues générales (n=10), des fiches techniques (n=3) et d'un document pédagogique d'enseignement.

Ont ensuite été prises en compte les données de la pratique française, connues par les bases de remboursements de l'Assurance maladie et par deux contrôles nationaux de qualité réalisés par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

Enfin, la position argumentée des professionnels de santé concernés par cette infection a été recueillie *via* un questionnaire adressé aux biologistes médicaux<sup>1</sup>, aux infectiologues<sup>2</sup> et au laboratoire français le plus actif sur le sujet<sup>3</sup>.

### Conclusion

Les données ainsi recueillies indiquent que :

- la technique sérologique de référence à privilégier pour la recherche initiale de toxocarose est aujourd'hui les techniques immunoenzymatiques de type EIA (*Enzyme-Immuno Assay*) ou ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) ;
- en cas de résultat positif, la technique de confirmation est l'immunoempreinte (*Western blot*).

Le projet d'actualisation de la liste des actes de diagnostic biologique, remboursés par l'Assurance maladie, tel que proposé, apparaît donc pertinent et approprié.

---

<sup>1</sup> *via* le Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière.

<sup>2</sup> *via* le Conseil national professionnel d'infectiologie (ce dernier n'ayant pas répondu malgré des relances).

<sup>3</sup> Service de parasitologie et mycologie, Pôle biologie, Institut fédératif de biologie, Hôpital Purpan, Toulouse.

## Introduction

Dans le cadre de l'actualisation de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), la HAS a été saisie en septembre 2015 par la Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) afin d'évaluer divers actes relatifs au diagnostic biologique en parasitologie et en mycologie. Parmi les actes de sérologie parasitaires concernés par la révision figurent ceux de la toxocarose (*Larva migrans* viscérale) qui font l'objet du présent argumentaire, la toxocarose cutanée est en dehors du champ de cette demande.

Classiquement, le diagnostic de présomption des syndromes de *Larva migrans* viscérale repose dans un premier temps sur les signes cliniques, l'histoire de l'exposition aux parasites (contact avec chiens et chats) et les résultats de biologie standard (hyperéosinophilie, hyperleucocytose, immunoglobulines E totales élevées, vitesse de sédimentation et protéine C réactive élevées). Le seul diagnostic direct de certitude est la mise en évidence de larves de *Toxocara* dans les biopsies des tissus infectés, de l'humeur aqueuse ou du liquide cérébro-spinal mais celui-ci ne serait réalisé que très exceptionnellement. L'examen direct des selles n'est pas de mise puisque les larves sont séquestrées dans les tissus hôtes ; il n'y a donc ni œufs ni vers adultes dans les selles. Le diagnostic sérologique indirect resterait donc essentiel ; il consiste à dépister et confirmer la présence d'anticorps sériques anti-*Toxocara*.

Dans la version actuelle de la NABM, la recherche des anticorps sériques (sérologie) concerne un premier examen appelé « dépistage » devant être réalisé par au moins deux techniques parmi les suivantes : ELS - HAGG - EIA - IFI - IDD<sup>4</sup>, un examen de confirmation devant être réalisé par COES - IELP ou IE<sup>4</sup>, et le suivi par une des techniques mises en œuvre pour le dépistage (recherche initiale).

Le demandeur propose de modifier la NABM en supprimant les techniques estimées, selon lui, aujourd'hui « obsolètes ». Pour la recherche initiale (dépistage), il s'agit de supprimer les techniques ELS, HAGG, IFI et IDD pour ne garder que la technique EIA ; de ce fait, la préconisation d'utilisation de deux techniques sérologiques différentes pour le dépistage ne vaut plus. Pour la confirmation du diagnostic, il est proposé de supprimer les techniques COES et IELP pour ne garder que la technique IE.

Conformément à la feuille de route publiée sur ce sujet (1), l'objectif de ce travail est de renseigner les techniques de sérodiagnostic actuellement pertinentes pour la recherche d'anticorps anti-*Toxocara* aussi bien pour la recherche initiale que pour la confirmation.

---

<sup>4</sup> ELS : électrosynérèse (contre immunoélectrophorèse) ; HAGG : hémagglutination sensibilisée ; EIA : technique immunoenzymatique (y compris immunocapture) ; IFI : immunofluorescence ; IDD : immunodiffusion double (*Ouchterlony*) ; COES : coélectrosynérèse avec sérum de référence positif ; IE(L)P : immunoélectrophorèse ; IE : immunoempreinte (*Western Blot*).

# 1. Contexte

## 1.1 Source d'information

Ce chapitre de contexte a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus des revues générales, des recommandations de bonne pratique et des ouvrages didactiques.

## 1.2 La toxocarose ou syndrome de *Larva migrans* viscérale

### ► Définition

La toxocarose est une zoonose helminthique<sup>5</sup> causée par une infestation due à des parasites intestinaux : *Toxocara canis* (parasite du chien) et *Toxocara cati* (parasite du chat) (2, 3) ; il s'agit de nématodes (ascarides) de l'ordre des *Ascaridida* et de la superfamille des *Ascaridiodea*, appartenant à la famille des *Toxocaridae* (4).

Le plus souvent, la toxocarose humaine est transmise par les chiens ; elle peut dans de plus rares cas être transmise par les chats, en particulier ceux qui se nourrissent d'autres animaux contaminés par ce nématode (5).

### ► Épidémiologie

Des enquêtes séro-épidémiologiques ayant reposé sur l'évaluation du niveau d'anticorps IgG ont révélé que la toxocarose humaine était parmi les helminthiases les plus fréquentes dans le monde. Dans les pays occidentaux du groupe G8 (États-Unis, Japon, Canada, Allemagne, Royaume-Uni, Italie, France et Russie), la séroprévalence varie en fonction des zones. Elle est plus élevée en zones rurales : 35 à 42 %, elle est de 15 à 20 % dans les zones semi-rurales et de 2 à 5 % dans les zones urbaines (6).

Dans les pays en développement et certaines îles, les séroprévalences sont plus élevées, par exemple, le Nigeria (30 %), le Brésil (36 %), le Swaziland (44,6 %), la Malaisie (58 %), l'Indonésie (63,2 %), le Népal (81 %), les Îles Marshall (86,8 %) et La Réunion (93 %). Il faut néanmoins noter que l'analyse de séroprévalence entre les différents pays et études peut être biaisée par les différentes méthodes utilisées pour détecter les infections (*Western blot* ou ELISA), par la différence des seuils de titrage des anticorps, de même que par la difficulté à relier l'infection avec une maladie symptomatique (6, 7).

Ces données séro-épidémiologiques indiquent que l'exposition à l'infection à *Toxocara canis* et *Toxocara cati* est très répandue (8).

### ► Cycle évolutif du parasite et transmission chez l'Homme

Le cycle évolutif du parasite comprend plusieurs étapes (*cf.* Figure 1).

---

<sup>5</sup> Un helminthe est un ver parasite dont il existe plusieurs variétés chez l'homme et les animaux.

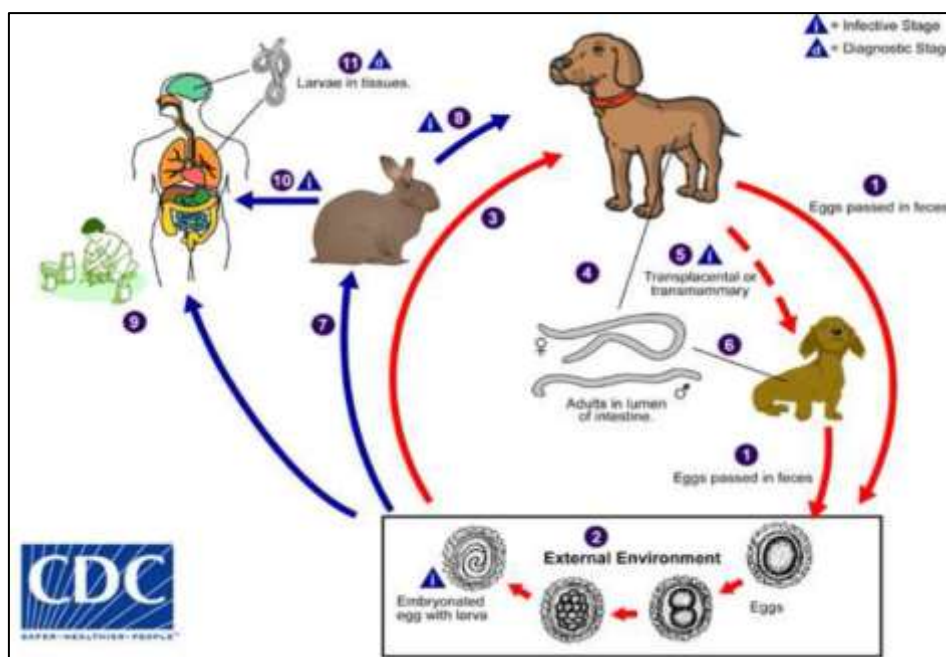


Figure 1. Cycle évolutif de *Toxocara canis* d'après les *Centers for Disease Control and Prevention*, 2013 (5).

- **Étape 1.** Les œufs embryonnés sont éliminés avec les selles de l'hôte définitif (chien adulte ou chiot) et deviennent infectieux dans l'environnement.
- **Étape 2.** Les œufs vont évoluer dans l'environnement externe entre deux et cinq semaines et donner naissance à une larve de 1<sup>er</sup> âge (L1), puis de 2<sup>ème</sup> âge (L2) et enfin de 3<sup>ème</sup> âge (L3). Cette larve L3 constitue l'élément infestant.
- **Étape 3.** Les œufs infectieux sont ingérés par des chiens<sup>6</sup>, les larves éclosent et pénètrent dans la paroi intestinale.
- **Étape 4.** Chez les jeunes chiens, les larves migrent à travers les poumons, l'arbre bronchique et l'œsophage ; les vers adultes se développent et pondent dans le petit intestin. Chez les chiens plus âgés, les larves sont le plus souvent enkystées dans les tissus.
- **Étape 5.** Les stades enkystés sont réactivés chez les chiennes en fin de grossesse et infectent les chiots par voie trans-placentaire et trans-mammaire.
- **Étape 6.** Les larves transmises par la mère au chiot migrent vers la lumière intestinale et évoluent en adultes matures. Les chiots éliminent les œufs dans l'environnement *via* leurs selles, et constituent ainsi une source importante de contamination.
- **Étape 7.** *Toxocara canis* peut également être transmis au chien par l'ingestion d'hôtes paranéétiques<sup>7</sup> : petits mammifères (ex : lapins) qui ont ingéré les œufs. Ces œufs éclosent chez le chien et les larves pénètrent dans la paroi intestinale et migrent dans divers tissus où ils enkystent.
- **Étape 8.** Le cycle de vie est terminé lorsque les chiens mangent ces hôtes ; les larves se développent en vers adultes et pondent dans l'intestin grêle.
- **Étapes 9 et 10.** L'Homme est un hôte accidentel, la contamination se fait principalement par ingestion d'œufs embryonnés présents dans des environnements souillés (bac à sable et aire de jeux), des aliments non lavés (salades) ou des abats crus ou peu cuits (5).

<sup>6</sup> Le cycle évolutif est similaire pour *Toxocara cati*.

<sup>7</sup> Il s'agit d'hôtes capables de véhiculer les œufs tout en les gardant intacts. Les œufs n'évoluent pas mais conservent leur caractère infectant s'ils sont consommés par les hôtes sensibles.



## ► La toxocarose (*Larva migrans* viscérale) chez l'Homme

Chez l'Homme, après ingestion des œufs embryonnés, les larves éclosent dans l'intestin grêle, pénètrent la paroi intestinale et migrent vers le foie où la plupart des parasites sont séquestrés en impasse de maturation, l'évolution du parasite restant bloquée au stade de larve. La migration des larves se fait ensuite *via* la veine porte puis les veines pulmonaires pour se disséminer dans les différents tissus (poumons, muscles, yeux ou système nerveux central) (3, 5, 8-10).

Les syndromes de *Larva migrans* viscérale correspondent à l'ensemble des symptômes provoqués par les migrations et la survie dans l'organisme des larves en impasse parasitaire (11).

## ► Clinique

En règle générale, la toxocarose est bénigne et asymptomatique ; elle évolue de façon spontanée vers la guérison. Néanmoins, une grande variété de syndromes existe, présentant des manifestations cliniques très polymorphes, selon les individus, la charge parasitaire et les organes touchés (3, 4, 8, 12-14).

- **Syndrome de *Larva migrans* viscérale (LMV)** : il touche divers organes, notamment le poumon et le foie. Il est plus fréquent chez les enfants de deux à sept ans et les symptômes cliniques sont associés à une infection hépatique et pulmonaire par les larves ; ils comprennent souvent une asthénie chronique, une fièvre, une respiration sifflante ou une toux, une hyperéosinophilie et une hépatomégalie.
- **Syndrome de *Larva migrans* oculaire (LMO)** : il survient habituellement chez les enfants et les jeunes adultes quand les larves de *Toxocara* atteignent l'œil. Le parasite provoque des réactions inflammatoires à l'origine d'une perte de la vision souvent accompagnée de strabisme en raison de la présence de lésions maculaires. Un examen plus approfondi révèle souvent une uvéite, une endophtalmie, une papillite, un granulome rétinien ou des masses inflammatoires dans le corps vitré.
- **Toxocarose neurologique (TN)** : c'est une forme plus grave de la maladie qui apparaît lorsque les larves de *Toxocara* se fixent au niveau du système nerveux central ou périphérique. Elle présente des symptômes non spécifiques tels que la fièvre, des maux de tête et des crises. Selon la zone touchée, l'infection peut provoquer diverses manifestations neurologiques graves, telles qu'une méningoencéphalite, ou d'autres manifestations neurologiques, comme la méningomyélite à éosinophiles, la vascularite cérébrale, l'épilepsie, la myélite, la radiculite, l'atteinte des nerfs crâniens ou l'affection des muscles squelettiques.
- **Toxocarose masquée (« covert ») ou commune (TC)** : elle est similaire à la LMV ; ses symptômes ne sont pas spécifiques et diffèrent en fonction du tissu affecté. Ils comprennent des douleurs abdominales récurrentes, qui sont souvent le seul symptôme révélateur de la maladie, ainsi qu'une anorexie, des troubles du comportement, une adénite cervicale, une respiration sifflante, des douleurs aux extrémités et de la fièvre.

## 1.3 Les traitements

Les premières mesures habituellement prises avant tout traitement relèvent d'attitudes préventives adaptées visant à éviter toute réinfection. Il peut s'agir :

- *de mesures individuelles* : vermifugation trisannuelle des chiens et des chats adultes, déparasitage mensuel des chiots jusqu'à six mois d'âge, lavage systématique des mains avant les repas et aussi, pour les enfants, après des jeux sur le sol, prévention de la géophagie ;
- *de mesures collectives* : éviction des chiens des parcs publics et des aires de jeux, et la suppression des bacs à sable publics ou renouvellement fréquent du sable (11).

Concernant le traitement, la guérison spontanée étant fréquente, un traitement anti-helminthique n'est prescrit que si les troubles cliniques persistent. La décision de traiter ou non un patient porteur d'une toxocarose dépendra alors du type de syndrome présenté (3, 15) :

- la *Larva migrans* viscérale chez l'enfant et l'adulte relève d'une thérapeutique étiologique ;
- la toxocarose commune ou « *covert toxocariasis* » avec hyperéosinophilie sanguine n'est pas nécessairement traitée avec des anti-helminthiques, car cette forme de la maladie guérit souvent spontanément. Un traitement antiparasitaire n'est envisagé que chez des sujets dont la maladie évolue depuis plus d'un mois, ou après insuffisance des mesures prophylactiques. Les patients asymptomatiques avec hyperéosinophilie chronique bénéficient seulement d'une prophylaxie adaptée ;
- la toxocarose oculaire étant rare et souvent grave, les corticoïdes peuvent être utilisés localement et/ou *per os* (1 mg/kg/jour pendant un mois) comme traitement initial. S'ils s'avèrent inefficaces, l'ajout d'un anti-helminthique est envisagé. En effet, le traitement parasitaire aggrave les lésions du fait de la lyse des parasites. Un examen ophtalmologique systématique est donc nécessaire avant tout traitement d'une toxocarose ;
- la toxocarose neurologique est traitée par corticothérapie (prednisolone 1,5 mg/kg/jour pendant quatre à six semaines), suivie éventuellement d'un traitement anti-helminthique si les lésions n'ont pas régressé (3, 15, 16).

### ► Suivi post-thérapeutique

Dans les formes généralisées de la zoonose, le suivi post-thérapeutique s'effectue par le biais de consultations de contrôle. L'efficacité du traitement s'apprécie sur l'évolution clinique et sur les paramètres biologiques (15) :

- non spécifiques : éosinophilie, titre des immunoglobulines E (IgE) totales et éventuellement de la protéine cationique des éosinophiles (ECP) ;
- spécifiques : titre des IgG anti-*Toxocara excretory-secretory antigens* (TES-Ag) (voir ci-dessous, chapitre 1.5.1), s'il était élevé avant traitement.

Le suivi des formes compartimentées, oculaires et neurologiques (formes rares), relève de la pratique de ces deux spécialités, et va se baser essentiellement sur l'évolution des troubles fonctionnels, des anomalies décelées à l'examen ophtalmologique et des données de l'imagerie médicale (15).

## 1.4 Diagnostic de toxocarose

L'établissement d'un diagnostic clinique de toxocarose chez l'homme est difficile du fait du polymorphisme des syndromes (dû à la diversité des organes pouvant être infectés par *Toxocara*) et l'absence de signes cliniques spécifiques de la maladie (9, 12, 17). Les résultats de biologie standard (hyperéosinophilie, hyperleucocytose, immunoglobulines E totales élevées, vitesse de sédimentation et protéine C réactive élevées) ne sont par ailleurs pas non plus spécifiques et peuvent également être associés à d'autres infections parasitaires ou virales ou encore à des anomalies du système immunitaire (9).

La recherche parasitologique classique des œufs et des parasites adultes dans les selles n'est pas utile dans le cas de la toxocarose puisque le parasite, n'arrivant pas au stade adulte chez l'hôte humain, les œufs ne peuvent pas être produits et ne sont donc pas retrouvés dans les selles (9, 12).

Le seul diagnostic de certitude reste la visualisation directe des larves (par microscopie), dans le liquide cérébro-spinal et les milieux intraoculaires (ophtalmoscopie) ou encore la visualisation de sections ou débris de larves à l'examen anatomopathologique de biopsies ou de fragments d'organes (15). Néanmoins, les biopsies ne sont généralement pas recommandées, la procédure étant extrêmement invasive et la probabilité d'obtenir un tissu contenant une larve *Toxocara* est très faible ; elle dépend de la charge larvaire et du stade d'infection (12).

Ainsi, en l'absence de preuve parasitologique directe de l'infection, il est fait appel à la recherche des anticorps sériques anti-*Toxocara* par méthode immunologique (9, 18).

## 1.5 Immunodiagnostic

### 1.5.1 Production d'antigènes spécifiques de *Toxocara canis*

À la fin des années 50, les premiers tests sérologiques utilisés avaient employé des extraits préparés à partir de vers adultes de *T. canis* qui contenaient des épitopes hautement réactifs avec les *Ascaris* et d'autres helminthes, et qui en conséquence manquaient de spécificité (9). Il a de plus été démontré ultérieurement que ces préparations à base de vers adultes n'étaient pas utiles pour l'immunodiagnostic car la plupart des antigènes larvaires reconnus par le système immunitaire des hôtes humains infectés étaient absents du panel antigénique des vers adultes (15).

En 1975, de Savigny (19) a décrit un système de culture *in vitro* qui reposait sur le maintien en survie de larves de *T. canis* dans des milieux sans sérum. Ces larves cultivées *in vitro* demeurent mobiles et métaboliquement actives et sécrètent des antigènes pendant des mois, imitant ainsi la toxocarose humaine. Ces antigènes larvaires excrétoires-sécrétoires, appelés *Toxocara excretory-secretory antigens* (TES-Ag), représentent donc une source de matériel pour l'immunodiagnostic ; ils sont préférables aux extraits larvaires car ils sont commodes à produire et parce qu'une étape d'absorption-purification n'est pas nécessaire pour obtenir une spécificité maximale (14).

Les TES-Ag sont un groupe de glycoprotéines sécrétées par les larves au cours de leur métabolisme ; ils se composent de diverses protéines d'environ 30 à 400 kDa présentant une teneur élevée en glucides. Le caractère très immunogène de ces glycoprotéines au cours de l'infection, en font la principale cible des examens diagnostiques (12, 15).

### 1.5.2 Description des techniques de détection des anticorps sériques proposées pour la version réactualisée de la NABM

#### ► Technique immunoenzymatique (EIA ou ELISA)

La technique EIA ou ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps<sup>8</sup>. Il s'agit d'une technique quantitative.

Dans le cas de la toxocarose, les techniques EIA développées actuellement détectent les anticorps d'isotype IgG dirigés contre les TES-Ag (ELISA-TES IgG). D'après Magnaval *et al.*, une quinzaine de trousse de diagnostic pour la détection *in vitro* de *Toxocara* étaient commercialisées en 2014, et présenteraient des performances relativement similaires (15).

La performance diagnostique de l'EIA utilisant des TES-Ag est présentée dans la littérature comme très satisfaisante avec une sensibilité supérieure à 90 % et une spécificité de 90 à 95 % (20). Néanmoins, il a été signalé des réactions croisées avec les sérums de sujets atteints de strongyloïdose ou de trichinellose (15).

#### ► Immunoempreinte IE (technique du *Western blot*)

L'immunoempreinte (IE) aussi appelé *Western blot* (WB), immunoblot ou immunotransfert est une technique employée pour analyser des protéines individuelles dans un mélange protéique.

Le mélange protéique est soumis à une électrophorèse sur gel dans une matrice porteuse (SDS-PAGE, PAGE native, focalisation isoélectrique, électrophorèse sur gel bidimensionnelle, etc.) afin de trier les protéines par taille, par charge, ou toute autre différence, par bandes individuelles de protéines. Les bandes de protéines séparées sont ensuite transférées vers une membrane porteuse (par ex., nitrocellulose, nylon ou PVDF). Ce procédé porte le nom de **transfert**, les protéines adhèrent à la membrane de la même manière qu'elles ont été séparées en raison des interactions entre les charges. Les protéines de cet **immunotransfert** peuvent ensuite être utilisées pour être

<sup>8</sup> <http://www.technobio.fr/article-18589062.html>

liées aux anticorps en vue du diagnostic. Le principe consiste à appliquer sur la membrane des anticorps marqués qui sont spécifiques des protéines que l'on veut détecter<sup>9,10</sup>.

Dans le contexte de la toxocarose, l'IE détecte les IgG dirigées contre des TES-Ag ; ce test a été mis au point à la fin des années 1980.

Les sérums de patients atteints de toxocarose présentent un profil caractéristique (Figure 2) avec un groupe de quatre bandes de bas poids moléculaire (BPM) de 24, 28, 30 et 35 kDa, et un groupe de trois bandes de haut poids moléculaire (HPM) de 132, 147 et 200 kDa (15).

L'analyse statistique des réactions anticorps-antigènes a démontré que seules les bandes de faible masse moléculaire (24-35 kDa) étaient hautement spécifiques pour la toxocarose (8, 15, 21). Grâce à ces deux bandes, le *Western blot* est donc un examen plus spécifique de la toxocarose que l'examen ELISA précédent.

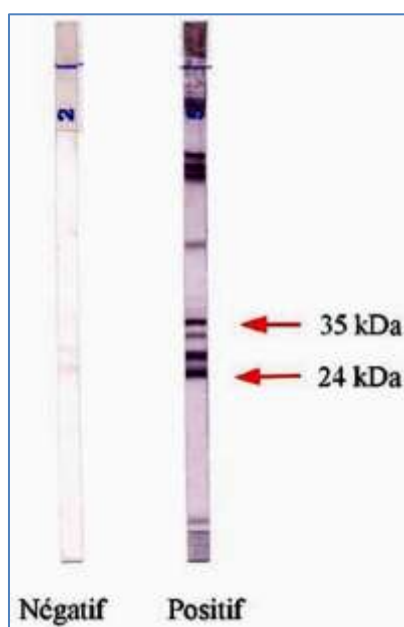


Figure 2. *Western blot* caractéristique de toxocarose d'après l'Association française des enseignants de parasitologie et mycologie, 2014 (11).

### 1.5.3 Immunodiagnostic des infections à *Toxocara cati*

Même s'il existe des fractions propres aux TES-Ag de *T. cati*, il y a une grande similitude entre les deux espèces et des réactions croisées existent entre *T. canis* et *T. cati* (3, 15). Ainsi, le WB utilisant les TES-Ag de *T. canis* est incapable de différencier les deux types d'infection (15).

À ce jour, il n'existe pas de test spécifique à *T. cati*.

<sup>9</sup> <http://www.anticorps-enligne.fr/resources/17/1224/test-de-western-blot-immunotransfert-electrophorese-de-proteines-sur-gel/>

<sup>10</sup> <http://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-western-blot-13475/>

## 1.6 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie

Dans la version actuelle du sous-chapitre 7-05 de la NABM relatif à la sérologie parasitaire, le diagnostic de toxocarose (*Larva migrans* viscérale) est réalisé par la recherche d'anticorps anti-*Toxocara* selon plusieurs techniques.

Les volumes des actes réalisés en 2014 et 2015 sont présentés dans le Tableau 1. Il s'agit de chiffres extraits des bases de remboursement du Régime général incluant les sections locales mutualistes, la Métropole et les DOM.

**Tableau 1. Codes NABM et cotations relatifs à la sérologie de *Larva migrans* viscérale (toxocarose).**

Code NABM	Intitulé	Volumes réalisés en 2014	Volumes réalisés en 2015
4340	<b>Dépistage</b> par au moins deux techniques parmi les suivantes : ELS - HAGG - EIA - IFI - IDD.	14 974	15 437
4341	<b>Test de confirmation</b> en utilisant la technique COES.	0	2
4342	<b>Test de confirmation</b> en utilisant la technique IELP.	0	5
4343	<b>Test de confirmation</b> en utilisant la technique IE.	3 330	3 025
6340	<b>Suivi</b> avec examen itératif du sérum ayant servi au sérodiagnostic de dépistage par une des techniques mises en œuvre pour ce dépistage.	142	157

ELS : électrosynérèse ; HAGG : hémagglutination sensibilisée ; EIA : technique immunoenzymatique (y compris immunocapture) ; IFI : immunofluorescence ; IDD : immunodiffusion double (*Ouchterlony*) ; COES : coélectrosynérèse avec sérum de référence positif ; IE(L)P : immunoélectrophorèse ; IE : immunoempreinte (*Western blot*).

## 2. Champ et méthode d'évaluation

Le demandeur propose de modifier la nomenclature relative au diagnostic sérologique de toxocarose en supprimant les techniques de recherche d'anticorps estimées, selon lui, aujourd'hui « obsolètes ». Pour le dépistage (recherche initiale), il s'agit de supprimer les techniques ELS, HAGG, IFI et IDD pour ne garder qu'une seule technique l'EIA ; de ce fait, la préconisation d'utilisation de deux techniques sérologiques différentes pour le dépistage n'est plus d'actualité. Pour la confirmation du diagnostic, il est proposé de supprimer les techniques COES et IELP pour ne garder que la technique IE.

Cette évaluation a pour objectif de définir les techniques de recherche d'anticorps considérées aujourd'hui comme les plus appropriées au regard des dernières données de la littérature et de la pratique.

La mise en évidence de larves de *Toxocara canis* dans les biopsies des tissus infectés et le diagnostic de *Toxocara* par amplification génique ne sont pas dans le champ de la demande.

La méthode d'évaluation utilisée dans ce rapport par la HAS est fondée, conformément à ce qui a été défini dans la feuille de route adoptée par le Collège de la HAS (1), sur :

- l'analyse critique de la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, méta-analyses, revues systématiques et revues générales), identifiée par une recherche documentaire systématique ; les revues générales ont été recherchées compte tenu de l'absence d'identification d'une littérature synthétique de meilleure qualité méthodologique ;
- le recueil de la position argumentée des professionnels, au moyen d'un questionnaire adressé aux organismes professionnels des praticiens concernés (Conseil national professionnel [CNP] d'infectiologie, CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière), et au laboratoire français « référent »<sup>11</sup> ;
- la compilation de ces différents éléments dans un argumentaire, soumis directement au Collège pour validation.

### 2.1 Recherche documentaire

#### 2.1.1 Bases de données bibliographiques

##### ► Liste des bases interrogées

Les bases bibliographiques suivantes ont été interrogées :

- la base de données *Medline* ;
- la *Cochrane Library* ;
- la base de données Pascal ;
- la base de données Lissa (Littérature scientifique en santé) ;
- la base de données *Lilacs* (*Latin-American and Caribbean System on Health Sciences Information*).

##### ► Stratégie d'interrogation des bases et résultats

La recherche a porté sur la littérature synthétique publiée en langue anglaise et française.

<sup>11</sup> Au travers de la lecture de la littérature portant sur le diagnostic sérologique de *Larva migrans*, il a été identifié une seule équipe française, celle du CHU de Toulouse, travaillant activement sur le sujet et qui est par ailleurs régulièrement citée par les différents auteurs à l'international. Une recherche documentaire spécifique sur les sites de revues françaises sur la biologie, a pu retrouver cette même équipe. Cette même information a été confirmée par le responsable scientifique de la demande, contacté lors de la clarification de la demande et enfin par la responsable du laboratoire en question.



Elle a porté sur la période de janvier 2010 à septembre 2016. Une veille a été réalisée jusqu'en février 2017.

La stratégie de recherche dans les bases de données est détaillée dans le Tableau 3 en Annexe 1.

Le nombre total de références obtenues par la recherche dans les bases de données est 101.

### 2.1.2 Sites internet

La recherche sur les sites internet a été faite en octobre 2016. Une veille documentaire a été réalisée jusqu'en février 2017. La liste détaillée des organismes consultés est présentée en Annexe 1.

La liste des sites consultés est présentée en Annexe 1.

#### ► Recherche et résultats

Ont aussi été recherchés ici les recommandations de bonne pratique, les rapports d'évaluation de technologie de santé, les méta-analyses, les revues systématiques et les revues générales, publiés par différents organismes (agences d'évaluation, sociétés savantes, institutions sanitaires, ministère de la santé, ...).

Les sites internet ont été interrogés en fonction des modalités de recherche propres à chacun : consultation de la liste des publications et/ou requête dans le moteur de recherche avec les mots-clés suivants : *toxocara*, *toxocarosis*.

Cette recherche a permis d'identifier cinq documents.

## 2.2 Sélection des documents identifiés

Une analyse sur titres et résumés a permis de réaliser une première sélection sur la base des critères d'exclusion suivants :

- articles hors sujet (relatifs à d'autres parasitoses ou articles de recherche fondamentale) ;
- articles doublons identifiés conjointement par les deux bases consultées ;
- études sur l'animal.

Cette première sélection a permis d'exclure 70 documents.

Une analyse sur les documents *in extenso* a été réalisée dans un deuxième temps. Elle a retenu tous les documents qui décrivaient de façon claire et/ou préconisaient les techniques de sérodiagnostic actuellement utilisées pour le diagnostic de *Larva migrans*. Quinze documents ont été retenus à l'issue de cette phase de sélection. L'ensemble du processus de sélection est résumé dans le schéma ci-dessous (*cf.* Figure 3).

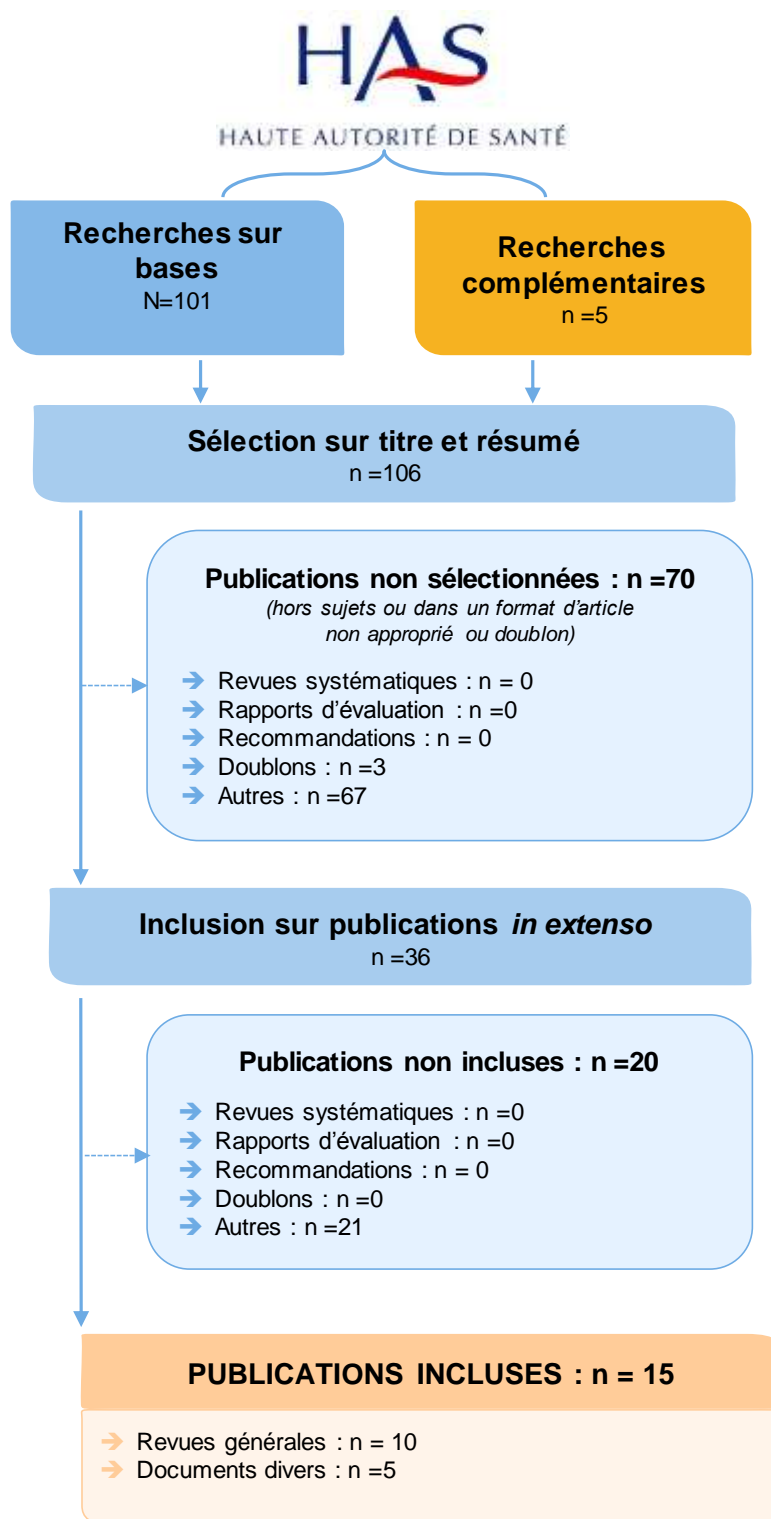


Figure 3. Diagramme de sélection des références bibliographiques identifiées.



## 2.3 Recueil de la position des professionnels

### 2.3.1 Organismes professionnels consultés

Les organismes contactés pour les consultations et leur répartition par type de discipline sont présentés ci-dessous.

**Tableau 2. Organismes consultés.**

Disciplines	Organismes
Infectiologie	Conseil national professionnel d'infectiologie (CNP-FFI)
Biologie médicale	Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière
Laboratoire référent	Service de parasitologie et mycologie, Pôle biologie, Institut fédératif de biologie (IFB), CHU de Toulouse - Hôpital Purpan.

### 2.3.2 Méthode de consultation des parties prenantes

Les parties prenantes sont définies selon le décret n°2013-413 du 21 mai 2013 portant approbation de la charte de l'expertise sanitaire prévue à l'article L. 1452-2 du Code de la santé publique. Il s'agit de recueillir le point de vue des parties « intéressées ».

Chacun des organismes cités ci-dessous a été sollicité pour apporter sa position sur le diagnostic sérologique de toxocarose ou *Larva migrans* viscérale. Un questionnaire (*cf.* Annexe 3) a été adressé à l'ensemble des parties prenantes sollicitées qui étaient invitées à rédiger leur réponse de façon argumentée en s'appuyant sur les référentiels *ad hoc*.

Les points de vue émis par les parties prenantes sont présentés *in extenso* en Annexe 3. La HAS a réalisé une synthèse des principaux éléments de réponse qui figure au chapitre 3.3 de ce document.

## 3. Résultats de l'évaluation

### 3.1 Analyse de la littérature

#### 3.1.1 Présentation des études

Aucune recommandation de bonne pratique, rapport d'évaluation des technologies de santé ou méta-analyse n'a été identifié lors de la recherche documentaire. Une seule revue systématique traitant du syndrome de *Larva migrans* viscérale avec atteinte cardiaque a été identifiée mais elle ne décrivait pas de façon claire les techniques utilisées dans les études originales pour le dosage des titres sériques d'anticorps, de même qu'elle n'émet pas de préconisation sur les aspects diagnostiques.

À l'issue de la sélection de la littérature, 15 documents ont été analysés :

- dix revues générales qui décrivent de façon exhaustive les aspects du diagnostic sérologique ;
- trois fiches techniques dont deux sont publiées par des agences et instituts de santé étrangers et une troisième fiche issue du précis de Biopathologie et analyses médicales spécialisées, publié par le laboratoire Biomnis ;
- un document pédagogique portant sur le syndrome de *Larva migrans* publié par l'Association française des enseignants de parasitologie et mycologie (Anofel) ;
- le rapport du Contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale en parasitologie réalisé par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSaPS, devenue ANSM-Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) et ayant notamment traité de la sérologie *Larva migrans* (toxocarose).

Compte tenu de la nature des documents disponibles sur le sujet, essentiellement des revues générales, les critères méthodologiques habituellement utilisés par la HAS pour la sélection des articles et la détermination de leur niveau de qualité scientifique n'ont pu être appliqués. En conséquence, les préconisations et recommandations recueillies n'ont ici qu'une valeur descriptive.

#### 3.1.2 Résultats de l'analyse

Les conclusions et préconisations qui ressortent des documents analysés dans cet argumentaire sont présentées dans le Tableau 4 en Annexe 2. La synthèse des principaux éléments est présentée ci-dessous.

Le diagnostic de toxocarose (dépistage et confirmation) repose principalement sur la recherche des anticorps sériques anti-*Toxocara* par méthode immunologique (3, 9, 11, 14, 18, 22, 23).

#### Concernant le diagnostic initial,

- selon la majorité des documents analysés, la technique **de référence** pour la recherche des Ac sériques pour le diagnostic initial de toxocarose est l'**ELISA** (EIA) (2, 3, 8, 9, 12, 15, 17, 18, 21-24) ;
- les anticorps détectés par ces ELISA sont les IgG développées contre les TES-Ag de larves de troisième stade de *Toxocara canis* (2, 3, 8, 9, 12, 15, 17, 18, 21-24) ;
- la spécificité et la sensibilité de TES-Ag ELISA (EIA) sérique pour les IgG peuvent varier selon les auteurs de 90 à 91 % et de 73 à 100 % respectivement (24) ; plusieurs trousse sont actuellement commercialisées (3) ;
- il existe une réactivité antigénique croisée avec d'autres helminthes, tout particulièrement avec les trichines et les strongyloïdes, ce qui réduit considérablement la spécificité de l'ELISA, en particulier dans les régions subtropicales et tropicales où le polyparasitisme est fréquent (3, 18) ;
- aucun des documents analysés ne préconise l'utilisation de deux techniques de recherche des Ac sériques pour la recherche **initiale** de toxocarose ;

- les autres méthodes, telles l'immunofluorescence indirecte (IFI), l'électrosynérèse (ES) et l'immunoélectrophorèse (IEP), ne doivent plus être utilisées pour le diagnostic de toxocarose, car elles manquent de spécificité (3), ou ne sont pas mentionnées, comme l'hémagglutination sensibilisée (HAGG) et l'immunofluorescence (IFI).

#### Concernant la confirmation du diagnostic,

- la littérature analysée préconise le recours à un examen de confirmation suite à un résultat positif obtenu avec l'ELISA ;
- la technique retenue est le *Western blot* détectant les IgG dirigées contre des antigènes de faible masse moléculaire (24-35 kDa) de *T. canis* ; cet examen s'est révélé plus spécifique que l'ELISA pour l'immunodiagnostic de toxocarose et permet ainsi de **confirmer les résultats positifs** de l'ELISA (2, 3, 8, 12, 15, 18, 21) ;
- les techniques COES et IELP ne sont pas mentionnées dans la littérature sélectionnée ;
- pour le diagnostic immunologique des formes généralisées, LMV et toxocarose commune ou « *covert toxocariasis* », l'usage combiné des deux méthodes assure un rendu rapide et peu coûteux des résultats négatifs grâce à l'ELISA-TES IgG et garantit la spécificité des positivité détectées avec le WB (2, 15) ;
- en Europe, les résultats positifs de TES-Ag ELISA sont confirmés par l'utilisation d'un test IE TES-Ag (9) ; aux États-Unis, le test est limité à l'ELISA TES-Ag, et l'IE n'est pas réalisé (9).

#### Concernant les très rares cas<sup>12</sup> de toxocaroses compartimentées,

- la toxocarose oculaire est difficile car les titres spécifiques d'anticorps sériques anti-*T. canis* peuvent être faibles ou absents, ce qui n'exclut cependant pas le diagnostic ; la détection d'anticorps spécifiques dans l'humeur vitreuse et/ou aqueuse avec différentes méthodes immunologiques contribue à confirmer le diagnostic (9, 23, 24) ;
- pour le diagnostic de la toxocarose neurologique, un test immunodiagnostic doit être réalisé sur le sérum mais également sur le liquide céphalo-spinal (9).

#### Concernant le suivi,

- les documents analysés ne mentionnent pas le recours à la sérologie **dans le suivi** des syndromes de *Larva migrans* viscérale.

## 3.2 Analyse des données de pratique en France

### 3.2.1 Données de l'UNCAM

Il s'agit du volume d'actes présentés au remboursement auprès de l'Assurance maladie.

#### *Évolution du volume de réalisation de l'acte de recherche initiale (dépistage) entre 2012 et 2015*

À noter que les données contenues dans les bases de remboursement ne permettent pas d'identifier la ou les techniques utilisées. Une progression significative (45 %) du volume d'actes réalisés pour le dépistage sérologique a néanmoins été observée entre 2012 et 2015 (cf. Figure 4). Aucune explication à cette augmentation, notamment d'ordre épidémiologique, n'a pu être identifiée à ce stade (à noter cependant que les cas de toxocarose effectivement diagnostiqués ne semblent pas avoir augmenté puisque le nombre d'actes de confirmation est stable, cf. ci-dessous).

---

<sup>12</sup> Moins d'un cas par an de LMO selon le CNP d'ophtalmologie.

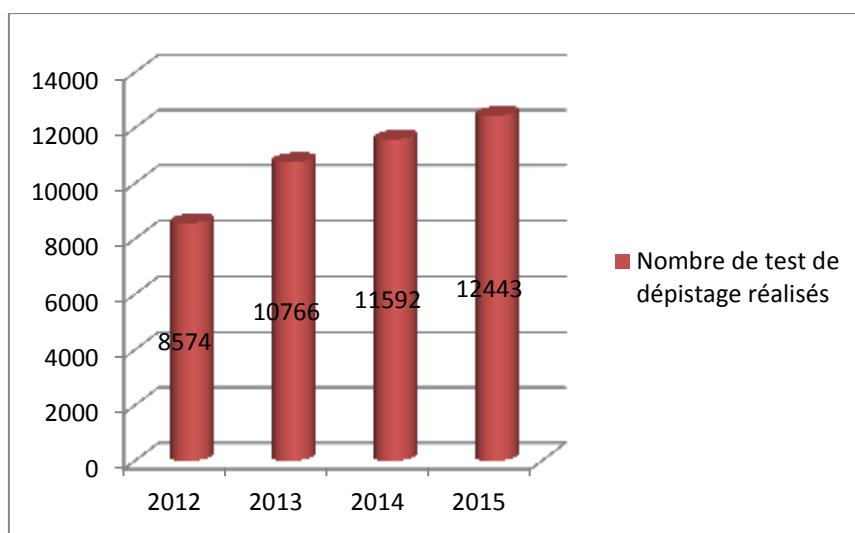


Figure 4. Évolution du volume des tests de recherche initiale (dépistage) réalisés entre 2012 et 2015.

#### Évolution du volume des tests de confirmation réalisés entre 2012 et 2015

Les données fournies par le demandeur montrent, sur la période 2012-2015 (cf. Figure 5), une utilisation quasi-exclusive de la technique d'IE : immunoempreinte (*Western blot*) comme technique de confirmation du diagnostic de toxocarose, avec un volume d'actes stable sur cette période.

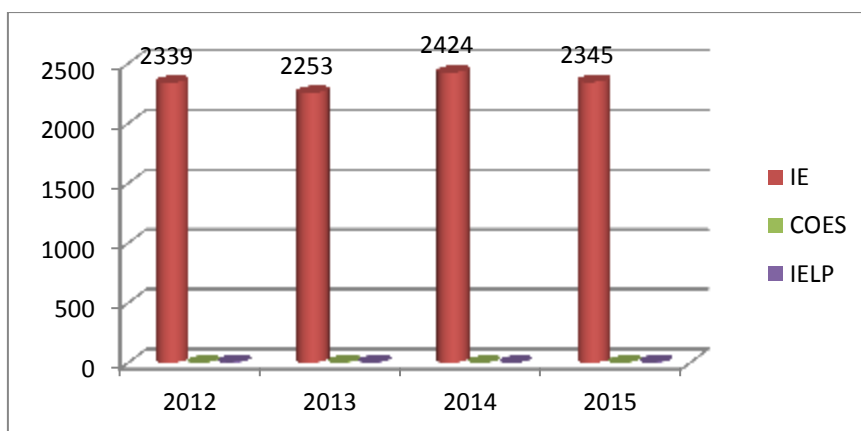


Figure 5. Nombre de tests de confirmation réalisés entre 2012 et 2015 par année et par type de technique.

Ces dernières données convergent avec l'analyse de la littérature et confirment donc que la COES et l'IELP sont deux techniques largement abandonnées au profit de l'IE pour la réalisation du test de confirmation du diagnostic de toxocarose.

### 3.2.2 Annales du Contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Parmi les paramètres contrôlés par l'ANSM lors du Contrôle national de qualité (CNQ) que cette agence a réalisé en 2004 sur la parasitologie (25), figurait la sérologie *Larva migrans* (toxocarose).

Trente-neuf laboratoires, en majorité hospitaliers, ont testé deux échantillons destinés au sérodiagnostic de *Larva migrans* (un positif, intitulé E9, et un à la limite de positivité, intitulé E49). Ces deux échantillons, déjà analysés lors d'un précédent CNQ en 1999, ont été proposés pour la seconde fois aux 39 laboratoires participants.

Ce CNQ de 2004 a permis d'avoir des informations quant aux pratiques de ces 39 laboratoires :

- tous utilisaient la technique EIA (ELISA) pour la recherche initiale ;
- vingt-trois (59 %) utilisaient le *Western blot* (IE) pour la confirmation de la positivité des échantillons.

Les données recueillies dans le cadre des CNQ de 1999 et 2004 sont concordantes avec la nouvelle proposition de la nomenclature ; elles montrent clairement que la technique ELISA était utilisée par tous les laboratoires depuis 1999, pour la recherche initiale. Au regard de ces mêmes données, la technique de confirmation la plus fréquente était le *Western blot* (IE).

### Synthèse de l'analyse critique de la littérature

- La littérature identifiée et sélectionnée pour analyse est de très faible niveau de preuve ; elle est essentiellement constituée de revues générales.
- Les données analysées sont néanmoins convergentes avec la demande.
- Elles reconnaissent ainsi le rôle majeur de la sérologie (recherche des Ac sériques) dans l'établissement du diagnostic de toxocarose (*Larva migrans* viscérale) (et l'absence d'une réelle place pour l'examen direct des selles et de la biologie moléculaire).
- La technique sérologique de référence pour la recherche initiale (dépistage) de toxocarose est la technique immunoenzymatique (EIA/ELISA), qui recherche des IgG développées contre les antigènes excrétés-sécrétés (TES-Ag) de larves de troisième stade de *T. canis* ; la sensibilité de cette technique est considérée comme très satisfaisante (supérieure à 90 %).
- Il n'est pas préconisé de réaliser deux techniques de recherche des Ac sériques pour le dépistage initial.
- L'immunofluorescence indirecte (IFI), l'électrosynérèse (ELS) et l'immunoélectrophorèse (IELP) ne sont plus recommandées pour la recherche initiale de toxocarose.
- L'hémagglutination sensibilisée (HAGG) et l'immunofluorescence (IFI) ne sont pas mentionnées dans les documents analysés pour la recherche initiale de toxocarose.
- Les résultats positifs de l'EIA (ELISA) sont confirmés par Immunoempreinte (IE/*Western blot*), technique hautement spécifique en raison de la réactivité à des bandes de 24 à 32 kDa propres à l'infection par *T. canis*.
- Dans les très rares cas de toxocarose oculaire et de toxocarose neurologique, les anticorps sériques anti-*T. canis* peuvent être faibles ou absents, la détection d'anticorps spécifiques dans l'humeur vitreuse et/ou aqueuse et dans le liquide cérébro-spinal contribue à confirmer le diagnostic.
- L'immunoélectrophorèse (IELP) et la Coélectrosynérèse (COES) et ne sont pas mentionnées dans la littérature sélectionnée pour la confirmation du diagnostic de toxocarose.
- Les documents analysés ne mentionnent pas la sérologie pour le suivi des syndromes de *Larva migrans* viscérale.

L'analyse des données de pratique en France permettent par ailleurs de conforter cette position :

- en ce qui concerne la recherche initiale (dépistage), les CNQ de 1999 et 2004 indiquent que la technique EIA (ELISA) est la seule utilisée (laboratoires ayant participé aux deux CNQ) ;
- en ce qui concerne la confirmation, la technique de WB est celle qui est majoritairement utilisée depuis 1999 (données des CNQ de 1999 et 2004) puis exclusivement depuis 2012 (données de BIOLAM).

### 3.3 Synthèse de la position des professionnels

Trois organismes (cf. chapitre 2.3.1) ont été sollicités pour apporter leur position sur le diagnostic sérologique de toxocarose ou *Larva migrans* viscérale. Le Conseil national professionnel d'infectiologie (CNP-FFI) n'a pas répondu à la sollicitation de la HAS malgré plusieurs relances. Une synthèse des principaux éléments de réponse, apportés par le CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière et par l'Institut fédératif de biologie est présentée ci-dessous.

#### Concernant l'examen de première intention pour le dépistage de *Larva migrans* viscérale

Les parties prenantes confirment que la recherche des anticorps (Ac) sériques anti-*Toxocara* est actuellement l'examen de biologie médicale majeur pour l'établissement du diagnostic de *Larva migrans* viscérale.

La mise en évidence du parasite dans les échantillons tissulaires prélevés par biopsie est très peu sensible et donc très peu réalisée. Elle est utile uniquement dans les prélèvements d'humeur aqueuse ou du liquide cérébro-spinal.

Actuellement, la NABM prévoit le recours à deux techniques différentes de recherche des Ac sériques anti-*Toxocara* pour le dépistage initial de toxocarose. Les parties prenantes interrogées considèrent qu'il n'y a pas de bénéfice majeur à combiner deux techniques de dépistage, la preuve d'une plus grande sensibilité n'a pas été démontrée par cette pratique. En revanche, l'utilisation d'une technique de confirmation est nécessaire (voir ci-dessous).

Les parties prenantes considèrent que l'ELISA est la technique de référence pour la recherche des Ac sériques anti-*Toxocara* lors du dépistage initial. L'ELISA, selon eux, est une technique commercialisée, reproductible et automatisable (facilement accréditable) ce qui rend sa mise en œuvre plus aisée. Elle possède les qualités techniques et analytiques adaptées en situation de dépistage, tant en biologie de ville qu'en CHU.

Les techniques actuelles d'ELISA recherchent des IgG développées contre les antigènes excrétés-sécrétés (TES) de larves de troisième stade L3 de *T. canis*. Les parties prenantes reconnaissent que ces mélanges d'Ag sont les meilleurs en l'état actuel des connaissances pour le diagnostic sérologique de toxocarose. En effet, le renouvellement permanent de l'enveloppe de *Toxocara* rend l'utilisation d'antigène de surface inadaptée avec une sensibilité du test médiocre. Les antigènes TES permettent aussi de s'affranchir du mécanisme d'échappement immunitaire développé par le parasite.

Les parties prenantes considèrent que les autres techniques de dépistage telles que l'ELS, l'HAGG, l'IFI et l'IDD-*Ouchterlony* sont reconnues aujourd'hui comme étant des techniques obsolètes pour le dépistage initial de la toxocarose. Elles manquent de spécificité et de reproductibilité, qui sont conditionnées par la qualité de l'antigène utilisé. Pour ces techniques, les résultats sont dépendants des supports utilisés (immunodiffusion) et la lecture est influencée par l'expérience du biologiste médical, ce qui n'est pas compatible avec les exigences actuelles de qualité.

#### Concernant la confirmation d'un résultat positif au dépistage

Les parties prenantes reconnaissent la nécessité d'utiliser une seconde méthode pour confirmer le genre parasitaire et pour documenter le diagnostic. Il existe en effet une communauté antigénique entre nématodes qui positive les tests ELISA (faux positifs) et qui rend indispensable la confirmation du dépistage par une technique très spécifique éliminant les réactions croisées.

**L'immunoempreinte (IE) (*Western blot*)** est selon les parties prenantes la **technique de référence pour l'examen de confirmation**. Il s'agit d'une technique robuste qui a largement confirmé sa capacité intrinsèque à distinguer les Ac dirigés contre des épitopes spécifiques de *Toxocara* et les Ac non spécifiques. Il existe des trousse commercialisées et une possibilité d'automatisation. Pour les mêmes raisons que celles évoquées plus haut pour le test le dépistage initial, les Ag TES sont les plus performants pour le diagnostic de la toxocarose par IE.



Les parties prenantes ont également confirmé que l'IELP et la COES sont aujourd'hui des techniques obsolètes pour la confirmation du diagnostic de la toxocarose. Elles nécessitent selon elles des efforts colossaux pour maintenir un niveau de qualité acceptable pour l'accréditation et donc ne peuvent quasiment plus être utilisées.

### **Concernant l'examen de suivi**

Les données de pratique en France montrent que le volume d'actes de recherche d'Ac sériques anti-*Toxocara* dans le suivi des syndromes de *Larva migrans* viscérale est très peu significatif (157 actes pour 2015, cf. Tableau 1, page 13). Au regard de ce faible volume, les parties prenantes ont été interrogées sur la pertinence de maintenir ou pas l'examen de suivi dans la NABM. Une divergence d'opinions est apparue entre les deux parties prenantes ayant participé à cette évaluation.

Le CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière confirme que le suivi sérologique est effectivement peu utilisé dans la toxocarose car les anticorps peuvent persister longtemps. Néanmoins, dans la mesure où le diagnostic suppose la mise en place d'un traitement, il est logique de vérifier l'efficacité de ce traitement notamment par le suivi sérologique. Ce suivi doit donc rester possible mais limité aux patients recevant un traitement antiparasitaire (et non ceux bénéficiant d'une corticothérapie). Par ailleurs, ces contrôles sérologiques n'ont pas d'intérêt à être réalisées trop tôt, ni trop fréquemment. Un dosage sérologique à distance (> 6-12 mois) du traitement est utile et doit rester possible, sous conditions de reprendre le sérum antérieur en parallèle.

Le laboratoire de référence de l'Institut fédératif de biologie (IFB) considère par ailleurs qu'il n'y a pas de place pour le suivi sérologique quelle que soit la technique employée.

### **Concernant les formes compartimentées de toxocarose**

Les parties prenantes ont confirmé que les titres d'anticorps sériques anti-*T. canis* peuvent être faibles ou absents dans le cas de la toxocarose oculaire et de la toxocarose neurologique du fait des spécificités anatomiques de ces deux formes cliniques. Dans ces cas, la mise en évidence d'une réponse locale, au niveau de l'humeur aqueuse ou du LCS, est un élément contributif important pour le diagnostic de ces formes localisées. Les Ac doivent donc être recherchés en parallèle dans le sérum et dans le compartiment concerné (humeur aqueuse ou LCS) par IE.

### **Concernant les autres examens de diagnostic et dépistage**

#### *Biologie moléculaire*

Les parties prenantes considèrent qu'il n'y a actuellement pas de preuve de l'intérêt des techniques moléculaires en routine diagnostique pour la toxocarose.

Néanmoins, la biologie moléculaire peut représenter une bonne perspective d'avenir notamment pour les formes compartimentées de toxocarose pour lesquelles le diagnostic reste difficile. À l'heure du développement de la biologie moléculaire en parasitologie, sa mise en œuvre dans un contexte de suspicion de toxocarose oculaire ou neurologique peut être intéressante.

En effet, en cas de présence d'anticorps sériques et dans le compartiment, il n'y a, à ce jour, pas de moyen d'affirmer que l'atteinte est oculaire ou cérébrale. La certitude n'existe que si les anticorps sont présents dans le compartiment et absents du sang. La possibilité d'avoir un diagnostic de certitude *via* la biologie moléculaire est une bonne perspective d'avenir compte tenu de la gravité potentielle de ces formes cliniques compartimentées.

#### *Recherche directe des larves dans les biopsies des tissus infectés*

Selon les parties prenantes interrogées, la recherche directe de larves dans les tissus est difficile à réaliser et n'a pas un rendement diagnostique satisfaisant, sa sensibilité est proche du zéro. De

plus, du fait des nombreuses méthodes « maison » utilisées, elle est difficilement comparable entre laboratoires. Son utilisation dans de très rares cas particuliers (en particulier, recherche oculaire) doit être possible et acceptée, mais non systématiquement recommandée.



## Conclusion

Dans le cadre de l'actualisation de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), la HAS a été saisie en septembre 2015 par la Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) afin d'évaluer divers actes relatifs au diagnostic biologique en parasitologie et en mycologie ; parmi ces actes figurent le diagnostic sérologique (recherche des Ac sériques) de la toxocarose (*Larva migrans* viscérale) qui fait l'objet du présent argumentaire.

Le demandeur propose de modifier la NABM en supprimant les techniques estimées, selon lui, aujourd'hui « obsolètes ». Pour la recherche initiale, il s'agit de supprimer les techniques ELS, HAGG, IFI et IDD pour ne garder que la technique immuno-enzymatique (EIA/ELISA). Pour la confirmation, il est proposé de supprimer les techniques COES et IELP pour ne garder que la technique d'immunoempreinte (IE).

L'objectif de ce travail était de préciser les techniques actuellement validées pour la recherche des Ac anti-*Toxocara* aussi bien pour la recherche initiale que pour la confirmation.

Les données recueillies sont composées de la littérature synthétique identifiée, essentiellement constituée de revues générales, donc de très faible niveau de preuve, et de la position des professionnels interrogés (CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière et Institut fédératif de biologie de Hôpital Purpan à Toulouse). L'ensemble de ces données sont convergentes avec la demande.

Ainsi, le rôle majeur de la recherche des Ac sériques dans l'établissement du diagnostic de toxocarose est largement reconnu dans les documents analysés.

Concernant la recherche initiale, il n'est plus indiqué de réaliser simultanément deux techniques de recherche des Ac sériques comme spécifié dans la version actuelle de la NABM. La technique sérologique de référence est l'ELISA (EIA). Les autres techniques (IFI, l'ELS, l'IDD et l'HAGG) ne sont plus utilisées pour le diagnostic de toxocarose.

En cas de résultats positifs à l'ELISA/EIA, technique dont la sensibilité est élevée, le diagnostic de confirmation est réalisé par IE (*Western blot*), technique plus spécifique. La littérature ne cite pas la COES et l'IELP en tant que techniques possibles pour la confirmation du diagnostic.

L'analyse des données de pratique a par ailleurs montré, que depuis 2004, cette démarche diagnostique était déjà adoptée en France.

Le recours à la sérologie dans le suivi des syndromes de *Larva migrans* viscérale est rare, car les anticorps anti-*Toxocara* peuvent persister longtemps. Ce suivi doit rester limité aux patients recevant un traitement antiparasitaire.

À titre d'information<sup>13</sup>, concernant le cas particulier des toxocaroses compartimentées (oculaire et neurologique) pour lesquelles les titres spécifiques d'anticorps sériques anti-*T. canis* peuvent être faibles ou absents, la détection d'anticorps spécifiques dans l'humeur vitreuse et/ou aqueuse et dans le liquide cérébro-spinal avec différentes méthodes immunologiques, notamment l'IE, contribue à confirmer le diagnostic.

Par ailleurs, et également à titre d'information, la recherche directe des larves dans les biopsies des tissus infectés est très peu contributive.

Au total, les éléments recueillis au cours de cette évaluation sont convergents avec la modification de la nomenclature proposée par le demandeur, elle en apparaît en conséquence pertinente et appropriée.

<sup>13</sup> Puisque la demande concernait la sérologie de *Larva migrans* viscérale.

## Annexe 1. Recherche documentaire

### Bases de données bibliographiques

La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et/ou types d'étude les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche.

Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française. Le Tableau 3 présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données *Medline*. Des références doublons peuvent être présentes entre les différents types d'études.

Le nombre total de références obtenues par la recherche dans les bases de données bibliographiques est 106.

**Tableau 3. Stratégie de recherche dans la base de données *Medline*.**

Type d'étude/sujet Termes utilisés		Période
<b>Diagnostic de la toxocarose</b>		01/2010-09/2016
Etape 1	(toxocariasis/diagnosis/mot-clé majoré OR larva migrans/diagnosis/mot-clé majoré) OU (((toxocariasis OR larva migrans)/de OR (toxocar* OR larva migrans)/ti,ab) AND (diagnosis/mot-clé majoré OR (detect* OR diagnos* OR test OR tests* OR testing OR screen*)/ti))	
ET		
Etape 2	(recommendation* OR guideline* OR statement* OR consensus OR position paper)/ti OR (health planning guidelines)/de OR (practice guideline OR guideline OR consensus development conference OR consensus development conference, NIH)/pt	
OU		
Etape 3	(metaanalys* OR meta-analys* OR meta analysis OR systematic review* OR systematic overview* OR systematic literature review* OR systematical review* OR systematical overview* OR systematical literature review* OR systematic literature search)/ti OR meta-analysis/pt OR Cochrane Database Syst Rev/so	
OU		
Etape 4	(sensitivity and specificity OR predictive value of tests OR false negative reactions OR false positive reactions OR diagnostic errors OR observer variation OR reproducibility of results OR quality control OR reference standards)/de OR (evaluation studies OR validation studies)/pt OR (sensitivity OR sensitive OR specificity OR specific OR sensibility)/ti OR (diagnosis performance OR predictive value OR false negative OR false positive OR prognosis OR prognostic value OR reliability OR reliable OR reproducibility)/ti,ab	
OU		
Etape 5	(clinical trial* OR comparative stud* OR versus)/ti OR clinical trial/pt OR comparative study/pt	
OU		
Etape 6	(cohort* OR longitudinal stud* OR follow-up stud* OR prospective stud* OR retrospective stud*)/ti OR (cohort studies OR longitudinal studies OR follow-up studies OR prospective studies OR retrospective studies)/de	
OU		
Etape 7	review/ti OR Review/pt	
<b>Etudes françaises</b>		01/2010-09/2016
Etape 1		
ET		
Etape 8	france/de OR (french OR france)/ti,ab OR france/affiliation OR france/pays de publication	

## Sites consultés

Sont recherchés ici les revues systématiques, les méta-analyses, les rapports d'évaluation des technologies de santé ou les recommandations de bonne pratique publiées par différents organismes (agence d'évaluation, société savante, ministère de la santé, ...).

- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - ANSES
- Association française des enseignants de parasitologie et de mycologie - ANOFEL
- Bibliothèque médicale Lemanissier
- Catalogue et index des sites médicaux francophones - CISMef
- Haut conseil de la santé publique - HCSP
- Haute Autorité de Santé - HAS
- Institut de recherche pour le développement - IRD
- Institut Pasteur
- Ministère en charge de la santé
- Santé publique France
- Société de pathologie exotique
- Société de pathologie infectieuse de langue française - SPILF
- Société française de biologie clinique - SFBC
- Société française de médecine générale - SFMG
- Société française de parasitologie
- Société française de pédiatrie - SFP
  
- Agence de la santé publique du Canada
- *Agency for Healthcare Research and Quality* - AHRQ
- *American Academy of Family Physicians* - AAFP
- *American Academy of Pediatrics* - AAP
- *American College of Physicians* - ACP
- *American Pediatric Association* - APA
- *American Pediatric Society* - APS
- *American Society for Microbiology* - ASM
- *American Society of Parasitologists* - ASP
- *American Society of Tropical Medicine and Hygiene* - ASTMH
- *Asia-Pacific Society of Clinical Microbiology and Infection* - APSCMI
- *Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada* - AMMI
- *Australasian College of Tropical Medicine* - ACTM
- *Australasian Society for Infectious Diseases* - ASID
- *Australian Society for Parasitology*
- *Clinical Evidence*
- *British Infection Association* - BIA
- *British Society for Parasitology* - BSP
- *Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases* - CACMID
- *Canadian Foundation for Infectious Diseases*
- *Centers for Disease Control and Prevention* - CDC
- Centre fédéral d'expertise des soins de santé - KCE
- *Centre for Reviews and Dissemination databases*
- *Clinical Practice Guidelines Portal* - CPGP
- *CMA Infobase*
- *Cochrane Library*
- Collège des médecins du Québec
- *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* - ESCMID
- *Guidelines International Network* - GIN
- *Infectious Diseases Society of America* - IDSA

- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux - INESSS
- *International Federation for Tropical Medicine*
- *International Society for Infectious Diseases*
- Laboratoire de santé publique du Québec - LSPQ
- *National electronic Library of Infection* - NELI
- *National Guideline Clearinghouse* - NGC
- *National Health Services* - NHS
- *National Institute for Health and Clinical Excellence* - NICE
- *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* - NIAID
- *National Institutes of Health* - NIH
- *New Zealand Guidelines Group* - NZGG
- Orphanet
- *Paediatric Society of New Zealand*
- *Public Health England*
- *Royal College of Paediatrics and Child Health* - RCPCH
- *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* - RSTMH
- *Scottish Intercollegiate Guidelines Network* - SIGN
- *Singapore Ministry of Health*
- Société canadienne de pédiatrie
- Société québécoise de biologie clinique - SQBC
- *Tripdatabase*
- *World Health Organization* - WHO

## Veille

En complément, une veille a été réalisée jusqu'en février 2017 sur les sites internet énumérés ci-dessus.

Une mise à jour a été effectuée sur *Medline* jusqu'en février 2017.

Les sommaires des revues suivantes ont été examinés tout au long du projet :

- Annales de biologie clinique
- Revue francophone des laboratoires
- Pathologie biologie
- Option/Bio
- Annales de pathologie
- Immunoanalyse & biologie spécialisée
- Médecine et maladies infectieuses
- Spectra biologie

## Annexe 2. Analyse des documents citant les tests sérologiques préconisés pour la détection et/ou la confirmation de la toxocarose (*Larva migrans viscérale*)

Tableau 4. Principales conclusions et préconisations portant sur les tests diagnostiques de *Larva migrans* émises par les auteurs.

Titre du document Auteur, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
<p><i>Ocular toxocarasis: new diagnostic and therapeutic perspectives</i> Martínez-Pulgarín <i>et al.</i>, 2015 (24)</p>	<p>Les tests sérologiques utilisés sont l'ELISA indirect qui recherche des IgG développées contre les antigènes excrétés-sécrétés (TES) de larves de troisième stade de <i>Toxocara canis</i>.</p> <p>Cependant, le diagnostic de la toxocarose oculaire est toujours difficile car les titres spécifiques d'anticorps sériques anti-<i>Toxocara canis</i> peuvent être faibles ou absents, ce qui n'exclut néanmoins pas le diagnostic.</p> <p>Par conséquent, la détection d'anticorps spécifiques dans l'humeur vitreuse et/ou aqueuse avec différentes méthodes immunologiques contribue à confirmer un diagnostic.</p> <p>La spécificité et la sensibilité de l'ELISA sérique pour les IgG peuvent varier selon les auteurs, allant de 90-91 % à 73-100 % respectivement. Pour les cas de toxocaroses aiguës actives, les mesures de l'avidité des anticorps IgG par ELISA sont également utilisées pour compléter le diagnostic.</p> <p>« Nous avons recommandé l'utilisation de ce test chez des patients présentant des titres absents ou faibles d'IgG ELISA dans le sérum et chez des patients présentant une chorioretinite focale inexpliquée, des lésions focales postérieures, une endophtalmie ou une vitrite, en particulier chez ceux présentant des facteurs de risque épidémiologique ».</p>	<p><b>Schéma</b> : revue de la littérature.</p> <p><b>Objectif</b> : réaliser un état des lieux actualisé concernant l'épidémiologie, les facteurs de risque, les manifestations cliniques, le diagnostic, le traitement et la prévention de la toxocarose oculaire.</p> <p><b>Méthode d'élaboration</b> : recherche de la littérature sur la « toxocarose oculaire » sur les bases de données PubMed, ScienceDirect, Scopus, SciELO et Lilacs.</p> <p>Analyse et synthèse de la littérature avec interprétation et formulation de perspectives.</p> <p>Revue de la littérature non exhaustive, méthode d'élaboration succinctement décrite, période de recherche non précisée.</p> <p><b>Conflit d'intérêts</b> : aucun conflit d'intérêts déclaré par les auteurs.</p> <p><b>Niveau de preuve</b> : très faible.</p>
<p><i>Cerebral toxocarasis: silent progression to neurodegenerative disorders?</i> Fan <i>et al.</i>, 2015 (8)</p>	<p>Le diagnostic dans le contexte de la pratique clinique repose principalement sur les techniques immunologiques.</p> <p>Il s'agit notamment du dosage immunoenzymatique (ELISA) utilisant des antigènes excrétés-sécrétés (TES) de <i>Toxocara canis</i> ou utilisant des antigènes TES fractionnés pour le Western blot.</p> <p>L'utilisation d'antigènes TES recombinants (rTES) pour les deux méthodes sérologiques a également démontrée une meilleure spécificité que celle des antigènes TES natifs.</p>	<p><b>Schéma</b> : revue générale.</p> <p><b>Objectif</b> : définir une hypothèse qui permette d'explorer la relation entre la présence de larves de <i>T. canis</i> dans le cerveau et la progression de la maladie d'Alzheimer (MA) du fait de l'augmentation de l'expression des biomarqueurs neurodégénératifs associés à la MA.</p> <p>Cette revue décrit entre autres le processus d'investigation clinique et immunodiagnostique (qui a été repris ici).</p> <p><b>Conflit d'intérêts</b> : non renseigné par les auteurs.</p> <p><b>Niveau de preuve</b> : très faible.</p>

Titre du document Auteur, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
<p>Diagnostic biologique de la toxocarose humaine Magnaval <i>et al.</i>, 2014 (15) <i>Laboratory diagnosis of human toxocariasis</i> Fillaux et Magnaval, 2013 (2)</p>	<p>L'ELISA détectant les anticorps de classe IgG dirigés contre les Ag TES (ELISA-TES IgG) s'est imposé comme l'immunodiagnostic de référence.</p> <p>Le diagnostic immunologique des formes généralisées de la zoonose, LMV et toxocarose commune ou « <i>covert toxocariasis</i> », repose sur l'utilisation séquentielle de l'ELISA-TES IgG, puis du WB pour contrôler les positivités ELISA.</p> <p>Cette stratégie est d'ailleurs inscrite à la NABM.</p> <p>Il est souhaitable de contrôler aussi les sérums donnant des densités optiques situées dans la « zone grise », entre le seuil qui en constitue la limite supérieure et la limite inférieure, définies toutes deux par le fabricant de la trousse ELISA.</p> <p>L'usage combiné de ces deux méthodes assure, grâce à l'ELISA-TES IgG, un rendu rapide et peu coûteux des résultats négatifs et garanti avec le WB la spécificité des positivités détectées.</p>	<p><b>Schéma</b> : revues générales.</p> <p>Il s'agit du même article publié en français et en anglais par les mêmes auteurs dans deux journaux différents.</p> <p>Il traite essentiellement du diagnostic biologique de toxocarose.</p> <p><b>Conflit d'intérêts</b> : aucun conflit d'intérêts déclaré par les auteurs.</p> <p><b>Niveau de preuve</b> : très faible.</p>
<p><i>Human toxocariasis: current advances in diagnostics, treatment, and interventions</i> Marçal Schmidt Garcia Moreira <i>et al.</i>, 2014 (12)</p>	<p>L'utilisation des antigènes excrétés-sécrétés (TES) de <i>Toxocara</i> dans les tests immunoenzymatiques (ELISA) est considérée depuis longtemps comme méthode standard d'immunodiagnostic de toxocarose.</p> <p>Les résultats positifs nécessitent une confirmation par <i>Western blot</i>.</p> <p>La production d'antigène TES natif est laborieuse, prend beaucoup de temps, nécessite au moins deux mois de travail intense et présente un faible rendement. Par comparaison, la production d'antigènes TES recombinants (rTES) dans un système <i>Escherichia coli</i> est beaucoup plus simple, ne nécessitant pas plus de cinq jours ouvrables et représente un processus plus contrôlé.</p> <p>En utilisant cette méthode, la production de rTES peut être réalisée environ six fois dans la même période qu'un procédé de production unique pour des TES natifs. Un autre inconvénient de l'utilisation de TES natif est sa réactivité croisée avec des anticorps générés contre d'autres infections helminthiques, nécessitant une incubation préalable des sérums avec des antigènes dérivés des helminthes connexes pour augmenter la spécificité.</p> <p>Les rTES produits ont montré une meilleure spécificité, sensibilité et applicabilité en matière de diagnostic initial de toxocarose et de surveillance de routine.</p>	<p><b>Schéma</b> : revue générale.</p> <p>Cette revue décrit les nouvelles voies de recherche pour améliorer l'immunodiagnostic, elle ne remet pas en cause les techniques d'immunodiagnostic utilisées qui reste toujours l'ELISA mais propose des Ag recombinants qu'elle décrit comme plus performants car plus spécifiques et plus rapides à produire.</p> <p><b>Conflit d'intérêts</b> : non renseigné par les auteurs.</p> <p><b>Niveau de preuves</b> : très faible.</p>



Titre du document Auteur, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
<p><i>Ocular toxocarosis: clinical features, diagnosis, treatment, and prevention</i> Ahn <i>et al.</i>, 2014 (18)</p>	<p>Sur le plan sérologique, le test standard le plus courant pour diagnostiquer la toxocarose humaine est le dosage immunoenzymatique indirect (ELISA) basé sur les antigènes excrétés-sécrétés (TES) de <i>T. canis</i>.</p> <p>Bien que la sensibilité et la spécificité de TES ELISA soient respectivement de 91 % et 86 %, la réactivité croisée antigénique réduit considérablement la précision, en particulier dans les régions subtropicales et tropicales où le polyparasitisme est fréquent.</p> <p>En revanche, une spécificité accrue peut être obtenue avec TES WB en raison de la réactivité à des bandes de 24 à 32 kDa spécifiques à l'infection par <i>T. canis</i>. La détection de sous-classes d'IgG s'est révélée plus efficace pour l'immunodiagnostic de <i>Toxocara sp. infection</i>.</p> <p>Il a été rapporté que les antigènes recombinants rTES peuvent offrir d'autres solutions pour le diagnostic sérologique en fournissant une sensibilité et une spécificité accrues par rapport aux antigènes excrétés-sécrétés natifs.</p>	<p><b>Schéma</b> : revue générale.</p> <p>Il s'agit d'une revue qui décrit les différents aspects relatifs à la toxocarose oculaire : caractéristiques cliniques, diagnostic, traitement et prévention.</p> <p><b>Conflit d'intérêts</b> : non renseigné par les auteurs.</p> <p><b>Niveau de preuve</b> : très faible.</p>
<p>Syndrome de <i>Larva migrans</i> Association française des enseignants de parasitologie et mycologie (Anofel), 2014 (11)</p>	<p>Les examens biologiques permettent d'évoquer la toxocarose. Une hyperéosinophilie importante parfois supérieure à 20 000 éosinophiles par mm<sup>3</sup> est très fréquemment associée à cette parasitose. Elle diminue lentement en plusieurs années. Une hyper gamma-globulinémie avec augmentation des IgE peut l'accompagner.</p> <p>Le diagnostic est exceptionnellement assuré par la visualisation de larves tissulaires. Ni les œufs, ni les adultes ne peuvent être recherchés, l'évolution du parasite étant bloquée au stade de larve L2.</p> <p>La sérologie demeure le meilleur outil diagnostique. Les techniques tendent à devenir de plus en plus spécifiques et l'importance des réactions croisées diminue (immunofluorescence indirecte, immunoélectrophorèse, ELISA, <i>Western blot</i>...).</p>	

Titre du document Auteur, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
<p><i>Ocular toxocariasis</i> Arevalo et al., 2013 (23)</p>	<p>Les méthodes de diagnostic standard pour la toxocarose oculaire (TO) sont l'imagerie et l'examen sérologique.</p> <p>Le diagnostic de la toxocarose repose principalement sur les méthodes immunologiques. Ainsi, les antigènes de <i>Toxocara</i> excrétés-sécrétés (TES) sont appliqués à différents tests immunologiques.</p> <p>Le test ELISA pour la détection des anticorps IgG spécifiques est, en particulier, largement préféré pour les diagnostics et les enquêtes séro-épidémiologiques.</p> <p>L'ELISA a fait de l'immunodiagnostic la principale méthode sérologique pour la détection de <i>Larva migrans</i> viscérale et pour la confirmation de la suspicion clinique de la TO.</p> <p>Il est particulièrement important de doser les titres d'anticorps anti-<i>Toxocara</i> par ELISA sur l'humeur aqueuse et/ou vitreuse lorsque le diagnostic clinique n'est pas clair ou lorsque l'ELISA sérique n'est pas concluante.</p>	<p><b>Schéma</b> : revue générale.</p> <p>L'objectif de cette revue est de décrire les manifestations de la toxocarose oculaire, sa pathogenèse, son épidémiologie, son diagnostic et sa prise en charge.</p> <p><b>Conflit d'intérêts</b> : non renseigné par les auteurs.</p> <p><b>Niveau de preuve</b> : très faible.</p>
<p><i>Toxocariasis: visceral larva migrans in children</i> Carvalho et Rocha, 2011 (17)</p>	<p>Les antigènes excrétés-sécrétés (TES) de <i>T. canis</i>. ont été utilisés pour l'immunodiagnostic de la toxocarose depuis 1979 par De Savigny et al.<sup>14</sup> qui ont rapporté que l'ELISA utilisant des antigènes TES était une méthode sensible et spécifique pour le diagnostic de <i>Larva migrans</i> (<i>T. canis</i>). La sensibilité de l'ELISA est supérieure à 90 % et sa spécificité est de 90 à 95 %.</p> <p>Dans certaines situations cliniques, un seuil inférieur rendrait le test plus efficace pour éliminer la maladie. Pour la <i>Larva migrans</i> oculaire, la faible sensibilité des tests sérologiques est probablement liée à la faible charge larvaire ou à la longue période entre l'infection initiale et le test de sérodiagnostic.</p> <p>La période moyenne entre le début de la maladie et le test de sérodiagnostic est inférieure à six mois dans les cas de <i>Larva migrans</i> viscérale (LMV), mais environ deux ans dans les cas de <i>Larva migrans</i> oculaire.</p>	<p><b>Schéma</b> : revue de la littérature.</p> <p><b>Objectif</b> : réaliser une analyse détaillée des facteurs de risque, des symptômes et des tests de laboratoire et d'imagerie utiles pour établir le diagnostic de <i>Larva migrans</i> viscérale chez les enfants. Démontrer l'importance du diagnostic et du traitement dans la prévention des complications au niveau des yeux, du foie et des autres organes.</p> <p><b>Méthode d'élaboration</b> : revue de la littérature avec recherche sur les bases de données <i>Medline</i> et <i>Lilacs</i> (1952-2009), et sélection des articles les plus récents et les plus représentatifs du sujet.</p> <p><b>Conflit d'intérêts</b> : aucun conflit d'intérêts déclaré par les auteurs.</p> <p><b>Niveau de preuve</b> : très faible.</p>

<sup>14</sup> De Savigny DH, Voller A, Woodruff AW. *Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay*. J Clin Pathol 1979;32(3):284-8.



Titre du document Auteur, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
<p><i>Human toxocariasis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms</i> Rubinsky-Elefant <i>et al.</i>, 2010 (21)</p>	<p>Le test standard et courant pour diagnostiquer la toxocarose humaine est l'ELISA indirect basé sur les antigènes excréteurs-sécréteurs de <i>T canis</i> L3.</p> <p>Les résultats ELISA positifs peuvent être confirmés par <i>Western blot</i>.</p> <p>Les anticorps dirigés contre des antigènes de faible masse moléculaire (24-35 kDa), peuvent être détectés avec une trousse de <i>Western blot</i> commercialement disponible en Europe. Ils sont considérés comme hautement spécifiques pour la toxocarose.</p> <p>Malheureusement, le <i>Western blot</i> est plus coûteux et plus exigeant que l'ELISA notamment en moyens humains.</p>	<p><b>Schéma</b> : revue générale.</p> <p>Il s'agit d'une revue qui traite du diagnostic actuel de laboratoire, de l'épidémiologie et des principales caractéristiques cliniques des formes systémiques et oculaires de la toxocarose humaine.</p> <p>Les nouveaux développements dans le diagnostic sérologique ont été décrits, les données de séroprévalence disponibles sont analysées et les résultats des études cliniques pertinentes qui ont été publiées au cours de la dernière décennie sont explorés pour fournir un aperçu mis à jour de cette infection humaine négligée mais très répandue.</p> <p><b>Conflit d'intérêts</b> : aucun conflit d'intérêts déclaré par les auteurs.</p> <p>Revue financée par la Fondation brésilienne pour le soutien à la recherche de l'État de Sao Paulo et le Conseil national de développement scientifique et technologique.</p> <p><b>Niveau de preuve</b> : très faible.</p>
<p><i>Toxocara canis, toxocara cati</i> Agence de la santé publique du Canada, 2010 (4)</p>	<p><b>SURVEILLANCE</b> : Rechercher les symptômes. Le test ELISA est l'épreuve diagnostique la plus courante.</p> <p>La toxocarose peut aussi être détectée par transfert Western, par PCR, par fixation du complément, par hémagglutination passive, par immunofluorescence indirecte et par ophtalmoscopie (dans le cas de la LMO).</p> <p>Remarque : les méthodes de diagnostic ne sont pas nécessairement toutes disponibles dans tous les pays.</p>	<p>Fiche technique.</p>

Titre du document Auteur, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
<p><i>Toxocarosis. Laboratory diagnosis</i> Centers for Disease Control and Prevention, 2013 (14)</p>	<p>Les tests de détection des anticorps sont le seul moyen de confirmer le diagnostic clinique de <i>Larva migrans</i> viscérale (LMV), <i>Larva migrans</i> oculaire (LMO) et toxocarose dissimulée, syndromes cliniques les plus fréquemment associés aux infections à <i>Toxocara</i>.</p> <p>Le test sérologique actuellement recommandé pour la toxocarose est l'essai immunoenzymatique (EIA) qui utilise des antigènes larvaires extraits d'œufs embryonnés ou libérés <i>in vitro</i> par des larves cultivées.</p> <p>Ces derniers antigènes excrétés-sécrétés de <i>Toxocara</i> (TES) sont préférables aux extraits larvaires car ils sont commodes à produire et parce qu'une étape d'absorption-purification n'est pas nécessaire pour obtenir une spécificité maximale.</p> <p>L'évaluation de l'EIA de <i>Toxocara</i> chez des groupes de patients présentant des diagnostics présumés de LMV ou de LMO a montré une sensibilité de 78 % et 73 %, respectivement, à un titre &gt; 1:32. Lorsque le seuil de positivité pour les LMO a été abaissé à 1:8<sup>15</sup>, la sensibilité a été augmentée à 90 %.</p> <p>Une confirmation supplémentaire de la spécificité du diagnostic sérologique de LMO peut être obtenue en testant des échantillons d'humeur aqueuse ou vitreuse pour des anticorps.</p> <p>La spécificité a été rapportée comme étant &gt; 90 % à un titre &gt; 1:32.</p>	<p>Fiche technique.</p>
<p>Toxocarose. Précis de biopathologie. Analyses médicales spécialisées Biomnis, 2013 (3)</p>	<p>Le diagnostic sérologique est essentiel, compte tenu de la difficulté du diagnostic direct. Il consiste à dépister et confirmer la présence d'anticorps sériques. Il y a des réactions croisées entre <i>T. canis</i> et <i>T. cati</i>.</p> <p>Parmi les techniques disponibles, l'immunofluorescence indirecte, l'électrosynérèse et l'immunoélectrophorèse utilisant <i>Ascaris suum</i> ne doivent plus être utilisées car elles manquent de spécificité.</p> <p>Les méthodes immunoenzymatiques ou techniques ELISA utilisent l'Ag ES (excrétion-sécrétion des larves de <i>T. canis</i>). Plusieurs troupes sont commercialisées avec des bonnes performances : sensibilité comprise entre 80 et 91 % et spécificité comprise entre 86 et 93 %. Les réactions croisées sont dues aux communautés antigéniques avec d'autres helminthes tout particulièrement avec les trichines et les anguillules.</p> <p>La technique d'immunoempreinte ou <i>Western blot</i> utilise l'Ag ES de <i>T. canis</i> séparé par électrophorèse en gel de polyacrylamide et transféré sur membrane de nitrocellulose. Elle permet de confirmer les résultats positifs ou douteux.</p>	<p>Fiche du précis de biopathologie.</p>

<sup>15</sup> Un titre de 1/32 signifie que les anticorps étaient encore en quantité suffisante après que le sérum ait été dilué 5 fois (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32).

Titre du document Auteur, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
<p><i>Immunodiagnosis of human toxocariasis and prospects for improved diagnostics</i> Wilkins, 2014 (9)</p>	<p><u>Bonnes pratiques pour le diagnostic de la toxocarose</u></p> <p>La meilleure pratique actuellement acceptée pour l'immunodiagnostic de la toxocarose clinique est la détection des IgG spécifiques de <i>Toxocara</i> en utilisant l'ELISA TES-Ag.</p> <p>En Europe, les résultats positifs de TES-Ag ELISA sont confirmés par l'utilisation d'un test IE TES-Ag.</p> <p>Le test aux États-Unis est limité à l'ELISA TES-Ag et l'IE n'est pas réalisé.</p> <p>Les kits commerciaux TES-Ag ELISA disponibles aux États-Unis et en Europe ont amélioré les sensibilités et les spécificités d'environ 90 %.</p> <p>Si l'on soupçonne la présence d'OT, le sérum et l'humeur vitreuse ou aqueuse doivent être soumis aux tests.</p> <p>De même, dans le cas de la TN, le sérum et le LCR doivent être testés et la <i>Baylisascaris</i> doit être exclue.</p> <p>Un résultat cliniquement positif chez un patient asymptomatique n'a pas de valeur diagnostique et ne devrait être envisagé que lorsque toutes les autres étiologies ont été exclues.</p>	<p><b>Schéma</b> : revue générale.</p> <p>Il s'agit d'une revue qui traite des progrès récents concernant le développement de cibles de protéines recombinantes pour mesurer les anticorps spécifiques de <b>Toxocara</b>.</p> <p>Les auteurs ont décrit les bonnes pratiques pour le diagnostic de la toxocarose dans un chapitre spécifique (<i>cf. ci-contre</i>).</p> <p><b>Conflit d'intérêts</b> : aucun conflit d'intérêts déclaré par les auteurs.</p> <p><b>Niveau de preuve</b> : très faible.</p>
<p><i>Diagnostic trends of human toxocariasis</i> Watthanakulpanich, 2010 (22)</p>	<p>À l'heure actuelle, les tests sérologiques utilisant des techniques immunologiques sont reconnus comme étant l'approche la plus efficace pour le diagnostic en laboratoire de l'infection par <i>Toxocara</i>.</p> <p>Le test sérologique standard pour confirmer la toxocarose est le test ELISA utilisant des antigènes TES issus de larves de <i>T. canis</i>.</p> <p>L'analyse par <i>Western blot</i>, aussi sensible que l'ELISA et relativement spécifique, doit être utilisée comme test de confirmation après le dépistage par ELISA.</p> <p>Les antigènes recombinants peuvent offrir d'autres solutions pour le sérodiagnostic de <i>Toxocara</i> en offrant une sensibilité et une spécificité accrues des TES natifs.</p>	<p><b>Schéma</b> : revue générale.</p> <p>Il s'agit d'une revue qui traite des tendances diagnostiques de la toxoplasmose humaine.</p> <p><b>Niveau de preuve</b> : très faible.</p>

### Annexe 3. Réponses *in extenso* des parties prenantes

Réponses du CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNP-BAIHH) au questionnaire relatif à la consultation à distance

## RELECTURE DU DOCUMENT PROVISOIRE ET CONFIDENTIEL INTITULÉ

**« *Modification de la Nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de diagnostic sérologique des infections à Larva migrans viscérale (Toxocarose)* »**

**Décembre 2016**

L'objectif de ce questionnaire est de recueillir la position de votre organisme professionnel ou de votre laboratoire quant à l'utilité, les indications des actes de biologie médicale permettant le dépistage et la confirmation de la toxocarose, en vue de modifier la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM).

Ce questionnaire vous est envoyé dans le cadre d'une évaluation de la HAS demandée par l'Assurance maladie, dans le but d'actualiser la NABM. Cette évaluation n'a pas pour objectif de définir des recommandations relatives à la stratégie diagnostique, ni à la prise en charge globale de la toxocarose (prophylaxie, traitement...).

Nous nous permettons d'attirer votre attention sur la nécessité d'argumenter vos réponses et de citer chaque fois que possible les documents sources qui répondent aux critères de sélection énoncés dans l'argumentaire (partie 2.2) et de les joindre aux réponses du questionnaire.

Veillez noter que l'ensemble des parties prenantes interrogées a reçu ce même questionnaire, votre organisme peut donc ne pas être concerné par certaines questions et ne pas y répondre. La liste des organismes consultés se trouve page 17 du rapport.

Vos réponses seront intégralement reproduites dans le rapport définitif d'évaluation que la HAS rendra public à l'issue de son processus d'évaluation. Jusqu'à cette échéance, l'argumentaire qui vous a été transmis demeure par conséquent strictement confidentiel.

Nos contraintes calendaires d'évaluation nécessitent que vous nous retourniez votre réponse par voie électronique avant le **16/01/2017** ([has.seap.secretariat@has-sante.fr](mailto:has.seap.secretariat@has-sante.fr)). Au-delà de cette échéance, nous estimerons que vous n'avez pas d'observations et considérerons votre absence de réponse comme une validation tacite de notre argumentaire provisoire.

Dans l'attente d'enrichir ce travail par votre relecture, nous demeurons à votre entière disposition pour toute précision qui vous serait utile.

## CONTENU D'ÉVALUATION

**En ce qui concerne le premier examen de recherche des anticorps sériques anti-Toxocara :**

**C1** Votre organisme considère-t-il que la recherche des anticorps (Ac) sériques anti-Toxocara est actuellement l'examen de biologie médicale majeur pour l'établissement du diagnostic de *Larva migrans* viscérale ?

*Oui, le parasite étant chez l'homme en impasse parasitaire, la sérologie est le seul outil permettant d'orienter le diagnostic*

L'utilisation de deux techniques différentes de recherche des Ac sériques anti-Toxocara pour le dépistage initial n'est pas retrouvée dans la littérature récente analysée. Pour rappel, la NABM actuelle prévoit le recours à deux techniques et il est proposé de supprimer ce recours.

**C2** Quelle est la position de votre organisme sur la nécessité ou pas d'utiliser deux techniques ?

*Les techniques de dépistage disponibles utilisent soit une méthode ELISA (toutes les techniques existantes sont basées sur des antigènes similaires avec des performances comparables), soit des méthodes telles que IFI et électrosynérèse qui sont des techniques « maison » de moindre sensibilité et/ou spécificité. Il n'y a donc pas de bénéfice majeur à combiner deux techniques de dépistage.*

*En revanche utiliser une technique de confirmation est nécessaire.*

La littérature récente analysée reconnaît l'ELISA comme technique de référence pour la recherche des Ac sériques anti-Toxocara lors du dépistage initial.

**C3** Quelle est la position de votre organisme sur la technique à utiliser pour réaliser cet examen de recherche initial des Ac sériques anti-Toxocara ?

*L'ELISA est la méthode de choix pour le dépistage des Ac sériques anti-Toxocara. En outre, elle est plus facilement accréditable que les techniques « maison ».*

Dans la littérature analysée, les techniques actuelles d'ELISA recherchent des IgG développées contre les antigènes excrétés-sécrétés (TES) de larves de troisième stade L3 de *T. canis*.

**C4** Votre organisme considère-t-il que ces antigènes restent toujours pertinents pour l'ELISA ou existe-t-il à votre connaissance des Ag plus performants ?

*Ces mélanges d'Ag sont les meilleurs en l'état actuel des connaissances pour le diagnostic sérologique de toxocarose.*

**C5** Votre organisme peut-il confirmer que l'électrosynérèse (ELS), l'hémagglutination sensibilisée (HAGG), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'immunodiffusion double (IDD-Ouchterlony), sont aujourd'hui des techniques obsolètes et qu'elles ne sont plus réalisées pour le dépistage initial de la toxocarose, comme l'indique la littérature analysée ?

*Les techniques d'immunodiffusion et IFI sont connues pour leur manque de spécificité et de reproductibilité, qui sont conditionnées par la qualité de l'antigène utilisé. Les résultats sont dépendants des supports utilisés (immunodiffusion), et la*

lecture est influencée par l'expérience du biologiste. Elles ne répondent plus aux exigences de qualité.

N.B. L'HAGG n'est pas une technique obsolète en soi, mais n'est guère utilisée pour le sérodiagnostic de toxocarose ; cette méthode rend service dans d'autres applications (hydatidose, distomatose, toxoplasmose), sans défaut technique majeur.

**En ce qui concerne l'examen de confirmation d'un résultat positif de l'examen précédent :**

La littérature récente analysée met en évidence la nécessité de confirmer les ELISA positifs au dépistage.

**C6**

**Quelle est la position de votre organisme par rapport à cette affirmation ?**

*L'utilisation d'une seconde méthode pour confirmation du genre parasite est nécessaire pour documenter le diagnostic. En effet, il existe une communauté antigénique entre nématodes qui positive les tests ELISA (faux positifs).*

La littérature analysée reconnaît l'immuno-empreinte (IE) (Western blot) comme technique de référence pour l'examen de confirmation.

**C7**

**Quelle est la position de votre organisme sur la technique à utiliser pour réaliser cet examen de confirmation ?**

*L'IE est une technique robuste ayant largement confirmé sa capacité intrinsèque à distinguer les anticorps dirigés contre des épitopes spécifiques de Toxocara et les anticorps non spécifiques. Il existe des trousse commercialisées et une possibilité d'automatisation.*

Selon votre organisme, quels sont les Ag que vous considérez aujourd'hui comme les plus performants pour le diagnostic de la toxocarose par IE ?

**C8**

*Le meilleur niveau de preuve concerne les TES selon la littérature.*

Votre organisme peut-il confirmer que l'immunoélectrophorèse (IELP) et la coélectrosynérèse avec sérum de référence positif (COES) sont aujourd'hui des techniques obsolètes et qu'elles ne sont plus réalisées pour la confirmation du diagnostic de la toxocarose ?

**C9**

*Ces techniques nécessitent des efforts colossaux pour maintenir un niveau de qualité acceptable pour l'accréditation et ne peuvent quasiment plus être utilisées.*

**En ce qui concerne l'examen de suivi :**

La littérature analysée ne mentionne pas le recours à la recherche d'Ac sériques anti-Toxocara dans le suivi des syndromes de Larva migrans viscérale. Les données de pratique montrent par ailleurs que le volume d'actes enregistré pour le suivi est très peu significatif (157 actes pour 2015, cf. tableau 1 p. 14 de l'argumentaire joint).

**C10**

**Votre organisme considère-t-il pertinent de suivre les syndromes de Larva migrans viscérale par recherche des Ac sériques anti-Toxocara ?**

*Le suivi sérologique est effectivement peu utilisé dans la toxocarose car les anticorps peuvent persister longtemps. Le dosage d'IgE spécifiques pourrait être utile au suivi,*



*mais n'est pas compris dans cet acte NABM.*

*Dans la mesure où le diagnostic suppose la mise en place d'un traitement, il est logique de vérifier l'efficacité de ce traitement notamment par le suivi sérologique. Ce suivi doit donc rester possible mais limité aux patients recevant un traitement antiparasitaire (et non ceux bénéficiant d'une corticothérapie). Par ailleurs de par le caractère humorale de la réponse, ces contrôles sérologiques n'ont pas d'intérêt à être réalisés trop tôt ni trop fréquemment. Un dosage sérologique à distance (> 6-12 mois) du traitement est utile et doit rester possible, sous conditions de reprendre le sérum antérieur en parallèle.*

**En ce qui concerne d'autres examens :**

**C11** **Au regard de la littérature analysée, la biologie moléculaire ne semble pas avoir de place actuellement dans le diagnostic de la toxocarose.**

**Quelle est la position de votre organisme sur ce constat ?**

*Effectivement, il n'y a pas actuellement de preuve scientifique sur l'intérêt des techniques moléculaires en routine diagnostique.*

**C12** **D'après la littérature analysée, la recherche directe des larves dans les biopsies des tissus infectés est très peu contributive. Elle ne semble pas avoir de place actuellement dans le diagnostic de la toxocarose.**

**Quelle est la position de votre organisme sur ce constat ?**

*La recherche directe de larves dans les tissus est difficile à réaliser et n'a pas un rendement diagnostique satisfaisant. De plus, du fait des nombreuses méthodes « maison » utilisées, elle est difficilement comparable entre laboratoires. Son utilisation dans des cas particuliers (en particulier recherche oculaire) doit être possible et acceptée, mais non systématiquement recommandée.*

**En ce qui concerne les autres formes de toxocarose :**

**C13** **Selon la littérature analysée, les titres spécifiques d'anticorps sériques anti-*T. canis* peuvent être faibles ou absents dans le cas de la toxocarose oculaire et de la toxocarose neurologique, ce qui n'exclut cependant pas le diagnostic. La détection d'anticorps spécifiques dans l'humeur vitreuse et/ou aqueuse et dans le liquide cérébro-spinal contribue à confirmer le diagnostic.**

**Votre organisme considère-t-il que les Ac anti-*Toxocara* doivent être recherchés pour le dépistage et la confirmation du diagnostic dans l'humeur vitreuse et/ou aqueuse et dans le liquide cérébro-spinal ? Si oui avec quelles techniques ?**

*Oui, du fait des spécificités anatomiques de ces 2 formes cliniques, la recherche d'Ac sériques peut s'avérer infructueuse. Dans ces cas, la mise en évidence d'une réponse locale, au niveau de l'humeur aqueuse ou du LCR, est un élément contributif important pour le diagnostic de formes localisées. Cette recherche doit être maintenue.*

## Autres questions

**A1** Auriez-vous connaissance de publications pertinentes non prises en compte ?

*Veillez référencer le cas échéant les publications concernées.*

*Réponse : Non*

**A2** Même si le volume de l'examen de dépistage reste dans la base de l'Assurance maladie (cf. figure 4 p. 22 de l'argumentaire) relativement peu élevé, une progression significative (45 %) a néanmoins été observée entre 2012 et 2015. Pouvez-vous apporter des éléments (épidémiologiques) de réponse à cette augmentation ?

*Réponse argumentée : Recherche prescrite à titre systématique dans le cadre d'un bilan d'hyper éosinophilie mais taux stable de confirmation en IE (cf. fig. 4-5 page 22)*

**A3** En matière de lisibilité et de forme du rapport provisoire, avez-vous des remarques ou propositions à faire ?

*Veillez préciser dans le cas contraire les éléments à clarifier.*

*Réponse : Rapport clair et exhaustif*

**A4** Souhaitez-vous émettre un commentaire complémentaire ?

*Réponse : Aucun*



Réponses de l'Institut fédératif de biologie (IFB) au questionnaire relatif à la consultation à distance

## RELECTURE DU DOCUMENT PROVISOIRE ET CONFIDENTIEL INTITULÉ

**« Modification de la Nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de diagnostic sérologique des infections à *Larva migrans viscérale* (Toxocarose) »**

Décembre 2016

L'objectif de ce questionnaire est de recueillir la position de votre organisme professionnel ou de votre laboratoire quant à l'utilité, les indications des actes de biologie médicale permettant le dépistage et la confirmation de la toxocarose, en vue de modifier la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM).

Ce questionnaire vous est envoyé dans le cadre d'une évaluation de la HAS demandée par l'Assurance maladie, dans le but d'actualiser la NABM. Cette évaluation n'a pas pour objectif de définir des recommandations relatives à la stratégie diagnostique, ni à la prise en charge globale de la toxocarose (prophylaxie, traitement...).

Nous nous permettons d'attirer votre attention sur la nécessité d'argumenter vos réponses et de citer chaque fois que possible les documents sources qui répondent aux critères de sélection énoncés dans l'argumentaire (partie 2.2) et de les joindre aux réponses du questionnaire.

Veuillez noter que l'ensemble des parties prenantes interrogées a reçu ce même questionnaire, votre organisme peut donc ne pas être concerné par certaines questions et ne pas y répondre. La liste des organismes consultés se trouve page 17 du rapport.

Vos réponses seront intégralement reproduites dans le rapport définitif d'évaluation que la HAS rendra public à l'issue de son processus d'évaluation. Jusqu'à cette échéance, l'argumentaire qui vous a été transmis demeure par conséquent strictement confidentiel.

Nos contraintes calendaires d'évaluation nécessitent que vous nous retourniez votre réponse par voie électronique avant le **16/01/2017** ([has.seap.secretariat@has-sante.fr](mailto:has.seap.secretariat@has-sante.fr)). Au-delà de cette échéance, nous estimerons que vous n'avez pas d'observations et considérerons votre absence de réponse comme une validation tacite de notre argumentaire provisoire.

Dans l'attente d'enrichir ce travail par votre relecture, nous demeurons à votre entière disposition pour toute précision qui vous serait utile.

## CONTENU D'ÉVALUATION

**En ce qui concerne le premier examen de recherche des anticorps sériques anti-Toxocara :**

- C1** **Votre organisme considère-t-il que la recherche des anticorps (Ac) sériques anti-Toxocara est actuellement l'examen de biologie médicale majeur pour l'établissement du diagnostic de Larva migrans viscérale ?**  
*Réponse argumentée : Oui car comme décrit dans le rapport, la mise en évidence du parasite dans un tissu par biopsie est très peu sensible. Cette recherche est donc très rarement réalisée à l'exception des prélèvements d'humeur aqueuse ou de liquide cérébro-spinal*
- C2** **L'utilisation de deux techniques différentes de recherche des Ac sériques anti-Toxocara pour le dépistage initial n'est pas retrouvée dans la littérature récente analysée. Pour rappel, la NABM actuelle prévoit le recours à deux techniques et il est proposé de supprimer ce recours. Quelle est la position de votre organisme sur la nécessité ou pas d'utiliser deux techniques ?**  
*Réponse argumentée : L'utilisation de 2 techniques n'a pas fait la preuve d'une plus grande sensibilité, à notre connaissance. L'adaptation de la zone grise de la technique de dépistage est plus rentable en termes de gain de sensibilité, en permettant la mise en œuvre de la technique de confirmation. Par ailleurs les techniques d'électrosynérèse et d'immunodiffusion double ne sont pas adaptées au dépistage.*
- C3** **La littérature récente analysée reconnaît l'ELISA comme technique de référence pour la recherche des Ac sériques anti-Toxocara lors du dépistage initial. Quelle est la position de votre organisme sur la technique à utiliser pour réaliser cet examen de recherche initial des Ac sériques anti-Toxocara ?**  
*Réponse argumentée : L'ELISA est de nos jours une technique commercialisée, reproductible et automatisable ce qui à performance égale avec l'immunofluorescence ou l'hémagglutination rend sa mise en œuvre plus aisée. Elle possède les qualités technique et analytique adaptées en situation de dépistage, tant en biologie de ville que de CHU.*
- C4** **Dans la littérature analysée, les techniques actuelles d'ELISA recherchent des IgG développées contre les antigènes excrétés-sécrétés (TES) de larves de troisième stade L3 de T. canis. Votre organisme considère-t-il que ces antigènes restent toujours pertinents pour l'ELISA ou existe-t-il à votre connaissance des Ag plus performants ?**  
*Réponse argumentée : En effet, comme plusieurs fois publiés par Magnaval, le renouvellement permanent de l'enveloppe de Toxocara rend l'utilisation d'antigène de surface inadaptée avec une sensibilité du test médiocre. Les antigènes TES permettent de s'affranchir du mécanisme d'échappement immunitaire développé par le parasite.*

- C5** Votre organisme peut-il confirmer que l'électrosynérèse (ELS), l'hémagglutination sensibilisée (HAGG), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'immunodiffusion double (IDD-*Ouchterlony*), sont aujourd'hui des techniques obsolètes et qu'elles ne sont plus réalisées pour le dépistage initial de la toxocarose, comme l'indique la littérature analysée ?

*Réponse argumentée : Accord, ces techniques sont maintenant obsolètes.*

**En ce qui concerne l'examen de confirmation d'un résultat positif de l'examen précédent :**

- C6** La littérature récente analysée met en évidence la nécessité de confirmer les ELISA positifs au dépistage. Quelle est la position de votre organisme par rapport à cette affirmation ?

*Réponse argumentée : En effet, la communauté antigénique existant entre les différents parasites responsables d'helminthiases rend indispensable la confirmation du dépistage par une technique très spécifique afin d'éliminer les réactions croisées.*

- C7** La littérature analysée reconnaît l'immuno-empreinte (IE) (*Western blot*) comme technique de référence pour l'examen de confirmation. Quelle est la position de votre organisme sur la technique à utiliser pour réaliser cet examen de confirmation ?

*Réponse argumentée : Accord, seul le WB doit être retenu.*

- C8** Selon votre organisme, quels sont les Ag que vous considérez aujourd'hui comme les plus performants pour le diagnostic de la toxocarose par IE ?

*Réponse argumentée : Les antigènes TES pour les mêmes raisons que celles décrites précédemment.*

- C9** Votre organisme peut-il confirmer que l'immunoélectrophorèse (IELP) et la coélectrosynérèse avec sérum de référence positif (COES) sont aujourd'hui des techniques obsolètes et qu'elles ne sont plus réalisées pour la confirmation du diagnostic de la toxocarose ?

*Réponse argumentée : Accord, ces techniques sont obsolètes en revanche, elles sont possiblement encore réalisées dans quelques laboratoires spécialisés de CHU.*

**En ce qui concerne l'examen de suivi :**

- C10** La littérature analysée ne mentionne pas le recours à la recherche d'Ac sériques anti-*Toxocara* dans le suivi des syndromes de *Larva migrans* viscérale. Les données de pratique montrent par ailleurs que le volume d'actes enregistré pour le suivi est très peu significatif (157 actes pour 2015, cf. tableau 1 p. 14 de l'argumentaire joint).

Votre organisme considère-t-il pertinent de suivre les syndromes de *Larva migrans* viscérale par recherche des Ac sériques anti-*Toxocara* ?

*Réponse argumentée : Accord, pas de place pour le suivi sérologique quelle que soit la technique employée.*

**En ce qui concerne d'autres examens :**

- C11** **Au regard de la littérature analysée, la biologie moléculaire ne semble pas avoir de place actuellement dans le diagnostic de la toxocarose.  
Quelle est la position de votre organisme sur ce constat ?**

*Réponse argumentée : A notre connaissance, il n'y a pas de diagnostic moléculaire de toxocarose pratiqué en laboratoire de CHU en France. Cependant il a déjà été mis en évidence de l'ADN de Toxocara dans le LCR d'un patient atteint d'une toxocarose neurologique (Caldera F, Burlone ME, Genchi C, Pirisi M, Bartoli E. Toxocara encephalitis presenting with autonomous nervous system involvement. Infection. 2013;41(3):691-4.). Le diagnostic de toxocarose compartimentée restant difficile, il ne faut pas exclure qu'à l'heure du développement de la biologie moléculaire en parasitologie, cette dernière ne soit pas intéressante à mettre en oeuvre dans un contexte de suspicion de toxocarose oculaire ou neurologique. En effet, en cas de présence d'anticorps sérique et dans le compartiment, il n'y a, à ce jour, pas de moyen d'affirmer l'atteinte oculaire ou cérébrale. La certitude n'existe que si les anticorps sont présents dans le compartiment et absent du sang. Compte-tenu de la gravité potentielle de ces formes cliniques compartimentées, la possibilité d'avoir un diagnostic de certitude via la biologie moléculaire est une bonne perspective d'avenir.*

- C12** **D'après la littérature analysée, la recherche directe des larves dans les biopsies des tissus infectés est très peu contributive. Elle ne semble pas avoir de place actuellement dans le diagnostic de la toxocarose.  
Quelle est la position de votre organisme sur ce constat ?**

*Réponse argumentée : En effet, cette méthode diagnostique est d'une sensibilité proche du zéro.*

**En ce qui concerne les autres formes de toxocarose :**

- C13** **Selon la littérature analysée, les titres spécifiques d'anticorps sériques anti-*T. canis* peuvent être faibles ou absents dans le cas de la toxocarose oculaire et de la toxocarose neurologique, ce qui n'exclut cependant pas le diagnostic. La détection d'anticorps spécifiques dans l'humeur vitreuse et/ou aqueuse et dans le liquide cérébro-spinal contribue à confirmer le diagnostic.  
Votre organisme considère-t-il que les Ac anti-*Toxocara* doivent être recherchés pour le dépistage et la confirmation du diagnostic dans l'humeur vitreuse et/ou aqueuse et dans le liquide cérébro-spinal ? Si oui avec quelles techniques ?**

*Réponse argumentée : Oui, les anticorps doivent être recherchés en parallèle dans le sérum et dans le compartiment concerné (humeur aqueuse ou liquide cérébro-spinal) par IE.*

## Autres questions

**A1** Auriez-vous connaissance de publications pertinentes non prises en compte ?

*Veillez référencer le cas échéant les publications concernées.*

*Réponse : Non*

**A2** Même si le volume de l'examen de dépistage reste dans la base de l'Assurance maladie (cf. figure 4 p. 22 de l'argumentaire) relativement peu élevé, une progression significative (45 %) a néanmoins été observée entre 2012 et 2015. Pouvez-vous apporter des éléments (épidémiologiques) de réponse à cette augmentation ?

*Réponse argumentée : Je n'ai pas d'explication épidémiologique.*

**A3** En matière de lisibilité et de forme du rapport provisoire, avez-vous des remarques ou propositions à faire ?

*Veillez préciser dans le cas contraire les éléments à clarifier.*

*Réponse : Non, c'est très clair.*

**A4** Souhaitez-vous émettre un commentaire complémentaire ?

*Réponse : Non*

## Annexe 4. Listes des tableaux et figures

Tableau 1. Codes NABM et cotations relatifs à la sérologie de <i>Larva migrans</i> viscérale (toxocarose).....	13
Tableau 2. Organismes consultés. ....	17
Tableau 3. Stratégie de recherche dans la base de données <i>Medline</i> . ....	26
Tableau 4. Principales conclusions et préconisations portant sur les tests diagnostiques de <i>Larva migrans</i> émises par les auteurs.....	29
Figure 1. Cycle évolutif de <i>Toxocara canis</i> d'après les <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> , 2013 (5). ....	8
Figure 2. <i>Western blot</i> caractéristique de toxocarose d'après l'Association française des enseignants de parasitologie et mycologie, 2014 (11).....	12
Figure 3. Diagramme de sélection des références bibliographiques identifiées. ....	16
Figure 4. Évolution du volume des tests de recherche initiale (dépistage) réalisés entre 2012 et 2015. ....	20
Figure 5. Nombre de tests de confirmation réalisés entre 2012 et 2015 par année et par type de technique. ....	20

## Références

1. Haute Autorité de Santé. Modification de la Nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de diagnostic biologique des infections à *Larva migrans* viscérale (Toxocarose). Feuille de route. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2016.  
[http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2016-10/feuille\\_de\\_route\\_toxocarose.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2016-10/feuille_de_route_toxocarose.pdf)
2. Fillaux J, Magnaval JF. Laboratory diagnosis of human toxocarosis. *Vet Parasitol* 2013;193(4):327-36.
3. Biomnis. Toxocarose. Précis de biopathologie. Analyses médicales spécialisées. Ivry sur Seine: Biomnis; 2013.  
<http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/TOXOCAROSE.pdf>
4. Agence de la santé publique du Canada. *Toxocara canis*, *Toxocara cati*. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. Ottawa: ASPC; 2010.  
<http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/toxocara-fra.php>
5. Centers for Disease Control and Prevention. Parasites - Toxocariasis (also known as Roundworm Infection). Biology [En ligne] 2013.  
<https://www.cdc.gov/parasites/toxocariasis/biology.html>
6. Smith H, Holland C, Taylor M, Magnaval JF, Schantz P, Maizels R. How common is human toxocarosis? Towards standardizing our knowledge. *Trends Parasitol* 2009;25(4):182-8.
7. Alderete JMS, Jacob CMA, Pastorino AC, Elefant GR, Castro APM, Fomin ABF, *et al.* Prevalence of *Toxocara* infection in schoolchildren from the Butantã region, São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98(5):593-7.
8. Fan CK, Holland CV, Loxton K, Barghouth U. Cerebral toxocarosis: silent progression to neurodegenerative disorders? *Clin Microbiol Rev* 2015;28(3):663-86.
9. Wilkins PP. Immunodiagnosis of human toxocarosis and prospects for improved diagnostics. *Curr Trop Med Rep* 2014;1(1):44-51.
10. Kuenzli E, Neumayr A, Chaney M, Blum J. Toxocarosis-associated cardiac diseases. A systematic review of the literature. *Acta Trop* 2016;154:107-20.
11. Association française des enseignants de parasitologie et mycologie. Syndrome de Larva migrans. Lille: Université médicale virtuelle francophone; 2014.  
<http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/toxocarose/site/html/cours.pdf>
12. Marçal Schmidt Garcia Moreira G, de Lima Telmo P, Mendonça M, Nunes Moreira A, McBride AJA, Scaini CJ, *et al.* Human toxocarosis: current advances in diagnostics, treatment, and interventions. *Trends Parasitol* 2014;30(9):456-64.
13. Toxocarose. La maladie des bacs à sable [En ligne] 2005.  
<http://www.esculape.com/infectio/toxocarose.html>
14. Centers for Disease Control and Prevention. Toxocariasis. Laboratory diagnosis [En ligne] 2013.  
<https://www.cdc.gov/dpdx/toxocariasis/dx.html>
15. Magnaval JF, Fillaux J, Fabre R. Diagnostic biologique de la toxocarose humaine. *Rev Fr Lab* 2014;(464):61-9.
16. Aubry P. Toxocarose ou larva migrans viscérale chez un métropolitain : cas clinique. *Médecine tropicale* [En ligne] 2013.  
<http://medecinetroppicale.free.fr/castoxocarose.pdf>
17. Carvalho EAA, Rocha RL. Toxocarosis: visceral *larva migrans* in children. *J Pediatr* 2011;87(2):100-10.
18. Ahn SJ, Ryoo NK, Woo SJ. Ocular toxocarosis: clinical features, diagnosis, treatment, and prevention. *Asia Pac Allergy* 2014;4(3):134-41.
19. De Savigny DH. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *J Parasitol* 1975;61(4):781-2.
20. De Savigny DH, Voller A, Woodruff AW. Toxocarosis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. *J Clin Pathol* 1979;32(3):284-8.
21. Rubinsky-Elefant G, Hirata CE, Yamamoto JH, Ferreira MU. Human toxocarosis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. *Ann Trop Med Parasitol* 2010;104(1):3-23.
22. Watthanakulpanich D. Diagnostic trends of human toxocarosis. *J Trop Med Parasitol* 2010;33(1):44-52.
23. Arevalo JF, Espinoza JV, Arevalo FA. Ocular toxocarosis. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2013;50(2):76-86.
24. Martínez-Pulgarín DF, Muñoz-Urbano M, Gomez-Suta LD, Delgado OM, Rodríguez-Morales AJ. Ocular toxocarosis: new diagnostic and therapeutic perspectives. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 2015;10(1):35-41.
25. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Annales du Contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale. Frottis sanguin. Coprologie parasitaire ou arthropode. Mycologie. Sérologie de la toxoplasmose. Sérologie Larva migrans (toxocarose). Saint-Denis: AFSSAPS; 2004.  
[http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/d388d044afb4c997422e9f662228cfe4.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/d388d044afb4c997422e9f662228cfe4.pdf)



## Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Évaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Mars 2017
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur <a href="http://www.has-sante.fr">www.has-sante.fr</a>
Objectif(s)	Définir les techniques de recherche d'anticorps anti- <i>Toxocara</i> considérées aujourd'hui comme les plus appropriées au regard des dernières données de la littérature et de la pratique
Demandeur	Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS)
Promoteur	Haute Autorité de santé (HAS), Service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Nadia ZEGHARI-SQUALLI, chef de projet, SEAP (chef de service : Michèle MORIN-SURROCA, adjoint au chef de service : Denis-Jean DAVID) Secrétariat : Suzie DALOUR, assistante, SEAP
Participants	Expertise externe à la HAS : Conseil national professionnel d'infectiologie (CNP-FFI) ; Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière ; Service de parasitologie et mycologie, Pôle biologie, Institut fédératif de biologie (IFB), CHU de Toulouse - Hôpital Purpan Cf. Chapitre 2.3.1
Recherche documentaire	De janvier 2010 à février 2017 (stratégie de recherche documentaire décrite en Annexe 1) Réalisée par Virginie HENRY, documentaliste, avec l'aide de Sylvie LASCOLS, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGES, chef du service documentation - veille, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Nadia ZEGHARI-SQUALLI, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Examen par le Collège de la HAS : mars 2017
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur <a href="http://www.has-sante.fr">www.has-sante.fr</a>
Documents d'accompagnement	Avis HAS (mars 2017) disponible sur <a href="http://www.has-sante.fr">www.has-sante.fr</a>

HAS

Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur  
[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)