



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

# **DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA LEPTOSPIROSE**

**CADRAGE**

**Novembre 2010**

**Service Évaluation des actes professionnels**

Ce document est téléchargeable sur  
[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)

**Haute Autorité de Santé**

Service communication

2 avenue du Stade de France – 93218 Saint-Denis La Plaine CEDEX

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

Ce document a été validé par le Collège de la Haute Autorité de Santé en **novembre 2010**.

© Haute Autorité de Santé – **2010**

## L'EQUIPE

---

Ce document a été réalisé par Mme le Dr Tatiana LEGKOBYT, chef de projet au Service évaluation des actes professionnels, avec l'orientation de M. le Dr Denis Jean DAVID, docteur ès sciences, adjoint au chef de service, et de Mme le Dr Sun Hae LEE-ROBIN, chef de service.

Mme le Pr Marie-Christine BENE, membre de la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé, a été le membre référent de cette évaluation.

La recherche documentaire a été effectuée par Mme Virginie HENRY, documentaliste, avec l'aide de Mme Maud LEFEVRE, avec l'orientation de Mme Christine DEVAUD, adjoint au chef de service, et de Mme le Dr Frédérique PAGES, docteur ès sciences, chef de service.

L'organisation logistique et le travail de secrétariat ont été réalisés par Mme Stéphanie BANKOUSSOU.

---

Pour tout contact au sujet de ce document :

Tél. : 01 55 93 71 12

Fax : 01 55 93 74 35

Courriel : [contact.seap@has-sante.fr](mailto:contact.seap@has-sante.fr)

---

## TABLE DES MATIERES

---

<b>L'EQUIPE</b> .....	<b>3</b>
<b>LA DEMANDE</b> .....	<b>6</b>
<b>I. N° DE LA DEMANDE</b> .....	<b>6</b>
<b>II. TITRE INITIAL DE LA DEMANDE</b> .....	<b>6</b>
<b>III. LE DEMANDEUR</b> .....	<b>6</b>
<b>IV. DATE DE LA DEMANDE</b> .....	<b>6</b>
<b>V. PRINCIPALES ATTENTES DU DEMANDEUR</b> .....	<b>6</b>
<b>VI. PRINCIPAUX ARGUMENTS DU DEMANDEUR</b> .....	<b>6</b>
<b>VII. PROCEDURE DEROGATOIRE PROVISOIRE MISE EN PLACE PAR L'ASSURANCE MALADIE</b> ...	<b>7</b>
<b>ANALYSE DE LA DEMANDE</b> .....	<b>8</b>
<b>I. LA PATHOLOGIE</b> .....	<b>8</b>
<b>I.1 Description de la bactérie</b> .....	<b>8</b>
<i>I.1.1 Caractéristiques morphologiques et physiologiques</i> .....	8
<i>I.1.2 Structure antigénique</i> .....	8
<i>I.1.3 Classification des leptospires</i> .....	8
<i>I.1.4 Distribution géographique et saisonnière</i> .....	9
<i>I.1.5 Le réservoir des leptospires</i> .....	9
<b>I.2 Clinique</b> .....	<b>10</b>
<i>I.2.1 Phases de la maladie</i> .....	10
<i>I.2.2 Formes cliniques</i> .....	10
<i>I.2.3 La présence des leptospires dans différents liquides biologiques</i> .....	11
<b>I.3 Diagnostic</b> .....	<b>11</b>
<b>I.4 Traitement</b> .....	<b>12</b>
<b>I.5 Pronostic</b> .....	<b>12</b>
<b>I.6 Prophylaxie</b> .....	<b>12</b>
<b>II. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE SPECIFIQUE DE LA LEPTOSPIROSE</b> .....	<b>12</b>
<b>II.1 Techniques sérologiques</b> .....	<b>12</b>
<i>II.1.1 La technique de référence : le test MAT (microscopic agglutination test)</i> ....	13
<i>II.1.2 Sérologie par ELISA</i> .....	13
<i>II.1.3 Test TR de macro-agglutination sur lame</i> .....	13
<i>II.1.4 Tests unitaires sur bandelette (dipstick-assay)</i> .....	14
<b>II.2 Méthodes de détection directe</b> .....	<b>14</b>
<i>II.2.1 Examen direct</i> .....	14
<i>II.2.2 Culture bactérienne</i> .....	14
<i>II.2.3 Détection du génome bactérien</i> .....	14
<b>III. PRISE EN CHARGE PAR L'ASSURANCE MALADIE</b> .....	<b>15</b>
<i>III.1.1 Dénombrement et montant remboursé des actes de biologie en 2006, 2007 et 2008, selon BIOLAM</i> .....	15
<b>IV. BASE DOCUMENTAIRE DISPONIBLE</b> .....	<b>15</b>
<b>V. SYNTHÈSE DES CONSULTATIONS AUPRES DES PARTIES PRENANTES</b> .....	<b>16</b>
<b>VI. CHANGEMENT ATTENDU SUITE A L'EVALUATION</b> .....	<b>16</b>
<b>VII. PROBLEMATIQUE – ENJEU – DIFFICULTE</b> .....	<b>16</b>
<b>REALISATION PROPOSEE</b> .....	<b>17</b>
<b>I. TITRE RETENU POUR L'EVALUATION</b> .....	<b>17</b>
<b>II. OBJECTIFS</b> .....	<b>17</b>
<b>III. CHAMP DE L'EVALUATION</b> .....	<b>17</b>
<b>IV. METHODE DE TRAVAIL</b> .....	<b>17</b>
<b>V. PLAN DU RAPPORT D'EVALUATION</b> .....	<b>18</b>

<b>VI. PROFESSIONNELS CONCERNES .....</b>	<b>18</b>
<b>VII. POPULATION CIBLE EN FRANCE.....</b>	<b>19</b>
<b>VIII. DOCUMENTS A PRODUIRE.....</b>	<b>19</b>
<b>IX. CALENDRIER PREVISIONNEL .....</b>	<b>19</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>20</b>
<b>I. PHASE DE CADRAGE ET DOCUMENT DE CADRAGE .....</b>	<b>20</b>
<b>II. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>20</b>
<b>III. COMPTE RENDU DE RÉUNION SUR PROBLÈMES D'APROVISIONNEMENT .....</b>	<b>23</b>
<b>IV. LETTRE RESEAU .....</b>	<b>26</b>
<b>V. REFERENCES AYANT SERVI DE BASE A L'ELABORATION DE CE DOCUMENT .....</b>	<b>27</b>

## LA DEMANDE

---

### I. N° DE LA DEMANDE

08\_D\_056

### II. TITRE INITIAL DE LA DEMANDE

Sérologie des leptospiroses – Dépistage par AGG (agglutination)

### III. LE DEMANDEUR

Centre national de référence (CNR) des leptospires : M. Mathieu PICARDEAU, Directeur, Unité de Biologie des Spirochètes, Institut Pasteur.

### IV. DATE DE LA DEMANDE

26 mai 2008

### V. PRINCIPALES ATTENTES DU DEMANDEUR

Le demandeur préconise :

- le retrait de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) du test sérologique par macro-agglutination avec antigène thermo résistant (TR), qui est à réaliser, selon la NABM en première intention (code 1245) ;
- le rétablissement du test sérologique MAT (*Microscopic Agglutination Test*) comme seul et unique test pour le diagnostic biologique de la leptospirose, alors que la NABM précise que le test MAT (code 1312) doit uniquement être réalisé en deuxième intention, après le test TR.

### VI. PRINCIPAUX ARGUMENTS DU DEMANDEUR

Avant 2005, le test MAT était le seul test de diagnostic de la leptospirose inscrit à la NABM.

Depuis 2005 une modification de la nomenclature NABM (JO. du 11 octobre 2005) prévoit un diagnostic sérologique de la leptospirose en 2 étapes :

1<sup>ère</sup> étape : test de dépistage par macro-agglutination avec antigène thermo résistant (TR) réalisé par les laboratoires de biologie médicale ;

2<sup>ème</sup> étape : en cas de test TR positif confirmation par la technique de référence MAT (*Microscopique Agglutination Test*) qui permet le sérotypage de la souche, réalisée au CNR et quelques autres laboratoires.

La version actuelle de la NABM ne permet pas le remboursement du test MAT s'il est utilisé en 1<sup>ère</sup> intention.

Selon le demandeur :

- les performances diagnostiques du test TR sont moindres par rapport au test de référence MAT ;
- le test TR ne permet pas d'identifier le séro groupe, contrairement au test MAT (l'identification du séro groupe permettant une enquête épidémiologique) ;
- de plus, il existe un problème de stabilité du réactif TR qui a conduit au retrait de deux lots en 2008 par la société Biorad (origine de l'instabilité non identifiée).

Le but initial et prioritaire de l'évaluation selon le demandeur est donc de revenir à l'ancienne situation de la NABM par la désinscription du test TR et la réinscription du test MAT en première intention.

## **VII. PROCEDURE DEROGATOIRE PROVISOIRE MISE EN PLACE PAR L'ASSURANCE MALADIE**

En 2008 deux problèmes concomitants sont survenus :

1. la rupture de stock du réactif TR du fait de retraits de lots en lien avec des problèmes de stabilité du réactif (ce qui a donc posé problème car la NABM prévoit le TR en première intention) ;
2. le test ELISA utilisé par certaines équipes était aussi en rupture de stock (test non inscrit à la NABM).

Face à cette situation, des contacts ont eu lieu entre des représentants du CNR, de la DGS, de l'InVS, de l'Afssaps et de la HAS. Une réunion téléphonique a notamment eu lieu le 8 juillet 2008 (voir compte rendu en annexe III).

Ces contacts ont abouti à :

- la mise en place d'une procédure dérogatoire de remboursement du test MAT en première intention grâce à une lettre-réseau de l'Assurance maladie (émise le 09/10/2008, voir annexe IV) ; cette procédure dérogatoire est toujours valable aujourd'hui ;
- l'élargissement de la demande initiale d'évaluation aux autres tests de diagnostic biologique de la leptospirose, notamment le test ELISA et la détection par la biologie moléculaire avec amplification.

## ANALYSE DE LA DEMANDE

---

### I. LA PATHOLOGIE

La leptospirose est une zoonose causée par une bactérie du genre *Leptospira* de l'ordre *Spirochaetales*. C'est une infection de répartition mondiale (1). Les leptospires sont les bactéries susceptibles de contaminer un grand nombre d'animaux sauvages (les rongeurs) et domestiques (les bovins, les porcs, les chiens) qui les excrètent dans les urines (2). Tous les sérovars pathogènes pour les animaux peuvent être également pathogènes pour l'homme.

#### I.1 Description de la bactérie

##### I.1.1 Caractéristiques morphologiques et physiologiques

Les leptospires sont les bactéries hélicoïdales, mobiles, leur corps est de petit diamètre nécessitant l'emploi du microscope à fond noir ou à contraste de phase pour leur observation. Ces bactéries sont aérobies, ne résistent ni à la sécheresse, ni à l'hypertonie, en revanche, elles supportent une alcalinisation jusqu'à pH 7,8 (3).

##### I.1.2 Structure antigénique

L'antigène immunodominant est le lipopolysaccharide (LPS), porteur d'épitopes conformationnels, spécifiques de sérovar. Il suscite la production d'anticorps par la personne infectée, révélés en particulier par le test de micro agglutination MAT (3).

Un autre antigène important pour le diagnostic est l'antigène dit « de groupe » (non spécifique du sérovar) parfois appelé antigène thermorésistant. Il est trouvé également dans la souche saprophyte *patoc* et plusieurs autres sérotypes de leptospires. Cet antigène entre dans la composition de plusieurs tests à visée diagnostique (test unitaire sur bandelette de nitrocellulose, ELISA) car il réagit avec les différents immunosérums quelle que soit la souche d'origine (4).

La réponse immunitaire humorale est détectable selon les techniques utilisées à partir des 6-8<sup>ème</sup> jours suivant le début de la fièvre et peut diminuer suite à la mise en place de l'antibiothérapie.

##### I.1.3 Classification des leptospires

Il existe deux classifications du genre *Leptospira*, ayant chacune leur utilité (3) :

- La classification traditionnelle est fondée sur les critères sérologiques déterminés par le test MAT. Elle reconnaît deux espèces : *Leptospira biflexa*, saprophyte, et *Leptospira interrogans*, pathogène. Les 225 sérovars de *Leptospira interrogans* sont regroupés en 23 sérogroupes, en fonction de leur proximité antigénique.

Cette taxonomie présenterait de nombreux inconvénients : l'identification serait coûteuse, lourde, lente (parfois plusieurs mois pour déterminer le sérovar) et complexe, ce qui la réserverait aux seuls laboratoires de référence. Son interprétation est lecteur-dépendante et nécessite de disposer d'une collection complète des sérovars d'immunosérums de lapin correspondants. Elle reste cependant très utilisée car elle est étroitement liée à la méthode de référence pour le diagnostic de leptospirose – le test MAT. Par ailleurs, il existe une certaine correspondance entre sérovars et formes cliniques (par exemple le sérovar *grippotyphosa* est souvent associé à un syndrome grippal) ou entre sérovars et caractéristiques épidémiologiques (par exemple un hôte électif).



- Une autre classification, établie par l'analyse phylogénétique des séquences d'ADN ribosomal, distingue trois groupes de leptospires : les saprophytes (3 espèces), les pathogènes (7 espèces) et le groupe intermédiaire (2 espèces). Elle a permis de donner un support moléculaire au concept de sérovar (3).

Cette taxonomie moléculaire s'impose difficilement auprès des cliniciens et des spécialistes de la leptospirose malgré plusieurs avantages : reproductible, rapide, faible coût, possibilité d'identifier les sérovars. Enfin, les méthodes génomiques sont accessibles à plus grand nombre de laboratoires car des réactifs sont commercialisés et la nécessité de posséder une collection complète de sérovars est remplacée par la comparaison à des bases de données. Mais la proximité révélée par le test MAT qui permet de définir des sérogroupe ne se retrouve pas avec la biologie moléculaire: des sérovars appartenant au même sérogroupe sont dispersés au sein de plusieurs espèces, et une même espèce peut comporter de nombreux sérogroupe.

#### *1.1.4 Distribution géographique et saisonnière*

L'épidémiologie de la leptospirose est étroitement liée aux conditions hygrométriques. Les leptospires peuvent survivre très longtemps dans les eaux douces, pour peu que le pH soit neutre ou légèrement alcalin et la température élevée. La leptospirose est une maladie des zones chaudes et humides. Elle sévit sur tous les continents soit de façon endémique, soit sous forme de cas groupés (anadémies) (3).

En France, l'incidence varie selon les régions : inférieure à 0,1/ 100 000 habitants dans le Sud-est, les zones montagneuses, la Picardie, la Bretagne et la Haute-Normandie, elle peut dépasser 1/100 000 habitants en Franche-Comté, Ardennes, Aquitaine et Sud-ouest. La moyenne nationale (DOM-TOM exclus) est de 0,5/100 000. L'incidence est 20 fois plus élevée aux Antilles-Guyane qu'en métropole, 40 fois plus à la Réunion, 80 fois plus en Polynésie et 100 à 200 fois plus en Nouvelle-Calédonie, qui associe un climat tropical et la pratique de l'élevage (3).

Sur le plan saisonnier, en France, la majorité des cas survient entre juillet et novembre. D'une manière générale, les activités nautiques et agricoles estivales conduisent à une recrudescence. Sous les tropiques, la saison des pluies est marquée par une forte hyperendémie.

Le nombre de cas de leptospirose confirmés chaque année est de 300 à 400 en France métropolitaine, de même pour les DOM (5-7). Le nombre de sérologies réalisées chaque année est d'environ 4 000 au CNR et 2 500 en secteur libéral selon les données de la CNAMTS.

#### *1.1.5 Le réservoir des leptospires*

Le réservoir des leptospires est principalement animal, mais se prolonge dans l'environnement (3).

Le réservoir animal est très diversifié, il comprend les rongeurs et les insectivores, des animaux d'élevage (bovins, chevaux ou porcs) et des animaux de compagnie comme les chiens. Il peut s'agir d'animaux infectés, malades ou non (porteurs chroniques). Les animaux infectés excrètent par leurs urines de grandes quantités de leptospires pendant plusieurs années. La bactérie survit de façon prolongée dans l'eau douce à température ambiante.

Les sources d'infection sont donc les eaux et les sols souillés par les urines des animaux infectés.

Le mode de transmission peut être direct (au contact des animaux infectés), ou indirect (par les urines de animaux). Les leptospires pénètrent dans l'organisme

humain par les muqueuses conjonctivales, pharyngées, la peau (excoriations cutanées) ou, plus rarement, par inhalation ou aérosols.

La transmission interhumaine est exceptionnelle.

Les facteurs de risque sont :

- les professions exposées : agriculteurs, employés des abattoirs, égoutiers, jardiniers ;
- certains loisirs : baignades en eau douce (rivières, étangs), sports nautiques.

## **I.2 Clinique**

La présentation clinique de la leptospirose est extrêmement polymorphe, allant d'un syndrome pseudo grippal bénin à une atteinte hépatorénale potentiellement létale (3).

Il n'existe aucun symptôme spécifique du sérovar, même si, historiquement, plusieurs syndromes cliniques ont été décrits en les rattachant particulièrement à certains sérovares. Tout type de sérovar peut être responsable d'une forme bénigne, sévère ou mortelle (1).

La gravité de la leptospirose est très variable (3). Les formes bénignes (anictériques), représentent 85 à 90 % des cas.

### *I.2.1 Phases de la maladie*

#### I.2.1.1 Période d'incubation

Elle dure habituellement de 7 à 13 jours (les extrêmes étant de 2 à 21 jours) (2).

#### I.2.1.2 Première phase clinique - phase initiale

Elle débute souvent brutalement par une fièvre élevée (92%), des céphalées (75%), des myalgies (71%) portant préférentiellement sur les cuisses et les mollets, reproductibles à la pression des masses musculaires. Toux, hémoptysie, douleur thoracique peuvent compléter le tableau.

Parfois, seule la fièvre est présente (3). A l'examen sont révélés : hémorragie conjonctivale, ictère, herpès labial, signes stéthacoustiques de pneumonie, rash cutané, maculaire ou maculopapuleux siégeant sur le tronc. Splénomégalie, hépatomégalie et adénopathies peuvent venir compléter le tableau.

#### I.2.1.3 Deuxième phase clinique – phase d'état

À la première phase succède une rémission de 2 à 3 jours. Puis les signes de la première phase réapparaissent complétés parfois par des signes d'irritation méningée, voire d'encéphalite ou de syndrome méningé franc.

La durée de ces phases est variable, parfois une seule d'entre elles est présente. La réponse immunitaire est décelée, en fonction de la technique employée, à partir de 6-8<sup>ème</sup> jours à partir du début de la fièvre.

### *I.2.2 Formes cliniques*

#### I.2.2.1 Plusieurs formes cliniques sont décrites :

- Formes inapparentes, mises en évidence au cours des enquêtes épidémiologiques (3) ;
- Formes fébriles pures, réalisant des formes grippales ;
- Formes graves, (syndrome de Weil, syndrome de détresse respiratoire aigu de l'adulte : SDRAA) avec atteinte multiviscérale mettant en jeu le pronostic vital, avec :

- un ictère grave,
- une insuffisance rénale aggravée par une rhabdomyolyse,
- une atteinte cardiaque : myocardite, choc cardiogénique,
- un syndrome hémorragique diffus : purpura, hémorragies viscérales, en particulier digestives engageant le pronostic vital,
- une atteinte pulmonaire (SDRAA),
- des troubles de la conscience,
- une atteinte oculaire : uvéite (2 à 10% des cas), d'apparition retardée.

La fréquence des formes graves est d'autant plus élevée que le traitement antibiotique est retardé.

### 1.2.3 La présence des leptospires dans différents liquides biologiques

Les leptospires peuvent être isolés dans le sang pendant la première semaine à partir du début de la fièvre, puis à la fin de la première semaine dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et à partir de la deuxième semaine d'évolution dans les urines (2,3). La présence des leptospires dans différents liquides biologiques est illustrée dans la figure 1 :



Figure 1. D'après Perolat, 2003 (<http://www.microbes-edu.org/etudiant/Leptospira.html>)

La bactérie sera donc détectable avant la réponse immunitaire : dès l'apparition de la fièvre pour la bactérie, versus 6-8 jours après pour les anticorps.

## 1.3 Diagnostic

Compte tenu du polymorphisme sémiologique, l'établissement du diagnostic de leptospirose repose sur la conjonction d'arguments cliniques, biologiques et épidémiologiques.

Les signes biologiques non spécifiques sont : une hyperleucocytose à polynucléaires, une thrombopénie, une anémie hémolytique, un syndrome inflammatoire biologique, une cytolyse hépatique (3).

Les tests de diagnostic biologique spécifiques de la leptospirose seront traités dans le chapitre correspondant.

### 1.3.1.1 Diagnostic différentiel

En fonction de l'origine géographique du patient et de l'histoire clinique et épidémiologique, diverses étiologies infectieuses peuvent être considérées comme des diagnostics différentiels de la leptospirose. C'est le cas de la brucellose, de la tularémie, de la syphilis, de la fièvre Q, parmi les causes bactériennes, mais aussi de la primo-infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), de la grippe, des hépatites virales et, en milieu tropical, de la dengue et de la fièvre jaune (3).

Selon les experts (8), étant donné l'extrême polymorphisme des tableaux cliniques (manifestations encéphaliques, insuffisance rénale, purpura, SDRAA), proches de nombreuses affections (forme grave de paludisme à *P. falciparum*, dengue, infection

à Chikungunya ou autre arbovirose,...) en zone d'endémie c'est le retard au diagnostic plus que la coexistence de deux infections qui est préjudiciable.

#### **I.4 Traitement**

Le traitement étiologique de première intention est la pénicilline G par voie intraveineuse. La durée du traitement est de 7 à 8 jours. Les pénicillines A sont également efficaces (ampicilline, amoxicilline). En cas d'allergie à la pénicilline, le traitement de choix est la doxycycline, administrée par voie orale (3).

Le choix de l'antibiotique ne dépend pas du sérovar.

#### **I.5 Pronostic**

Le pronostic de la leptospirose dépend de l'état général du malade et de la virulence du micro-organisme en cause.

Les formes graves avec atteinte multiviscérale mettent en jeu le pronostic vital. Leur fréquence est d'autant plus élevée que le traitement antibiotique est retardé et/ou que le malade est porteur d'une tare viscérale. La mortalité est de 5 à 15 %.

#### **I.6 Prophylaxie**

Les mesures collectives comportent la vaccination du bétail et des animaux domestiques en vue de diminuer le réservoir de la leptospirose, l'aménagement des lieux de travail, le drainage et l'assèchement des eaux stagnantes.

Les mesures individuelles restent les plus efficaces. Ce sont la chimioprophylaxie par la doxycycline 200mg par semaine pour des expositions prévisibles de courte durée, la vaccination des travailleurs exposés et les protections individuelles (port des gants, lunettes, vêtements imperméables). (3)

## **II. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE SPECIFIQUE DE LA LEPTOSPIROSE**

### **II.1 Techniques sérologiques**

La sérologie est l'examen le plus utilisé pour poser le diagnostic de leptospirose. Les anticorps sont détectables après la première semaine de la maladie.

Dans les premiers jours de la maladie il existe peu d'examens biologiques utilisables pour le diagnostic spécifique de la leptospirose. C'est dans cette phase critique, caractérisée par une absence de symptômes spécifiques que le diagnostic différentiel avec d'autres pathologies infectieuses, particulièrement en zone tropicale, est essentiel pour l'instauration rapide d'une antibiothérapie.

L'interprétation de la sérologie est difficile, car le premier prélèvement est négatif une fois sur deux (1) et le test peut rester négatif en cas de traitement précoce par antibiotique. Une sérologie négative n'exclut donc pas le diagnostic et doit être impérativement répétée 15 jours à 3 semaines plus tard. En cas de sérologie positive, l'interprétation du test dépend également de l'épidémiologie de la leptospirose dans la zone où le test est réalisé : pour le test MAT un titre supérieur à 100 est significatif en zone géographique à faible incidence mais des titres supérieurs à 400 sont nécessaires pour être significatifs en zone de forte incidence. Plusieurs tests sérologiques pour le diagnostic de la leptospirose existent (9) :

- MAT (*microscopic agglutination test*),
- ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*),
- TR = test de macro-agglutination sur lame avec antigène thermorésistant (*macroscopic slide agglutination test*),
- test unitaire sur bandelette,
- test de fixation du complément (*CFT*),
- test d'hémagglutination indirecte (*IHA*),
- Patoc-slide agglutination test (PSAT)*,

- microcapsule agglutination test,
- test de lyse érythrocytaire sensibilisé (SEL),
- test d'agglutination sur latex (LA),
- test de fluorescence indirecte des anticorps (IFAT).

Seuls les tests de MAT, ELISA, TR, et le test unitaire rapide sur bandelette sont présentés, car ils semblent être les seuls utilisés actuellement en France.

#### II.1.1 La technique de référence : le test MAT (microscopic agglutination test)

Le test MAT est la technique sérologique de référence pour le diagnostic de la leptospirose. Le principe de cette technique consiste à incuber le sérum du patient avec différentes souches de leptospires. L'agglutination est visualisée au microscope à fond noir avec différentes dilutions (10). La lecture est faite en décomptant le nombre de leptospires libres non agglutinés (2).

Ce test est utilisable à partir du 8<sup>ème</sup> jour après le début de la fièvre et détecte des anticorps de classe IgM et IgG.

Les principaux avantages du test MAT sont :

- une spécificité diagnostique élevée,
- la capacité à mettre en évidence des anticorps et déterminer leur titre,
- la possibilité d'identifier et déterminer le sérovar de la souche isolée.

Les inconvénients de MAT :

- il requiert une expérience importante pour l'analyse des résultats et des variations des résultats entre les laboratoires sont fréquentes (1),
- il s'agit d'une technique lourde qui nécessite l'utilisation d'une vingtaine de souches de référence, maintenues à l'état vivant. Il n'est jamais possible de savoir si le panel est complet et si la maladie n'est pas causée par un leptospire non identifié,
- la présence d'anticorps pour plusieurs sérogroupes est fréquente (coagglutinines) en début de maladie, et seul un sérum tardif permet de préciser le séro groupe en cause.

#### II.1.2 Sérologie par ELISA

L'ELISA est une technique plus simple à utiliser que le MAT.

Cette technique utilise un antigène non purifié de *L. biflexa* souche *patoc* (saprophyte) car il réagit avec plusieurs leptospires responsables de pathologies humaines (2). La mise en évidence des anticorps se fait avec un anticorps anti-IgM humaines couplées à la peroxydase. Le titre-seuil est fixé à 400. La positivité de l'ELISA serait un peu plus précoce que celle du MAT (6-8<sup>ème</sup> jour).

Les avantages de l'ELISA sont :

- ce test est plus facile à utiliser et accessible à tout laboratoire ;
- il est standardisé et il existe des trousse commercialisées pour l'effectuer ;
- il peut différencier une leptospirose évolutive d'une infection guérie (car il détecte des IgM).

Les inconvénients de l'ELISA sont :

- ce serait un test à utiliser en première intention, suivi du test MAT comme test de confirmation, compte tenu des interrogations sur les performances diagnostiques de l'ELISA ;
- il y aurait beaucoup de faux-négatifs dans le cas de leptospirose à séro groupe *grippotyphosa* (le séro groupe représentant 19 % des cas en France métropolitaine en 1996) ou *australis* (10).

#### II.1.3 Test TR de macro-agglutination sur lame

Le test de macro-agglutination sur lame avec antigène thermorésistant (TR) est utilisé habituellement comme un test de dépistage, nécessitant une confirmation par MAT.

Ce test consiste dans la lecture sur une visionneuse à fond noir éclairée indirectement de l'agglutination éventuelle d'un mélange d'antigène et du sérum à tester sur une lame en verre (2). L'antigène TR est préparé à partir de la souche saprophyte *patoc* et réagit avec plusieurs germes responsables de leptospirose humaine (2). Le test TR n'est donc pas spécifique de sérovar.

#### II.1.4 Tests unitaires sur bandelette (dipstick-assay)

Ce test est un test rapide de diagnostic sur bandelette. La fixation sur la bandelette d'un antigène de *L. biflexa* permet de capter les IgM antileptospire présentes dans le sérum des patients, IgM mises ensuite en évidence par une réaction colorée. Lorsque l'antigène est présent à plusieurs concentrations sur la bandelette, une réponse semi-quantitative est possible. L'intérêt de ce test repose sur sa facilité de mise en œuvre et l'utilisation possible au coup par coup. Il resterait en revanche d'un coût élevé qui limite sa diffusion. En plus ses performances diagnostiques seraient moindres que celles de l'ELISA (10).

## II.2 Méthodes de détection directe

### II.2.1 Examen direct

La mise en évidence des leptospire à l'examen direct est possible au microscope à fond noir dans le plasma ou le liquide céphalo-rachidien (LCR) durant les 7-10 premiers jours de la maladie et dans les urines durant les deuxième et troisième semaines à partir du début de la fièvre (2).

La reconnaissance des leptospire est difficile, particulièrement quand elles sont présentes en petit nombre. Des artéfacts comme la présence d'amas de fibrine sont facilement pris pour les leptospire.

En pratique cette mise en évidence est exceptionnelle et le diagnostic ne repose pas sur l'identification des bactéries.

### II.2.2 Culture bactérienne

La culture est possible à partir des mêmes prélèvements que l'examen direct, mais reste difficile et longue. Elle ne doit être considérée comme négative qu'au bout de 6 à 8 semaines. Cela limite son intérêt pour le clinicien. Aucun milieu de culture sélectif ou électif n'ayant été développé, l'isolement des leptospire est réservé aux laboratoires spécialisés.

La culture est très peu utilisée en pratique.

### II.2.3 Détection du génome bactérien

Une séquence de 331 paires de bases du gène *rrs* (codant l'ARN ribosomal 16S) et spécifique du genre *Leptospira* a été choisi pour le diagnostic de la leptospirose par biologie moléculaire. Son amplification, couplée à l'hybridation par une sonde complémentaire, a permis la mise au point d'un test diagnostique. Le dosage peut être effectué sur un échantillon de sang dès le premier suivant le début de la fièvre, et ce jusqu'au dixième jour de la fièvre, puis dans le LCR ou dans les urines à partir de la deuxième semaine suivant le début de la fièvre (1).

La recherche de cette séquence d'ADN de leptospire par biologie moléculaire avec amplification génique serait la seule méthode permettant un diagnostic de la maladie en 48 heures et ce dès le premier jour d'apparition de la fièvre.

La biologie moléculaire avec amplification nécessite un équipement spécifique et un espace dédié dans le laboratoire, ainsi qu'un suivi rigoureux du protocole de réalisation pour diminuer le risque de faux-positifs par contamination des surfaces de travail et de faux-négatifs par la présence d'inhibiteurs de l'amplification. Sa validité dépend essentiellement des contrôles de qualité (9).

### III. PRISE EN CHARGE PAR L'ASSURANCE MALADIE

Deux techniques de diagnostic biologique spécifique de la leptospirose sont inscrites à la NABM :

1. test de dépistage par macro-agglutination avec antigène thermo résistant TR (code 1245) ;
2. en cas de test TR positif confirmation par la technique de référence la micro-agglutination MAT (code 1312).

#### III.1.1 Dénombrement et montant remboursé des actes de biologie en 2006, 2007 et 2008, selon BIOLAM

Sur les trois dernières années, le volume d'actes se situe autour de 2 000 par an pour le test TR et 400 pour le test MAT (tableau 1).

**Tableau 1.** Dénombrement et montant remboursé se rapportant aux actes de biologie remboursés en 2006, 2007 et 2008, selon BIOLAM\*

Code de l'acte	Libellé de l'acte	Nb <sup>†</sup> 2006	Nb 2007	Nb 2008	PCAP 2008/2007 (%)	Montant remboursé 2006 (€)	Montant remboursé 2007 (€)	Montant remboursé 2008 (€)	PCAP 2008/2007 (%)
1245	LEPTOSPIROSES : TEST DE DEPISTAGE PAR AGGLUTINATION	1 866	2 515	2 069	-17,7%	9 755	13 145	10 827	-17,6%
1312	LEPTOSPIROSES : TITRAGE PAR MICROAGGLUTINATION-LYSE AVEC AU MOINS NEUF ANTIGENES	437	438	417	-4,8%	9 195	8 853	8 420	-4,9%

\* Régime Général - Hors Sections Locales Mutualistes - Métropole - Risques maladie + maternité + accidents du travail-maladies professionnelles, Source Erasme V1 ; † Nombre

Depuis octobre 2008 une procédure dérogatoire mise en place par la CNAMTS suite à la rupture du stock des réactifs pour les tests de dépistage TR permet de prendre en charge le test MAT en première intention (en situation habituelle le test MAT n'est remboursé qu'après la réalisation du test de dépistage TR). Voir la lettre réseau dans l'annexe IV.

### IV. BASE DOCUMENTAIRE DISPONIBLE

Une revue préliminaire de la littérature sur le diagnostic biologique de la leptospirose, non systématique et non détaillée, a été effectuée dans le cadre de la rédaction de cette note. La recherche a porté sur la période 1975-2010.

La recherche documentaire a ainsi permis d'identifier (voir références en annexe II) :

- une recommandation publiée en Grande Bretagne en 2009 portant sur la gestion de la fièvre au retour de voyage ;
- pas de revue systématique, de méta-analyse ni d'étude contrôlée randomisée ;
- soixante-douze études comparatives non randomisées portant sur les performances diagnostiques des différents tests de diagnostic biologique de la leptospirose. Sur la base des résumés il est constaté que :

- dix d'entre elles traitent de la biologie moléculaire avec amplification ;
- quinze d'entre elles traitent du test TR ;
- trente-sept d'entre elles traitent de la technique ELISA ;
- dix d'entre elles traitent d'autres types de test (tests unitaires sur bandelette, hémagglutination indirecte).

## **V. SYNTHÈSE DES CONSULTATIONS AUPRES DES PARTIES PRENANTES**

Un membre du CNR des leptospires a été consulté afin d'obtenir un éclairage, avec des données de terrain, sur le contexte, la pratique réelle et les enjeux de l'évaluation. Selon lui, les tests sérologiques utilisés en France pour le diagnostic de la leptospirose sont le test MAT, l'ELISA, en moindre mesure le test unitaire sur bandelette de nitrocellulose et le test TR. La technique de biologie moléculaire avec amplification est en développement et a l'avantage de permettre la réalisation d'un diagnostic précoce, avant l'apparition d'anticorps circulants. Elle nécessite cependant le suivi strict des protocoles et des contrôles de qualité rigoureux.

La DGS - bureau des risques infectieux et de la politique vaccinale – a été consultée en juin 2010. Il ne lui a pas été signalé de problème particulier concernant les lots de réactifs ou d'autre problème concernant le diagnostic biologique de la leptospirose depuis l'été 2008. Pour rappel, lors des échanges de l'été 2008 entre la DGS, l'AFSSaPS, la CNAMTS et la HAS, il avait été envisagé que l'évaluation de la HAS porterait en plus du test MAT et du test TR, sur l'ELISA et la biologie moléculaire avec amplification.

## **VI. CHANGEMENT ATTENDU SUITE A L'EVALUATION**

En fonction des conclusions de cette évaluation, la NABM pourra être modifiée. Des techniques avec des meilleures performances diagnostiques et/ou permettant un diagnostic plus précoce pourront être intégrées. *A contrario*, les techniques moins intéressantes pourront être exclues.

## **VII. PROBLEMATIQUE – ENJEU – DIFFICULTE**

Le problème du diagnostic de la leptospirose se pose surtout en outre-mer où il y a autant de cas par an qu'en Métropole. La situation dans les zones tropicales est compliquée par la coexistence de nombreuses autres maladies présentant les symptômes semblables.

La population cible paraît être assez limitée. Mais la pathologie est probablement sous-estimée, comme le montrent des études sérologiques des sujets asymptomatiques dans les zones endémiques.

A noter le fait que la leptospirose est une pathologie potentiellement grave. Une antibiothérapie efficace existe et est d'autant plus efficace si elle est mise en place précocement.

Les techniques figurant actuellement à la NABM permettent un diagnostic seulement à partir de 8ème jour de la maladie, ce qui peut être préjudiciable, notamment dans les cas graves.

Les experts sont majoritairement localisés en Outre-mer.



## REALISATION PROPOSEE

---

### I. TITRE RETENU POUR L'ÉVALUATION

Diagnostic biologique de la leptospirose

### II. OBJECTIFS

Cette évaluation a pour objectif l'estimation des performances diagnostiques de tests de biologie spécifiques de la leptospirose, puis la hiérarchisation des techniques si plusieurs d'entre elles ont des performances diagnostiques satisfaisantes.

### III. CHAMP DE L'ÉVALUATION

Les aspects inclus dans le champ d'évaluation seront les tests diagnostiques de la leptospirose humaine :

- le test TR (doute sur son utilité alors que le test est inscrit à la NABM) ;
- le test ELISA, la biologie moléculaire avec amplification, les tests unitaires sur bandelettes (ne sont pas inscrits à la NABM, mais présenteraient des avantages) ;
- le test MAT est un test de référence, inscrit à la NABM auquel seront comparés les autres tests.

Parallèlement, seront exclus de l'évaluation :

- les autres tests sérologiques de diagnostic biologique de la leptospirose humaine, (test de fixation du complément, test d'hémagglutination indirecte, *Patoc-slide agglutination test*, microcapsule agglutination test, test de lyse érythrocytaire sensibilisé, test d'agglutination sur latex, test de fluorescence indirecte des anticorps) ;
- les tests biologiques destinés à la surveillance épidémiologique, au domaine vétérinaire, au domaine de recherche fondamentale ;
- le traitement et la prévention de la leptospirose (prophylaxie).

Cette évaluation ne comprendra pas de volet médico-économique. Son objectif est en effet de préciser sur des arguments cliniques, quelles sont les techniques diagnostiques les plus performantes dans la recherche de leptospires. La réévaluation de ce sujet pourra néanmoins avoir un impact budgétaire dont il sera utile de tenir compte.

### IV. METHODE DE TRAVAIL

La méthode de travail s'appuie sur :

- l'analyse critique des données identifiées dans la littérature scientifique ;
- la position d'un groupe multidisciplinaire d'experts, recueillie par un questionnaire.

Le choix d'un groupe de travail interrogé à distance par un questionnaire est motivé par le fait que la grande majorité des experts travaille en Outre-mer, où la leptospirose est plus répandue.

## V. PLAN DU RAPPORT D'ÉVALUATION

Le plan prévu pour le rapport est le suivant :

### 1. Contexte

- présentation de la bactérie
- pathologie
- diagnostic biologique spécifique

### 2. Méthode

### 3. Résultats de l'évaluation

- ELISA
- macro-agglutination sur lame avec l'antigène thermorésistant
- biologie moléculaire avec amplification
- tests unitaires sur bandelette

### 4. Conclusions

## VI. PROFESSIONNELS CONCERNES

Les spécialités et les sociétés savantes suivantes seront sollicitées pour indiquer les noms d'experts susceptibles de participer au groupe de travail interrogé à distance :

Spécialités	Organismes
<b>Médecins de pathologie infectieuse et tropicale, clinique et biologique</b>	Société de Pathologies Infectieuses de Langue Française Société de Pathologie Exotique Collège des Universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales
<b>Médecin généraliste</b>	Société Française de Médecine Générale
<b>Biologiste médical</b>	Société Française de Biologie Clinique Société Française d'Immunologie
<b>Médecin de santé publique</b>	Société Française de Santé Publique
<b>Microbiologiste</b>	Société Française de Microbiologie Société Française de Parasitologie

Il est prévu que le groupe de travail interrogé à distance soit composé de la manière suivante :

<b>Spécialités</b>	<b>Nombre de spécialistes</b>
<b>Médecin de pathologie infectieuse et tropicale</b>	4
<b>Microbiologistes (bactériologistes)</b>	3
<b>Médecin généraliste</b>	2
<b>Médecin interniste</b>	1
<b>Biologiste médical</b>	1
<b>Médecin de santé publique</b>	1
<b>Total</b>	12

## **VII. POPULATION CIBLE EN FRANCE**

Sont principalement concernées par cette maladie infectieuse :

- la population générale dans les zones endémiques (Guadeloupe, Martinique, Guyane, Réunion et Mayotte, Nouvelle Calédonie, Polynésie Française, Wallis et Futuna) ;
- certaines professions (agriculteurs, éleveurs, égoutiers, éboueurs, vétérinaires...) et les personnes pratiquant des loisirs nautiques (baignade, canoë, kayak, pêche, chasse, canyoning...), car elles sont en contact avec de l'eau douce souillée par les urines d'animaux infectés.

## **VIII. DOCUMENTS A PRODUIRE**

Il est prévu de rédiger les documents suivants :

- rapport d'évaluation ;
- texte court ;
- document d'avis.

## **IX. CALENDRIER PREVISIONNEL**

Le calendrier prévisionnel est le suivant :

- analyse de la littérature : septembre - décembre 2010 ;
- interrogation des experts (élaboration du groupe de travail, envoi du questionnaire et du rapport, synthèse des réponses, validation par les experts) : novembre – janvier 2010 ;
- examen par la CNEDiMTS : janvier 2011 ;
- validation par le collège : février 2011 ;
- mise en ligne : mars 2011.

## ANNEXES

---

### I. PHASE DE CADRAGE ET DOCUMENT DE CADRAGE

Cette note de cadrage est le document élaboré à l'issue de la phase de cadrage, première phase du processus d'évaluation d'une technologie de santé.

Elle fait suite à la phase de faisabilité / priorisation qui détermine si la demande d'évaluation est acceptée par la HAS.

Elle a pour principaux buts de :

- définir le contexte dans ces différentes dimensions (médical, organisationnel, les enjeux, les difficultés, ...)
- formuler les questions auxquelles répondre (*i.e.*, le champ de l'évaluation) ;
- définir la méthode de l'évaluation.

Elle prépare l'évaluation à proprement parler.

La méthode utilisée lors de cette phase de cadrage s'appuie sur :

- la recherche d'information par tous les moyens possibles ;
- une recherche bibliographique systématique permettant d'avoir i) la littérature synthétique (rapports d'évaluation, recommandations de bonne pratique, ...) sur le sujet, ii) une estimation macroscopique et quantitative des publications par type d'étude dans les bases de données ;
- des contacts, et le cas échéant la tenue de réunion, avec les différentes parties prenantes (demandeur, institutionnels, professionnels de santé, ...).

Ce cadrage est réalisé par un chef de projet de la HAS, avec le soutien d'un membre de la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé (CNEDiMTS) de la HAS, le référent du sujet.

Ce cadrage est examiné par la CNEDiMTS puis validé par le Collège de la HAS ; la composition de ces deux instances figure sur le site de la HAS.

### II. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Méthode

La recherche a porté sur les sujets et les types d'études définis en accord avec le chef de projet et a été limitée aux publications en langue anglaise et française.

Elle a porté sur la période de janvier 1975 à juin 2010.

Les sources suivantes ont été interrogées :

- pour la littérature internationale : la base de données Medline
- pour la littérature francophone : la base de données Pascal et la Banque de Données en Santé Publique ;
- la Cochrane Library ;
- les sites internet publiant des recommandations, des rapports d'évaluation technologique ou économique ;
- les sites Internet des sociétés savantes compétentes dans le domaine étudié.

#### Stratégie et résultats

**Bases de données bibliographiques**

La stratégie de recherche dans les bases de données bibliographiques est construite en utilisant, pour chaque sujet, 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.

Le *tableau 1* présente la stratégie de recherche dans la base de données Medline. Dans ce tableau, des références doublons peuvent être présentes entre les différents thèmes et/ou types de d'études.

**Tableau 1** : Stratégie de recherche dans la base de données Medline:

Type d'étude / sujet Termes utilisés	Période	Nombre de références
<b>Diagnostic de la leptospirose</b>		
<b>Diagnostic – Recommandations</b>	01/2000 – 06/2010	<b>4</b>
Etape 1 leptospirosis/de OR leptospiros*/ti ET		
Etape 2 (leptospirosis/diagnosis OR diagnosis)/de OR (diagnos* OR detect* OR test* OR screen*)/ti ET		
Etape 3 (guidelines as topic OR practice guidelines as topic OR health planning guidelines OR consensus development conferences as topic OR consensus development conferences, NIH as topic)/de OR (practice guideline OR guideline OR consensus development conference OR consensus development conference, NIH)/type de publication OR (recommendation* OR guideline*)/ti		
<b>Diagnostic – Méta-analyses et revues systématiques</b>	01/2000 – 06/2010	<b>0</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET		
Etape 4 meta-analysis as topic/de OR meta-analysis/type de publication OR (meta-analysis OR meta analysis OR metaanalysis OR systematic* review*)/ti		
<b>Diagnostic – Autres revues de littérature</b>	01/2000 – 06/2010	<b>2</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET		
Etape 5 (review literature as topic OR review)/de OR review of literature/ti		
<b>Tests diagnostiques – Recommandations</b>	01/2000 – 06/2010	<b>2</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET		
Etape 6 (agglutination tests OR hemagglutination tests OR latex fixation tests OR enzyme-linked immunosorbent assay OR polymerase chain reaction)/de OR (agglutination-test OR elisa OR pcr)/ti,ab ET		
Etape 3		
<b>Tests diagnostiques – Méta-analyses et revues systématiques</b>	01/2000 – 06/2010	<b>0</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6 ET		
Etape 4		
<b>Tests diagnostiques – Essais contrôlés</b>	01/2000 – 06/2010	<b>3</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6 ET		
Etape 7 (controlled clinical trials as topic OR randomized controlled trials as topic OR single-blind method OR double-blind method OR random allocation OR cross-over studies)/de OR (controlled clinical trial OR randomized controlled trial)/type de publication OR random*/ti		
<b>Tests diagnostiques – Etudes de cohortes</b>	01/2000 – 06/2010	<b>19</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6 ET		
Etape 8 (cohort studies OR longitudinal studies OR follow-up studies OR prospective studies)/de OR (cohort study OR cohort studies)/ti		
<b>Tests diagnostiques – Autres essais cliniques, études comparatives, études de cas contrôlés</b>	01/2000 – 06/2010	<b>59</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6 ET		

Etape 9	(clinical trials as topic OR case-control studies OR retrospective studies)/de OR (comparative study OR clinical trial)/type de publication OR (versus OR compar*)/ti		
<b>Tests diagnostiques – Etudes de cas</b>		01/2000 – 06/2010	<b>32</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6			
ET			
Etape 10	case reports/type de publication OR (case study OR case studies OR case report*)/ti		
<b>Tests diagnostiques – Autres types d'études</b>		01/2000 – 06/2010	<b>172</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6			
SAUF	Etape 3 OR Etape 4 OR Etape 7 OR Etape 8 OR Etape 9 OR Etape 10		
<b>Tests diagnostiques antérieurs – Tous types d'étude</b>		01/1975 – 12/1999	<b>140</b>
Etape 1 ET Etape 2			
ET			
Etape 11	(agglutination tests OR hemagglutination tests OR latex fixation tests)/de OR agglutination-test/ti,ab		
<b>Données épidémiologiques</b>		01/2000 – 06/2010	<b>27</b>
Etape 1			
ET			
Etape 12	(epidemiology OR prevalence OR incidence OR registries OR mortality OR morbidity OR france/epidemiology OR leptospirosis/epidemiology)/de OR (epidemiol* OR prevalence OR incidence OR registry OR registries)/ti		
ET			
Etape 13	(france OR martinique OR guadeloupe OR reunion)/de OR (french OR france)/ti,ab OR france/affiliation		
<b>Données économiques</b>		01/2000 – 06/2010	<b>5</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6			
ET			
Etape 14	(leptospirosis/economics OR costs and cost analysis OR cost allocation OR cost-benefit analysis OR cost control OR cost savings OR cost of illness OR cost sharing OR health care costs OR health expenditures OR economics, hospital OR hospital costs OR budgets OR insurance, health OR insurance, health, reimbursement OR health care sector OR economics)/de OR (cost OR costs OR burden of disease OR cost effectiveness)/ti,ab		

de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract

### Sites consultés

Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé - AFSSAPS  
 Bibliothèque Interuniversitaire de Médecine - BIUM  
 Bibliothèque médicale Lemanissier  
 Catalogue et index des sites médicaux francophones - CISMef  
 Centre National de Référence des Leptospiroses  
 Expertise collective INSERM  
 Haut Conseil de la santé publique  
 Institut de Veille Sanitaire – INVS  
 Institut national de prévention et d'éducation pour la santé – INPES  
 Institut Pasteur  
 Institut Pasteur de Guadeloupe  
 Institut Pasteur de la Guyane  
 Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie  
 Ministère de la Santé et des Sports  
 Société de Pathologie Exotique  
 Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française – SPILF  
 Société Française de Médecine Générale – SFMG

Agency for Healthcare Research and Quality - AHRQ  
 Alberta Heritage Foundation for Medical Research - AHFMR  
 Alberta Medical Association  
 American College of Physicians - ACP  
 BMJ Clinical Evidence

Centers for Disease Control and Prevention  
 Centre fédéral d'expertise des soins de santé - KCE  
 Centre for Clinical Effectiveness – CCE  
 Centre for Reviews and Dissemination databases  
 Clinical Knowledge Summaries  
 CMA Infobase  
 Cochrane Library  
 Euroscan  
 Guideline Advisory Committee - GAC  
 Guidelines and Protocols Advisory Committee- GPAC  
 Guidelines Finder (National Library for Health)  
 Guidelines International Network - GIN  
 Institute for Clinical Evaluative Sciences - ICES  
 Institute for Clinical Systems Improvement - ICSI  
 International Leptospirosis Society  
 Intute Health & Life Sciences - INTUTE  
 Medical Services Advisory Committee - MSAC  
 National Guideline Clearinghouse - NGC  
 National Health and Medical Research Council - NHMRC  
 National Horizon Scanning Centre - NHSC  
 National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE  
 New Zealand Guidelines Group - NZGG  
 Scottish Intercollegiate Guidelines Network - SIGN  
 Singapore Ministry of Health  
 Tripdatabase  
 U.S. Preventive Services Task Force - USPST  
 Veterans affairs, Dep. Of Defense Clinical practice guidelines  
 World Health Organization – WHO

### Résultats

Nombre références identifiées : 466  
 Nombres de références analysées : 99

### III. COMPTE RENDU DE REUNION SUR PROBLEMES D'APROVISIONNEMENT

#### **Relevé de décisions de la réunion téléphonique relative aux tests diagnostics de la leptospirose : rupture de stock et performance**

**Date : 08 juillet 2008**

**Organisateur DGS/bureau RI 1**

Participants :

CNR	Mathieu Picardeau
InVS	Isabelle Capek
Afssaps – surveillance du marché	Cécile Vaugelade Francis Poisson Natacha Charlier-Bret
Afssaps - réactovigilance	Sophie-Charlotte Cesbron Arnaud Reggiani
HAS	Nicole Melin
DGS (bureau RI1 prévention des risques infectieux et politique vaccinale)	Marie-Claire Paty

Absent : bureau PP3 (DGS)

A l'occasion d'une rupture de stock du test de dépistage de la leptospirose inscrit à la nomenclature (macroagglutination) et alors que ses performances en tant que test de dépistage sont questionnées, la DGS (bureau R11) a souhaité réunir les informations disponibles afin de définir les mesures possibles pour permettre la réalisation pratique du diagnostic biologique de leptospirose.

### **Diagnostic biologique de la leptospirose :**

Depuis 2005 la nomenclature prévoit un diagnostic sérologique en 2 étapes :

1. test de dépistage par macroagglutination avec antigène thermo résistant (TR) réalisé par les LABM et les laboratoires des établissements de soins ;
2. en cas de test positif confirmation par la technique de référence microagglutination (MAT) qui permet le sérotypage de la souche, réalisée au CNR et quelques autres laboratoires.

Avant 2005, seul le test MAT était inscrit à la nomenclature et donc réalisé en 1<sup>ère</sup> intention.

Le réactif TR est produit et commercialisé par la société Biorad ® ainsi que par le CNR pour son usage propre et le Laboratoire Mérieux.

La MAT est réalisée par le CNR et 2 ou 3 autres laboratoires en France. Elle n'est pas remboursée si elle est utilisée en 1<sup>ère</sup> intention (hors nomenclature).

Il existe des techniques Elisa ayant obtenu le marquage CE (cf liste des produits déclarés auprès de l'Afssaps en pièce jointe) dont l'une a été évaluée par le CNR (Panbio®) avec de bons résultats. Ces techniques sont IgM seules ou IgG et IgM. Elles ne sont pas inscrites à la nomenclature.

### **Situation actuelle**

#### Plusieurs problèmes concomitants sont posés :

- Rupture de stock du réactif TR produit par Biorad ® du fait de retraits de lots en lien avec des problèmes de stabilité du réactif. Premier retrait en janvier 2008, 2<sup>ème</sup> retrait en mai 2008. L'Afssaps a informé de ces retraits de lots. L'origine de ce problème récurrent de stabilité n'a semble t-il pas été identifiée (antigène, processus de production par exemple).
- Interrogations sur la performance de ce test ayant mené le CNR à saisir la HAS pour une demande d'évaluation en vue de retrait du test TR. La HAS rappelle que ce n'est pas elle qui décide du retrait mais l'assurance maladie qui a, pour les actes, le pouvoir de les inscrire, modifier ou supprimer de la nomenclature après avis de la HAS. Concernant cette demande la HAS a engagé une procédure de faisabilité, préalable à une priorisation quant à l'inscription au programme de travail 2009.
- De plus, le test Elisa Panbio® utilisé par certaines équipes est aussi en rupture de stock.

La rupture de stock d'antigène TR, liée à un problème dans la production du TR, rend plus aiguë la question de la modification éventuelle de la nomenclature.

Le nombre de sérologies réalisées chaque année est d'environ 4000 au CNR et 2500 en secteur libéral selon les données de la CNAMTS fournies par la HAS.

Le nombre de cas de leptospirose confirmés chaque année est de 300 à 400 en France métropolitaine, de même pour les DOM.



### Conséquences

D'après les informations de l'InVS, un certain nombre de laboratoires congèlent les prélèvements, la MAT n'étant pas inscrite à la nomenclature.

En termes de surveillance (basée sur les résultats du CNR), la modification de nomenclature de 2005 a eu pour conséquence une moindre fiabilité de la surveillance (diminution du nombre de cas recensés parallèle à l'utilisation du test TR en dépistage). La situation actuelle de pénurie de tests rend la surveillance ininterprétable et l'identification de cas groupés très hypothétique (seule la MAT permet d'identifier au niveau du sérotype).

Au plan individuel, nous n'avons pas de données sur d'éventuels retards au diagnostic ou diagnostic erronés du fait de l'absence de test mais ce risque existe.

### Solution apportée à ce jour

Le CNR a fourni la société Biorad ® avec son antigène afin qu'il démarre une nouvelle production. Il est impossible d'anticiper s'il y aura de nouveau des problèmes de stabilité, la cause n'ayant pas été identifiée selon nos informations.

### **Propositions**

A court et moyen terme, le retour à la situation antérieure apparaît comme la solution la plus adaptée. Celui-ci peut prendre plusieurs formes :

- Procédure dérogatoire mise en place par la CNAMTS dans un contexte de rupture de stock du réactif, permettant le diagnostic sérologique de la leptospirose en première intention par microagglutination durant la période d'indisponibilité des réactifs pour la macroagglutination. Cette solution a l'avantage d'être conservatoire en attendant une véritable évaluation des différentes techniques de recherche de leptospirose. Le CNR rappelle que le problème actuel concerne la stabilité du TR, or le CNR contrôle et valide l'antigène TR de BioRad avant la mise sur le marché, mais personne ne re-contrôle cet antigène 1 semaine, 1 mois, 6 mois,... après sa production pour vérifier sa stabilité, ce qui a pour conséquence que les problèmes de stabilité rencontrés à 2 reprises cette année peuvent tout à fait se reproduire. L'Afssaps confirme que si la dérogation est conditionnée à la rupture de stock, il faudra prévoir qu'elle puisse être réactivée très rapidement si BioRad remet son produit sur le marché et a à nouveau des problèmes conduisant au retrait du produit.
- Avis selon une procédure simplifiée de la HAS sur demande de la CNAMTS et/ou du ministère qui pourrait permettre un retour à l'état antérieur mais celui-ci nécessitera un délai de plusieurs semaines. La mesure risque d'être effective après la fin de la période épidémique. Cette solution a l'inconvénient de faire disparaître la macroagglutination sans véritable évaluation. Il conviendra sans doute alors de tenir informé BioRad de cette éventualité.

=> La DGS se charge de prendre contact avec la CNAMTS, (Mission Biologie, Département des produits de santé) pour soumettre le problème et envisager les modalités réglementaires et officielles de cette procédure.

A plus long terme, il semblerait intéressant que l'évaluation de la HAS porte sur l'ensemble des méthodes diagnostiques de la leptospirose avec 'en particulier, la question de la place des tests ELISA.

=> Cela nécessitera d'élargir la demande actuelle (à l'initiative de CNR ou ministère, autres agences, CNAMTS ou sociétés savantes).

#### IV. LETTRE RESEAU

## LETTRE-RÉSEAU LR-DDGOS-77/2008

Date : 09/10/2008

Objet : Nomenclature des actes de biologies médicale (NABM) :

Informations relatives à la prise en charge de la sérologie de la leptospirose

*Affaire suivie par : Anne Françoise Kuhn – 01.72.60.18.79*

*Laurence Robba – 01.72.60.23.85*

La présente lettre réseau a pour objet d'apporter des informations sur la prise en charge des tests sérologiques pour le diagnostic de la leptospirose. A la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) sont inscrits deux tests sérologiques permettant le diagnostic de la leptospirose.

**1) Le test de dépistage (acte 1245) :**

1245 Dépistage par agglutination B 30

**2) Le test de confirmation : titrage par micro agglutination (acte 1312)**

1312 En cas de dépistage positif, titrage par micro-agglutination – lyse Au moins 9 antigènes B 120

La Direction générale de la santé a alerté récemment la CNAMTS sur l'indisponibilité du test de dépistage, du fait de problèmes de stabilité du réactif.

Le Centre national de référence des leptospiroses a saisi par ailleurs la Haute Autorité de santé pour évaluer l'intérêt des deux tests et notamment de celui de dépistage qui, selon sa propre évaluation, présente de mauvaises performances.

En conséquence, dans l'attente de nouvelles instructions, il est demandé aux caisses et aux services médicaux, lors de la prescription de sérologie de leptospirose, de ne pas s'opposer à la prise en charge du test de référence (ou test de micro-agglutination-lyse - acte 1312), réalisé en première intention, en l'absence réalisation préalable du test de dépistage (acte 1245).

## V. REFERENCES AYANT SERVI DE BASE A L'ELABORATION DE CE DOCUMENT

1. Abgueguen P, Pichard E. Leptospiroses. Encycl Méd Chir Mal Infect 2006;4-1161.
2. Organisation mondiale de la santé. Guide pour la lutte contre la leptospirose. Genève: OMS; 1987.
3. Houpikian P, Perolat P, Baranton G, Brouqui P. Leptospiroses. Encycl Méd Chir Mal Infect 2002;8-039-Q-10.
4. Mazzonelli J, Dorta de MG, Mailloux M. Antigène thermorésistant chez les leptospires. Ann Microbiol 1974;125(1):125-6.
5. Centre National de Référence des Leptospores. Rapport d'activité 2006. <[http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/RAwebCNRL\\_2007.pdf](http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/RAwebCNRL_2007.pdf)> [consulté en 09/2010].
6. Centre national de référence des Leptospiroses. Epidémiologie de la Leptospirose en France en 2008 2008.[consulté en 09/2010].
7. Institut de veille sanitaire. Epidémiologie de la leptospirose en Polynésie française de 2006 à 2008. Bull Epidémiol Hebdo 2009;48. [http://www.invs.sante.fr/beh/2009/48\\_49\\_50/beh\\_48\\_48\\_50\\_2009.pdf](http://www.invs.sante.fr/beh/2009/48_49_50/beh_48_48_50_2009.pdf)
8. Aubry P. Leptospiroses - Actualités 2008 2008. <<http://medecinetropicale.free.fr/cours/leptospirose.htm>> [consulté en 09/2010].
9. World Health Organization. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control 2003. <[http://www.who.int/csr/don/en/WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002.23.pdf](http://www.who.int/csr/don/en/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.23.pdf)> [consulté en 09/2010].
10. Mérien F, Berlioz-Arthaud A. La leptospirose : une zoonose sous surveillance en nouvelle-calédonie et dans le pacifique. Revue Francophone des Laboratoires 2005;374:45-50.