



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

**RAPPORT D'ÉVALUATION TECHNOLOGIQUE**

**DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE  
DE LA LEPTOSPIROSE**

Juin 2011

Service évaluation des actes professionnels

Ce rapport d'évaluation 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 **juin 2011**.

© Haute Autorité de Santé – **2011**.

## ÉQUIPE

---

Ce document a été réalisé par M<sup>me</sup> le D<sup>r</sup> Tatiana LEGKOBYT, chef de projet au Service évaluation des actes professionnels, avec l'orientation de M. le D<sup>r</sup> Denis Jean DAVID, docteur ès sciences, adjoint au chef de service, et de M<sup>me</sup> le D<sup>r</sup> Sun Hae LEE-ROBIN, docteur en médecine, chef de service.

M<sup>me</sup> le P<sup>r</sup> 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 M<sup>me</sup> Virginie HENRY, documentaliste, avec l'aide de M<sup>me</sup> Maud LEFEVRE, avec l'orientation de M<sup>me</sup> Christine DEVAUD, adjoint au chef de service, et de M<sup>me</sup> le D<sup>r</sup> Frédérique PAGES, docteur ès sciences, chef de service.

L'organisation logistique et le travail de secrétariat ont été réalisés par M<sup>me</sup> Stéphanie BANKOUSSOU.

---

Pour tout contact au sujet de ce rapport :

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>I. SOURCES D'INFORMATION</b> .....	<b>9</b>
<b>II. INFORMATION GENERALE SUR LA LEPTOSPIROSE</b> .....	<b>9</b>
<b>III. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE SPECIFIQUE DE LA LEPTOSPIROSE</b> .....	<b>13</b>
III.1 TECHNIQUES SEROLOGIQUES .....	14
III.2 METHODES DE DETECTION DIRECTE .....	16
<b>IV. CONDITIONS ACTUELLES DE LA PRISE EN CHARGE PAR L'ASSURANCE MALADIE</b> .....	<b>18</b>
<b>V. IDENTIFICATION DANS LES NOMENCLATURES ETRANGERES</b> .....	<b>20</b>
<b>I. RECHERCHE DOCUMENTAIRE</b> .....	<b>21</b>
I.1 BASES AUTOMATISEES DE DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	21
I.1.1 Liste des bases interrogées .....	21
I.1.2 Stratégie d'interrogation des bases et résultats.....	21
I.2 SITES INTERNET.....	23
I.2.1 Liste des sites consultés .....	23
I.3 AUTRES SOURCES .....	24
I.4 ÉTUDES CLINIQUES EN COURS .....	25
I.4.1 Liste des sources consultées .....	25
I.4.2 Etudes en cours identifiées.....	25
<b>II. SELECTION DES DOCUMENTS IDENTIFIES</b> .....	<b>25</b>
II.1 PREMIERE SELECTION DES DOCUMENTS IDENTIFIES PAR LA RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE .....	25
II.2 SELECTION DES DOCUMENTS ANALYSES DANS CE RAPPORT .....	26
II.2.1 Critères de sélection.....	26
II.2.2 Résultats.....	26
<b>III. GROUPE DE TRAVAIL</b> .....	<b>27</b>
III.1 CONSTITUTION .....	27
III.2 COMPOSITION.....	27
III.3 DECLARATION D'INTERETS .....	28
III.4 RECUEIL DE LA POSITION ARGUMENTEE DU GROUPE DE TRAVAIL A DISTANCE .....	28
<b>I. ANALYSE DE LA LITTERATURE : PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DES TECHNIQUES SEROLOGIQUES</b> .....	<b>30</b>
<b>II. ELISA (IGM) POUR LE DIAGNOSTIC DE LA LEPTOSPIROSE</b> .....	<b>30</b>
II.1.1 Présentation des documents analysés.....	30
II.1.2 Limites méthodologiques .....	31
II.1.3 Présentation et analyse critique des résultats.....	34
II.1.4 Conclusion .....	36
II.2 MACRO-AGGLUTINATION AVEC ANTIGENE THERMORESISTANT (TR) POUR LE DIAGNOSTIC DE LA LEPTOSPIROSE.....	37
II.2.1 Présentation des documents analysés.....	37
II.2.2 Limites méthodologiques .....	39
II.2.3 Présentation et analyse critique des résultats.....	39
II.2.4 Conclusion .....	41
II.3 TESTS UNITAIRES A LECTURE VISUELLE POUR DETECTER DES ANTICORPS ANTI-LEPTOSPIRES DANS LE DIAGNOSTIC DE LA LEPTOSPIROSE .....	41
II.3.1 Présentation des documents analysés.....	41
II.3.2 Limites méthodologiques .....	42
II.3.3 Présentation et analyse critique des résultats.....	46
II.3.4 Conclusion .....	47

<b>III. ANALYSE DE LA LITTÉRATURE : PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DES TESTS DE DETECTION DE L'ADN DES LEPTOSPIRES PAR BIOLOGIE MOLECULAIRE AVEC AMPLIFICATION</b> .....	48
III.1 PRESENTATION DES DOCUMENTS ANALYSES CONCERNANT LE TEST PCR.....	48
III.2 PRESENTATION DES DOCUMENTS ANALYSES CONCERNANT LE TEST PCR EN TEMPS REEL .....	49
III.2.1 Type d'étude .....	49
III.2.2 Type de test étudié .....	49
III.2.3 Population étudiée .....	49
III.2.4 Test de référence utilisé.....	49
III.2.5 Limites méthodologiques des études PCR en temps réel.....	50
III.3 PRESENTATION ET ANALYSE CRITIQUE DES RESULTATS DES TECHNIQUES DE DETECTION DE L'ADN DES LEPTOSPIRES PAR BIOLOGIE MOLECULAIRE AVEC AMPLIFICATION.....	54
III.3.1 PCR .....	54
III.3.2 PCR en temps réel.....	54
III.4 CONCLUSION.....	59
<b>IV. SYNTHÈSE DE L'ANALYSE DES ARTICLES SUR LES DIFFÉRENTES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA LEPTOSPIROSE.....</b>	59
<b>V. ANALYSE DE LA LITTÉRATURE : STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE</b> .....	61
V.1 PRESENTATION DES DOCUMENTS ANALYSES .....	61
V.2 LIMITES METHODOLOGIQUES .....	61
V.3 PRESENTATION ET ANALYSE CRITIQUE DES RESULTATS .....	61
V.3.1 Conclusions de la recommandation française « Rémic » concernant la leptospirose.....	61
V.3.2 Conclusions de la recommandation britannique concernant la leptospirose ..	62
V.4 CONCLUSION.....	63
<b>VI. POSITION DU GROUPE DE TRAVAIL</b> .....	63
<b>1. PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES ET DES CONDITIONS DE RÉALISATION DES TESTS.....</b>	63
<b>I. MÉTHODE GÉNÉRALE D'ÉLABORATION D'UN RAPPORT D'ÉVALUATION D'UNE TECHNOLOGIE DE SANTÉ.....</b>	76
<b>II. QUESTIONNAIRE ENVOYÉ AU GROUPE DE TRAVAIL</b> .....	77
II.1 TEST ELISA IgM.....	77
II.2 TEST TR (MACRO-AGGLUTINATION AVEC ANTIGÈNE THERMORÉSISTANT) .....	78
II.3 TESTS UNITAIRES A LECTURE VISUELLE (RECHERCHE D'IGM).....	79
II.4 TECHNIQUE DE PCR (ÉCHANTILLON SANGUIN, HORS PCR EN TEMPS REEL, TRAITÉ AU CHAPITRE SUIVANT) .....	81
II.5 TEST DE PCR EN TEMPS REEL (ÉCHANTILLON SANGUIN).....	82
II.6 TOUTES LES QUESTIONS PRÉCÉDENTES PORTENT SUR DES ÉCHANTILLONS SANGUINS. ÊTES-VOUS D'ACCORD SUR LE FAIT QUE, POUR LES ÉCHANTILLONS D'URINE, IL MANQUE DE DONNÉES POUR CONCLURE SUR LES PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DU TEST PCR EN TEMPS REEL ? ARGUMENTEZ VOTRE RÉPONSE. ....	84

---

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

ADN	: Acide désoxyribonucléique.
CNAMTS	: Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés.
CNR	: Centre National de Référence.
ELISA	: <i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i> .
Ig	: Immunoglobuline.
LCR	: Liquide céphalo-rachidien.
MAT	: <i>Microscopic Agglutination Test</i> .
NABM	: Nomenclature des actes de biologie médicale.
OMS	: Organisation mondiale de la Santé.
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i> (en français ACP – « amplification en chaîne par polymérase »).

---

## LEXIQUE

---

Amorce	:	Courte séquence d'ARN ou d'ADN servant du point de départ à la synthèse du brin complémentaire par une ADN polymérase.
Gyrase	:	Topoisomérase bactérienne catalysant le déroulement local de la double hélice de l'ADN.
Zoonoses	:	Selon l'Organisation mondiale de la santé (1959), maladies et infections qui se transmettent naturellement des animaux vertébrés à l'homme et vice-versa.

**Sensibilité** : la sensibilité d'un test ou d'un examen diagnostique est sa capacité à donner un résultat positif lorsque la maladie (ou la condition) est présente.

$$Se = a/(a+c).$$

**Spécificité** : la spécificité d'un test ou d'un examen diagnostique est sa capacité à donner un résultat négatif lorsque la maladie (ou la condition) n'est pas présente.

$$Sp = d/(b+d).$$

**Valeurs prédictives** : elles expriment comment les résultats d'un examen diagnostique vont prédire la présence ou l'absence d'une maladie.

**Valeur prédictive positive (VPP)** : elle exprime la probabilité que la maladie recherchée soit effectivement présente chez le sujet,  $VPP=a/(a+b)$ .

**Valeur prédictive négative (VPN)** : elle exprime le degré de certitude, l'assurance en termes de probabilité que la maladie recherchée n'est pas présente chez le sujet,  $VPN=d/(c+d)$ .

	Malades	Non-malades
Test positif	a (vrais positifs)	b (faux positifs)
Test négatif	c (faux négatifs)	d (vrais négatifs)

**Efficacité diagnostique (par rapport à la méthode de référence)** : elle est obtenue en divisant les réponses correctes (vrais positifs + vrais négatifs) par le nombre total de patients =  $(a+d)/(a+b+c+d)$ .

## INTRODUCTION

---

Le tableau clinique de la leptospirose est polymorphe, c'est pourquoi le diagnostic biologique spécifique présente une grande importance.

La demande d'évaluation a été déposée à la HAS par le Centre national de référence des leptospires. La motivation principale du demandeur était le doute concernant la performance du test de macro-agglutination avec antigène thermorésistant (dit test TR), qui permet de mettre en évidence des anticorps antileptospires. Ce test est inscrit à la liste des actes de biologie médicale pris en charge par l'Assurance maladie, la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), qui prévoit que le test TR doit être réalisé en première intention.

Le but du demandeur est d'obtenir une modification de la NABM avec la désinscription du test TR et la possibilité de réaliser en première intention l'autre test inscrit à la NABM, le test MAT (*microscopic agglutination test*), qui permet également de mettre en évidence des anticorps antileptospire.

Il est généralement admis que ces deux tests ne permettent la détection des anticorps circulants qu'à partir de la deuxième semaine du début de la fièvre, ce qui n'est pas suffisant pour une maladie potentiellement grave comme la leptospirose.

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

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

- le test TR pour lequel il existe un doute sur son utilité, alors qu'il est inscrit à la NABM ;
- les tests ELISA, les tests dont le support est la biologie moléculaire avec amplification, les tests unitaires sur bandelettes, qui ne sont pas inscrits à la NABM, mais qui pourraient présenter des avantages par rapport aux tests inscrits.

Le test MAT est considéré comme le test de référence ; il est inscrit à la NABM.

La présentation de la demande, son analyse, la détermination des champs inclus et non inclus dans cette évaluation ont fait l'objet d'un document de cadrage présent sur le site de la HAS (1).



## CONTEXTE

---

### I. SOURCES D'INFORMATION

Ce chapitre de contexte a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus :

- des revues de synthèse ;
- des articles d'épidémiologie ;
- des ouvrages spécialisés en biologie clinique ;
- des articles de l'Encyclopédie médico-chirurgicale ;
- des données de l'Assurance maladie ;
- des documents de l'Organisation mondiale de la Santé.

### II. INFORMATION GENERALE SUR LA LEPTOSPIROSE

La leptospirose est une zoonose causée par une bactérie du genre *Leptospira* de l'ordre *Spirochaetales*. C'est une infection de répartition mondiale (2). Les leptospires sont les bactéries susceptibles d'infecter un grand nombre de mammifères sauvages (rongeurs, ruminants, etc.) et domestiques (les bovins, les ovins, les caprins, les porcs, les chiens) qui les excrètent dans les urines (3). Tous les sérovars pathogènes pour les animaux peuvent être également pathogènes pour l'homme.

Les leptospires sont des 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 (4).

L'un des antigènes immunodominants (le lipopolysaccharide) est spécifique de sérovar. Il suscite la production d'anticorps agglutinants par la personne infectée, révélés en particulier par le test de micro-agglutination MAT (4). D'autres antigènes sont communs au genre *Leptospira* et non spécifiques du sérovar. L'antigène thermorésistant fait partie de ces antigènes, parfois appelés « antigènes de groupe ». Il est présent dans la souche saprophyte *Leptospira biflexa* Patoc. 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 immun-sérums quelle que soit la souche d'origine (5). Il est important de noter que la composition chimique de tels extraits n'est pas caractérisée et dépend donc des modes de préparation (comprenant extractions chimiques et physiques). Ceci explique la grande hétérogénéité des antigènes employés en ELISA et bandelettes, l'éventuel procédé de préparation variant avec chaque fournisseur. La réponse immunitaire humorale est détectable avec les techniques actuellement disponibles, à partir des 6-8<sup>ème</sup> jours suivant le début de la fièvre et peut être décapitée suite à la mise en place d'une antibiothérapie précoce (les antibiotiques ne font pas diminuer un taux d'anticorps déjà présents).

Il existe deux classifications du genre *Leptospira*, ayant chacune leur utilité (4) :

- La classification traditionnelle est fondée sur les critères sérologiques déterminés par le test MAT. Elle reconnaît deux espèces : *Leptospira biflexa sensu lato*, saprophyte, et *Leptospira interrogans sensu lato*, pathogène. Environ 300 sérovars de leptospires pathogènes 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 et d'immun-sérums 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 (6 espèces), les pathogènes (9 espèces) et le groupe intermédiaire (5 espèces)(4).

Cette taxonomie moléculaire s'impose difficilement auprès des cliniciens et des spécialistes de la leptospirose malgré plusieurs avantages : reproductible, rapide, peu coûteuse. Enfin, les méthodes génomiques sont accessibles à un 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.

L'épidémiologie de la leptospirose est étroitement liée aux conditions climatiques 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 (4).

En France, l'incidence reconnue 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 des conditions sanitaires en élevage différentes (4).

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 un pic d'incidence sur une forte endémie.

Le nombre de cas de leptospirose confirmés chaque année est de 300 à 400 en France métropolitaine, de même pour les DOM (6,6,7). 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.

Selon le CNR des leptospires (8) les principaux sérogroupe étiologiques de leptospirose en France métropolitaine en 2008 sont *Icterohaemorrhagiae*(31 %), *Grippotyphosa* (18 %), *Australis* (7 %), *Canicola* (7 %), et *Sejroe* (6 %) ; en Guadeloupe : *Icterohaemorrhagiae* (33 %), *Cynopteri*, *Canicola*, *Ballum* ; en Martinique : *Icterohaemorrhagiae* (26 %), *Pyrogenes* (12 %), *Canicola* (10 %), *Sejroe* (10 %).

Le réservoir des leptospires est principalement animal, mais se prolonge dans l'environnement (4). Le réservoir animal est très diversifié, il comprend les rongeurs

et les insectivores, des animaux d'élevage (ruminants, bovins, ou porcs) et des animaux de compagnie et de sport comme les chiens et chevaux. Il s'agit 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 urines des animaux infectés et les eaux et les sols souillés par ces urines.

Le mode de transmission peut être direct (au contact des animaux infectés), ou indirect (par les urines des animaux infectés, les eaux ou la terre humide souillées par ces urines). Les leptospires pénètrent dans l'organisme humain par les muqueuses conjonctivales, buccale, nasale, 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, dans les zones d'endémie – jardinage, élevage personnel.

La présentation clinique de la leptospirose est extrêmement polymorphe, allant d'un syndrome pseudo-grippal bénin à une atteinte hépatorénale potentiellement létale (4). Il n'existe aucun symptôme patognomonique du sérovar, même si, historiquement, plusieurs syndromes cliniques ont été décrits en les rattachant particulièrement à certains sérovars. Tout type de sérovar peut être responsable d'une forme bénigne, sévère ou mortelle (2). La gravité de la leptospirose est très variable (4). Les formes bénignes représentent 85 à 90 % des cas.

La période d'incubation dure habituellement de 7 à 13 jours (les extrêmes étant de 2 à 21 jours) (3).

La première phase clinique, également appelée phase initiale ou septicémique 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 (4). A l'examen sont révélés : hémorragie conjonctivale, ictère, signes stéthacoustiques de pneumonie, rash cutané, maculaire ou maculopapuleux siégeant sur le tronc. Splénomégalie, hépatomégalie et adénopathies peuvent venir compléter le tableau.

La deuxième phase clinique ou phase d'état succède à la première après une période de rémission de 2 à 3 jours. 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 sérologique est décelable, en fonction de la technique employée, à partir des 6<sup>ème</sup> -8<sup>ème</sup> jours à partir du début de la fièvre.

Plusieurs formes cliniques sont décrites :

- formes inapparentes, mises en évidence au cours des enquêtes épidémiologiques (4) ;
- formes fébriles pures, réalisant des formes pseudo-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.

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

Une atteinte oculaire sous la forme d'une uvéite peut être présente dans 2 à 10 % des cas et est généralement d'apparition retardée.

Les leptospires peuvent être isolés dans le sang pendant la première semaine de la phase clinique 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 (3,4) (Figure 1).



Figure 1. Variation de la fièvre et présence de la bactérie dans différents compartiments, en fonction du temps

D'après Perolat, 2003 (9) (<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 avec les techniques actuellement disponibles.

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, une élévation de la créatininémie (4). Les tests de diagnostic biologique spécifiques de la leptospirose seront traités dans le chapitre correspondant.

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 (4). Selon les experts (10), étant donné l'extrême polymorphisme des tableaux cliniques (manifestations encéphalitiques, 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.

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 et les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération sont également efficaces et présentent des facilités d'emploi. En cas d'allergie à la pénicilline, le traitement de choix est la doxycycline, administrée par voie orale (4).

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

Le pronostic de la leptospirose dépend de la précocité du diagnostic, de l'état général du malade et de la virulence de la souche 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 tardif. La mortalité est de 5 à 15 %.

Les mesures collectives comportent la vaccination des animaux, 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 et chaussures imperméables) (4).

La leptospirose appartient aux zoonoses inscrites sur la liste des maladies professionnelles (régime général et agricole) et prises en considération pour des catégories professionnelles définies par décrets du 31.12.1946 et du 02.11.1972 relatifs à la législation sur le travail en application du Code de la Sécurité Sociale.

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

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.

La confirmation biologique de la leptospirose, selon l'OMS, repose sur l'isolement de la bactérie ou de ses acides nucléiques dans les échantillons biologiques ou la sérologie positive dans un contexte clinique et épidémiologique évocateur (11).

### III.1 Techniques sérologiques

La sérologie est l'examen le plus utilisé pour poser le diagnostic de leptospirose.

Les anticorps de classe IgM deviennent détectables après le 6<sup>ème</sup> jour de la maladie et le restent pendant quelques mois (2 à 6 mois selon les différentes sources). Ceux de la classe IgG apparaissent plus tard et restent dans la circulation quelques années.

Selon le rapport de l'Organisation mondiale de la Santé de 2003, la sérologie est considérée comme positive soit en cas de séroconversion (titre nul à la dilution considérée comme seuil de positivité dans le premier prélèvement et positif à la dilution définie comme seuil de positivité ou les suivantes dans le prélèvement suivant), soit en cas de multiplication du titre par quatre dans deux prélèvements consécutifs (11). En fonction de la situation épidémiologique de la leptospirose dans la zone où le test est réalisé : un titre de MAT égal ou supérieur à 100 est considéré comme le seuil de positivité en zone géographique à faible incidence mais devient 400 dans les zones de forte incidence.

L'interprétation de la sérologie est difficile, car le premier prélèvement est négatif une fois sur deux (2) et le test peut rester négatif en cas de traitement précoce par antibiotique. Un résultat négatif ne permet pas d'exclure l'étiologie leptospirosique et l'analyse doit être impérativement répétée 15 jours à 3 semaines plus tard.

Il n'existe pas d'antigène standardisé, ni au plan national ni au plan international pour la détection des anticorps contre les *Leptospires* (12).

Plusieurs tests sérologiques pour le diagnostic de la leptospirose existent (11) :

- 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 à lecture visuelle 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 sensibilisée (*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 à lecture visuelle sur bandelette sont présentés, car ils semblent être les seuls utilisés actuellement en France.

Le test MAT est la technique sérologique de référence pour la confirmation de la leptospirose (13). Le principe de cette technique consiste à incuber des dilutions sériées du sérum du patient avec différentes souches de leptospires. L'agglutination est visualisée au microscope à fond noir (14). La lecture est faite en estimant le pourcentage de leptospires libres donc non agglutinés (3). Le test est considéré comme positif pour une dilution donnée quand moins de 50 % de leptospires restent libres(13). Ce test n'a de valeur diagnostique qu'à partir du 8<sup>ème</sup> jour après le début

de la fièvre, délai nécessaire pour que les anticorps de classe IgM et IgG dirigés contre les structures lipopolysidiques de surface des leptospires soient détectables.

Les principaux avantages du test MAT sont :

- une spécificité diagnostique élevée,
- une méthode quantitative permettant de déterminer le titre en anticorps agglutinants,
- la possibilité d'identifier et de déterminer le sérovar ou au moins le sérotype de la souche infectieuse responsable de la formation de ces anticorps.

Les inconvénients de MAT :

- il s'agit d'une technique lourde qui nécessite l'utilisation d'une vingtaine de souches de référence, maintenues en cultures fraîches. 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 ou n'entrant pas dans le panel diagnostique (sous réserve qu'aucune coagglutinine n'existe),
- des variations des résultats (de détection des anticorps et de détermination du sérovar) entre les laboratoires sont fréquentes (2) du fait de l'utilisation de souches vivantes dont la dérive antigénique est inhérente aux conditions de culture dans chaque laboratoire,
- il requiert une expérience importante pour la lecture des analyses et l'interprétation des résultats,
- la présence d'anticorps pour plusieurs sérotypes est fréquente (coagglutinines) en début de maladie, et seul un sérum tardif permet de préciser le sérotype en cause.

Pour le test ELISA en France une préparation antigénique de *L. biflexa* souche *Patoc* (saprophyte) réagissant avec plusieurs leptospires responsables de pathologies humaines (3) est employée. La mise en évidence des anticorps fixés sur ce complexe antigénique se fait avec un anticorps anti-immunoglobulines humaines couplé à la peroxydase. Les techniques identifiées dans la littérature (et commercialisées) détectent toutes des anticorps IgM antileptospira. Le titre-seuil de positivité est fixé à 400. La positivité de l'ELISA serait un peu plus précoce que celle du MAT (6-8<sup>ème</sup> jour).

L'ELISA présente plusieurs avantages :

- ce test est plus facile à utiliser et accessible à tout laboratoire ;
- le test 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 ;

L'ELISA présente cependant quelques inconvénients :

- 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 sérotype *Grippotyphosa* (représentant 19 % des cas en France métropolitaine en 1996) ou *Australis* (14) ;

- la composition antigénique ne serait pas précisée et pourrait différer d'un producteur à un autre ;

- les IgM peuvent persister dans la circulation pendant plusieurs mois après la guérison et donc leur seule présence ne signifie pas toujours une infection récente.

Des nouvelles modalités d'ELISA, utilisant notamment des protéines recombinantes ont été développées (15).

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 (3). L'antigène TR est préparé à partir de la souche saprophyte *Patoc* ou avec la suspension de divers sérovars et réagit avec plusieurs germes responsables de leptospirose humaine (3). Le test TR n'est donc pas spécifique de sérovar. Il détecte des anticorps totaux, à partir de la deuxième semaine de la maladie. A noter que ce test peine à détecter les sérogroupes *Grippotyphosa*, *Australis*, *Ballum* et *Panama* (12).

Les tests unitaires à lecture visuelle sur bandelette. Seuls existent actuellement des tests unitaires sérologiques à lecture visuelle. Le principe général reste le même que l'ELISA, si ce n'est que le complexe antigénique est fixé sur une bandelette et non au fond d'une cupule. La fixation sur la bandelette d'un antigène de *L. biflexa* permet de capter les anticorps antileptospores présents dans le sérum des patients, mis 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 son utilisation possible au coup par coup. Il resterait en revanche d'un coût élevé qui limite sa diffusion. De plus, ses performances diagnostiques seraient moindres que celles de l'ELISA (14).

La notion de tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle ne doit pas être confondue avec la notion de tests facilement utilisables, puisque une formation spécifique du personnel est nécessaire. Ces tests peuvent entraîner par ailleurs facilement un non-respect des procédures opératoires qui peut influencer sur la qualité des résultats (16). L'Afssaps a émis en juillet 2009 une recommandation pour une utilisation plus sûre de ces tests.

### **III.2 Méthodes de détection directe**

Le prélèvement pour la détection des leptospores par les méthodes directes doit être réalisé avant toute antibiothérapie.

La mise en évidence des leptospores à l'examen direct est possible au microscope à fond noir dans le plasma ou le liquide céphalo-rachidien (LCR) durant les 7 à 10 premiers jours de la maladie et dans les urines durant les deuxième et troisième semaines à partir du début de la fièvre (3). La reconnaissance des leptospores est difficile, particulièrement quand elles sont présentes en petit nombre. Des artéfacts comme la présence d'amas de fibrine sont facilement pris pour les leptospores.

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



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 13 semaines. Cela limite son intérêt pour le clinicien. Aucun milieu de culture sélectif ou électif n'ayant été développé, l'isolement des leptospires est réservé aux laboratoires spécialisés (13).

La culture est très peu utilisée en pratique.

Parmi les méthodes de biologie moléculaire avec amplification, deux sont décrites pour le diagnostic de la leptospirose humaine : la PCR et la PCR en temps réel. Les techniques peuvent être effectuées sur un échantillon de sang dès le premier et jusqu'au dixième jour du début de la fièvre, puis dans le LCR ou dans les urines à partir de la deuxième semaine suivant le début de la fièvre (2).

La PCR (réaction de polymérisation en chaîne) est utilisée pour détecter l'ADN de leptospires dans les échantillons cliniques. Les amorces (*primers* en anglais - courts fragments d'ADN dont la séquence est spécifique des leptospires) sont ajoutées en combinaison avec une ADN polymérase thermostable, en présence de nucléotides et l'échantillon est soumis à plusieurs cycles de température assurant dénaturation et hybridation, permettant d'amplifier les fragments de l'ADN de leptospire s'il est présent (11). Les fragments d'ADN amplifiés sont facilement détectables par électrophorèse en gel de polyacrylamide ou d'agarose. De plus, en même temps ou ultérieurement, une hybridation est possible pour une détection par chromatographie, autoradiographie ou d'autres méthodes.

Certains gènes-cibles de l'amplification sont présents de manière universelle dans les bactéries, comme le gène codant pour l'unité 16S de rARN (17). D'autres gènes-cibles, comme le gène codant pour l'unité « b » de la gyrase (*gyrB*), pour des protéines de la famille des immunoglobulines protéines (lig 1 et 2), ou pour *lipL32/hap1*, une protéine de la membrane externe, sont présents uniquement chez les leptospires pathogènes (18).

Il n'existe pas de kit commercialisé pour le diagnostic de la leptospirose humaine par PCR malgré la validation clinique des techniques (11).

Dans le domaine vétérinaire cette technique est largement utilisée.

La durée du dosage est de 24 à 48 heures. La limite de la PCR sur le plan épidémiologique est l'impossibilité pour le moment d'obtenir l'identification du sérovar de la souche en cause (6).

La PCR en temps réel est une technique de PCR plus récente. Elle est basée sur la détection d'un signal fluorescent permettant de mesurer en continu la quantité d'ADN synthétisé au cours de la phase exponentielle d'amplification. La mesure de l'intensité de fluorescence détectée à chaque cycle d'amplification permet de réaliser une courbe de fluorescence et de déterminer le cycle de sortie (correspondant au cycle auquel la fluorescence est significativement supérieure au bruit de fond) pour les échantillons et une gamme étalon. La quantification s'effectue ensuite par comparaison à cette gamme étalon qui établit une relation linéaire entre le cycle de sortie et la quantité d'ADN initialement présente dans l'échantillon. Le marquage de l'ADN double brin est effectué par des colorants, comme le *SybrGreen*, par des enzymes marquées à la fluorescéine, comme dans la technique *Taqman* (5'exonucléase), ou par FRET (*fluorescent resonance energy transfer*) (17).

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 (11).

En Nouvelle-Calédonie, le test de PCR en temps réel est utilisé par l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie depuis 2005 (19). Parmi tous les cas confirmés de leptospirose en Nouvelle-Calédonie au premier semestre de 2008, 54 % l'ont été par PCR en temps réel (20).

La détermination du sérovar en cause (uniquement fournie par le MAT) n'est pas utile pour un patient donné, car elle ne change pas sa prise en charge et n'influence pas le choix d'antibiotique. Elle est nécessaire en revanche pour les études épidémiologiques et de santé publique (13).

Une synthèse des principales caractéristiques des tests de diagnostic biologique spécifiques de la leptospirose est présentée dans le tableau 1 :

**Tableau 1.** Principales caractéristiques des tests de diagnostic biologique spécifiques de la leptospirose humaine

	Support utilisé	Molécule détectée	Durée de réalisation	Positivation à partir du début de la fièvre
<b>Tests sérologiques</b>				
MAT*	Leptospires vivantes de souches les plus représentées localement	Ig <sup>†</sup> M et IgG anti leptospires		J <sup>‡</sup> 8
ELISA <sup>§</sup>	Antigène complexe de souche saprophyte <i>Patoc</i> ou mélange d'antigènes	IgM anti leptospires		J6
TR <sup>  </sup>	Antigène thermorésistant de la souche saprophyte <i>Patoc</i> ou la suspension de diverses sérovars de <i>Leptospira</i>	Immunoglobulines totales anti leptospires		Deuxième semaine
Tests unitaires	Antigène complexe de la souche saprophyte <i>L. biflexa</i> fixé sur une bandelette	IgM anti leptospires		Deuxième semaine
<b>Tests de détection directe</b>				
PCR <sup>¶</sup>	Amorces correspondant au genre <i>Leptospira</i> ou aux souches pathogènes	ADN bactérien	24-48 heures	J0
PCR « temps réel »	Primers correspondant au genre <i>Leptospira</i> ou aux souches pathogènes	ADN bactérien	2-3 heures	J0

\* - micro-agglutination test, † - immunoglobuline, ‡ - jour, § - *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, || - test de macro-agglutination avec antigène thermorésistant, ¶ - *polymerase chain reaction*

#### IV. CONDITIONS ACTUELLES DE LA 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 thermorésistant TR (code 1245) ;

2. en cas de test TR positif confirmation par la technique de référence la micro-agglutination MAT (code 1312).

Depuis octobre 2008 une procédure dérogatoire mise en place par la CNAMTS suite à la rupture de 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).

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 2).

**Tableau 2.** 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 <sup>‡</sup> 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, ‡ - pourcentages d'évolution 2008/2007

La nomenclature calédonienne identifie le MAT et la qPCR (PCR quantitative). Les résultats de l'activité du diagnostic biologique de leptospirose de l'Institut Pasteur en Nouvelle Calédonie (21) sont présentés dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Résultats de l'activité de diagnostic biologique de leptospirose du laboratoire de l'Institut Pasteur en Nouvelle Calédonie en 2006, 2007, 2008 et 2009

Année	2006	2007	2008	2009
Nombre d'échantillons testés	1196	1310	2823	4512
Nombre d'analyses réalisés	Sérologies MAT	1196	1277	2607
	Tests PCR*	322	252	674
	Total	1518	1518	3281
Patients testés positifs pour la leptospirose	99	110	210	214

\* le laboratoire utilise la technique de PCR en temps réel (technologie SYBR-Green I sur LightCycler LC 2.0, Roche Diagnostics)

## **V. IDENTIFICATION DANS LES NOMENCLATURES ETRANGERES**

La nomenclature australienne, belge, et québécoise ont été consultées en novembre 2010. Les actes du diagnostic biologique de la leptospirose n'ont pas été identifiés dans ces nomenclatures.

## METHODE D'EVALUATION

---

La méthode d'évaluation utilisée dans ce rapport par la HAS (cf. Annexe I) est fondée sur :

- l'analyse critique des données identifiées de la littérature scientifique ;
- la position argumentée d'un groupe de travail composé de professionnels de santé impliqués dans la prise en charge de leptospirose.

### I. RECHERCHE DOCUMENTAIRE

#### I.1 Bases automatisées de données bibliographiques

##### I.1.1 Liste des bases interrogées

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.

##### I.1.2 Stratégie d'interrogation des bases et résultats

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

Cette interrogation s'est faite en juin 2010. Une veille documentaire a été réalisée jusqu'en mai 2011.

Les termes de recherche étaient soit des termes issus d'un thésaurus (descripteurs du MESH pour Medline), soit des termes du titre ou du résumé (mots libres). Ils étaient combinés en autant d'étapes que nécessaire à l'aide des opérateurs booléens « ET », « OU » et « SAUF ». La recherche a porté sur les publications en langue anglaise, française, parues entre 2000 et juin 2010.

Le tableau 4 présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation et les résultats en matière de nombre de références obtenues.

Dans ce tableau 4, la dénomination indiquée du type de document correspond à celle fournie par les bases. Elle ne constitue pas le résultat de l'appréciation méthodologique, réalisée par la HAS lors de l'analyse critique - postérieure à la recherche documentaire - des documents concernés, ce qui explique la différence entre les résultats de ce tableau 4 et les résultats de l'analyse (cf. *infra*).

**Tableau 4.** Stratégie d'interrogation documentaire dans les bases Medline et résultats.

Type d'étude/sujet Termes utilisés	Période	Nombre de références
<b>Diagnostic de la leptospirose</b>		
<b>Diagnostic – Recommandations</b>	01/2000 – 05/2011	<b>4</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 3	leptospirosis/de OR leptospiros*/ti  (leptospirosis/diagnosis OR diagnosis)/de OR (diagnos* OR detect* OR test* OR screen*)/ti  (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 – 05/2011	<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 – 05/2011	<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 – 05/2011	<b>2</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6 ET Etape 3	(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	
<b>Tests diagnostiques – Méta-analyses et revues systématiques</b>	01/2000 – 05/2011	<b>0</b>
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6 ET Etape 4		
<b>Tests diagnostiques – Essais contrôlés</b>	01/2000 – 05/2011	<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 – 05/2011	<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 – 05/2011	<b>60</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 – 05/2011	<b>33</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 – 05/2011	<b>177</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 – 05/2011	<b>29</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		
de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract			

## I.2 Sites internet

Ont été recherchés ici les revues systématiques, les méta-analyses, les rapports d'évaluation de technologie de santé ou les recommandations de bonnes pratiques publiées par différents organismes (agence d'éducation, société savante, ministère de la santé).

### I.2.1 Liste des 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 sante 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*

### **I.3 Autres sources**

Les sources suivantes ont été consultées :

- bibliographie des documents déjà identifiés ;



- les professionnels de santé ;
- identification manuelle (documents non identifiés par la recherche automatisée).

Ces sources sont à l'origine des articles publiés aux dates antérieures à la période de recherche documentaire.

## **I.4 Études cliniques en cours**

### **I.4.1 Liste des sources consultées**

Les essais cliniques prévus, en cours ou non encore publiés ont été recherchés dans :

- la base internationale de données *metaRegister of Controlled Trials* (mRTC) ;
- onze registres d'essais cliniques :
  - *ISRCTN Register*,
  - *Action Medical Research*,
  - *King's College London*,
  - *Laxdale Ltd*,
  - *Medical Research Council*,
  - *NHS Trusts Clinical Trials Register*,
  - *National Health Service Research and Development Health Technology Assessment Programme* (HTA),
  - *National Health Service Research and Development Regional Programmes*,
  - *National Institutes of Health* (NIH) – *randomized trials records held on NIH* (ClinicalTrials.gov),
  - *The Wellcome Trust*,
  - *UK Clinical Trials Gateway*,
- la liste des programmes PHRC (programme hospitalier de recherche clinique) et STIC (programme de soutien aux innovations coûteuses) du ministère et de l'Institut National du Cancer (INCa).

### **I.4.2 Etudes en cours identifiées**

Une étude d'incidence de la leptospirose aux Antilles est menée par la Cire (Cellule de l'Institut de Veille Sanitaire en région) Antilles-Guyane. L'objectif secondaire de cette étude est d'apporter des arguments scientifiques fondés pour faciliter l'inscription des différents examens diagnostiques à la nomenclature en testant une stratégie de diagnostic biologique basée sur l'utilisation de la PCR en temps réel, de l'ELISA et du test MAT. La fin de l'étude est prévue pour novembre 2011.

## **II. SELECTION DES DOCUMENTS IDENTIFIES**

### **II.1 Première sélection des documents identifiés par la recherche bibliographique**

La recherche bibliographique présentée ci-dessus a permis d'identifier 469 documents.

Une analyse des résumés de ces documents a permis la réalisation d'une première sélection sur les critères d'inclusion suivants :

- documents généraux sur la leptospirose (histoire naturelle, diagnostic, prise en charge) ;
- études cliniques et des documents synthétiques traitant le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose humaine par techniques de biologie moléculaire avec amplification, ELISA, TR, tests unitaires (performance diagnostique, place dans la stratégie diagnostique, impact sur la prise en charge).

Les critères d'exclusion ont été :

- documents traitant de la recherche fondamentale d'amélioration des connaissances sur les leptospires, de l'élaboration des nouveaux tests, d'immunologie, vaccination, chimioprophylaxie de la leptospirose ;
- documents traitant des tests du diagnostic de la leptospirose animale ;
- documents traitant des manifestations cliniques de leptospirose, ses différentes formes cliniques.

A l'issue de cette première sélection, 104 documents ont été retenus.

## **II.2 Sélection des documents analysés dans ce rapport**

Une analyse des documents en intégralité a été réalisée selon les critères de sélection.

### **II.2.1 Critères de sélection**

Les critères d'exclusion pour les techniques sérologiques (ELISA, macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant et des tests unitaires à lecture visuelle) ont été :

- études ayant inclus moins de 30 patients au total (témoins inclus) ;
- études ne permettant pas d'obtenir les performances diagnostiques (sensibilité et spécificité) des tests diagnostiques considérés ;
- études où le test de référence a été autre que le test MAT ou la culture ;
- définition de positivité (ou le titre de positivité en fonction de la zone d'endémie) du test de référence ne correspondant pas à la définition de l'OMS.

Compte tenu du faible nombre des études identifiées sur la technique de détection directe de l'ADN des leptospires par biologie moléculaire avec amplification, les critères de la deuxième sélection cités ci-dessus n'ont pas été appliqués à cette technique.

### **II.2.2 Résultats**

Répondant à ces critères, les trente-sept documents suivants ont été retenus pour l'analyse :

- 1 recommandation sur la stratégie diagnostique chez les patients présentant de la fièvre au retour de voyage, 1 recommandation sur la stratégie diagnostique de la leptospirose,
- 11 études traitant du test ELISA (mettant en évidence les anticorps IgM) pour le diagnostic de la leptospirose,
- 4 études traitant du test de macro-agglutination avec antigène thermorésistant pour le diagnostic de la leptospirose,

- 7 études traitant des tests unitaires à lecture visuelle pour le diagnostic de la leptospirose,
- 13 études traitant des techniques de biologie moléculaire avec amplification pour la détection de l'ADN des leptospires.

### III. GROUPE DE TRAVAIL

#### III.1 Constitution

Les organismes suivants ont été sollicités pour participer à cette évaluation :

Disciplines	Organismes
<b>Pathologie infectieuse et tropicale</b>	Société de Pathologies Infectieuses de Langue Française Société de Pathologie Exotique Collège des Universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales
<b>Médecine générale</b>	Société Française de Médecine Générale
<b>Biologie médicale</b>	Société Française de Biologie Clinique Société Française d'Immunologie
<b>Santé publique</b>	Société Française de Santé Publique
<b>Microbiologie</b>	Société Française de Microbiologie Société Française de Parasitologie

Des professionnels de la santé ont été identifiés également pour leurs compétences et l'intérêt de leurs travaux sur le sujet.

#### III.2 Composition

Le groupe de travail a été consulté en février-avril 2011.

Parmi 15 experts ayant accepté de participer au groupe de travail à distance, deux biologiste et un médecin infectiologue) n'ont pas fourni de réponse au questionnaire adressé malgré de nombreuses relances.

Les membres ayant fait parvenir les réponses au questionnaire sont :

- Pr Geneviève ANDRE-FONTAINE, Ecole Vétérinaire de Nantes, Unité de Pathologie Infectieuse, Laboratoire des leptospires, retraitée depuis septembre 2008 ;
- Dr Jean-Pierre ARZOUNI, Biologie médicale, Laboratoire d'Analyse de Biologie Médicale ARZOUNI, 13500 MARTIGUES ;
- Pr Muriel CORNET, Parasitologie, Mycologie, Institut de Biologie et de Pathologie-CHU de Grenoble, 38043 GRENOBLE ;
- Dr Félix DJOSSOU, Médecine Générale, Maladies Infectieuses et tropicales, Centre hospitalier de Cayenne, 97300 CAYENNE ;
- Dr Jean-François FAUCHER, Maladies Infectieuses et tropicales, CHU BESANÇON ;
- Dr Dominique FERRANDIZ, Médecine Interne, Centre Hospitalier Régional de la Réunion Bellepierre, 97405 Saint Denis cedex ;
- Dr Cyrille GOARANT, Responsable du Laboratoire de Recherche en Bactériologie, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, 98845 NOUMEA ;
- Pr Yves HANSMANN, Maladies Infectieuses, Nouvel Hôpital Civil Service des maladies infectieuses, 67091 STRASBOURG ;
- Dr Patrick HOCHEDÉZ, Infectiologue, Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU de Fort-de-France, 97261 Fort-de-France ;
- Dr Flore LACASSIN-BELLER, Médecine Interne, Maladies Infectieuses, CHT Nouméa, 98849 NOUVELLE CALEDONIE ;
- Dr Isabelle LAMAURY, Maladie Infectieuses et tropicales, Dermatologie, Médecine Interne, CHU de Pointe à Pitre/Abymes, 97159 GUADELOUPE ;
- Dr Florence MICHARD-MEZA, Médecine Générale, Maladies Infectieuses, SMIT CHU Bichat, PARIS, CMS de Sevrans, SEINE-SAINT-DENIS ;
- Pr Christophe STRADY, Maladies Infectieuses, CHU de Reims, Service de Médecine interne et Infectiologie, 51092 REIMS.

### **III.3 Déclaration d'intérêts**

L'ensemble des membres du groupe de travail a rempli une déclaration publique d'intérêts ; ces déclarations sont présentes sur le site internet de la HAS. Après analyse de ces déclarations selon le Guide des déclarations d'intérêts et de gestion des conflits d'intérêts de la HAS (guide disponible sur le site de la HAS) de mars 2010, celle-ci a estimé qu'aucun des membres du groupe de travail n'a déclaré de conflit d'intérêt majeur en rapport avec le sujet traité.

### **III.4 Recueil de la position argumentée du groupe de travail à distance**

Pour le présent rapport la position du groupe de travail a été consultée à distance compte tenu de la spécificité de l'épidémiologie de la maladie avec les experts situés en majorité en outre-mer.

Un questionnaire a été élaboré avec des affirmations destinées à la cotation et des questions ouvertes d'appréciation. Il est présenté dans son intégralité dans l'annexe II. Les règles de cotation ont été décrites dans le guide de la HAS (22).

Chaque membre du groupe de travail a reçu le rapport présentant l'analyse de la littérature et le questionnaire, pour lesquelles il a exprimé son appréciation ainsi que le cas échéant une cotation. L'objet de cette cotation d'une partie des questions est

de définir le degré d'accord des professionnels consultés sur les éléments analysés et non d'aboutir à un consensus. Pour cette raison, un seul tour de cotation a été réalisé.

Chaque affirmation est ainsi cotée de 1 à 9 :

- la valeur 1 signifie que le lecteur considère l'affirmation comme totalement inappropriée ;
- la valeur 9 signifie que le lecteur considère l'affirmation comme totalement appropriée ;
- la valeur 5 correspondant à l'indécision du lecteur ;
- les valeurs 2 à 8 traduisent les situations intermédiaires possibles.

Les règles d'analyse des réponses ont été préétablies. Pour chaque affirmation, la médiane et la répartition des réponses ont été définies. Lorsque toutes les réponses intéressaient un même intervalle (1-3, 4-6 ou 7-9), il était considéré qu'il existait un accord fort entre les relecteurs. Si l'intervalle des réponses empiète sur une borne (ex. : 1 à 4 ou 5 à 8), il existe un accord qualifié de « relatif » entre les membres du groupe de travail. En cas d'étalement des réponses sur l'ensemble des 3 zones ou de réponses comprises dans les 2 zones extrêmes [1 à 3] et [7 à 9], il existe un désaccord entre les membres du groupe de travail.

En cas d'accord fort ou relatif, le positionnement du groupe de travail était alors défini selon la médiane des cotations : 7-9 (affirmation validée), 4-6 (incertitude), 1-3 (rejet de l'affirmation).

Les membres du groupe de travail ont été consultés sur les questions suivantes :

- performances diagnostiques des tests de diagnostic biologique de la leptospirose et leurs conditions de réalisation ;
- stratégie diagnostique de la leptospirose en pratique clinique courante.

La synthèse de la position du groupe de travail est rédigée par la HAS et envoyé aux membres du groupe pour validation.

Ce compte rendu a été validé par l'ensemble des membres du groupe de travail. L'ensemble des membres du groupe de travail a par ailleurs accepté que leur nom figure dans ce rapport.

## RESULTATS DE L'EVALUATION

---

### I. ANALYSE DE LA LITTERATURE : PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DES TECHNIQUES SEROLOGIQUES

#### I.1 ELISA (IgM) pour le diagnostic de la leptospirose

##### I.1.1 Présentation des documents analysés

###### *I.1.1.1 Type d'étude*

Onze articles présentant des études traitant de la performance de la technique ELISA IgM dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés (17,23-32).

Il n'y a pas d'études identifiées traitant de la performance de la technique ELISA IgG dans le diagnostic biologique de la leptospirose.

Toutes ces études sont des séries de cas qui avaient pour l'objectif d'évaluer l'efficacité du test ELISA en termes de sensibilité et spécificité.

Deux d'entre elles étaient prospectives, avec inclusion de patients consécutifs (29,31), une était prospective (30), une était rétrospective avec sélection randomisée des patients étudiés (26), une était rétrospective (23) et six ne comportaient pas de précision sur le type d'étude (17,24,27-29,32).

###### *I.1.1.2 Type de test étudié*

Une étude (23) porte sur le test commercialisé par la société Sérion (IgM ELISA, Sérion classic), 6 études (17,24,27,28,30,32) portent sur le test commercialisé par la société PanBio (IgM ELISA PanBio, Sinnamon Park), 4 études (25,26,29,31) portent sur différents tests ELISA IgM non commercialisés, dits tests « maison ».

###### *I.1.1.3 Population étudiée*

La population étudiée dans tous les articles analysés était constituée de patients suspects de leptospirose mais dont les symptômes n'ont pas été précisés dans 8 des 11 articles (17,23-28,32).

###### *I.1.1.4 Localisation géographique de recrutement des patients*

Le recrutement des patients a été effectué en France (23), en Australie (17,32), au Brésil (24,25), en Thaïlande (26), en Italie (27), en Thaïlande et aux Etats-Unis (28), en Inde (29), aux Barbades (30), aux Seychelles (31).

###### *I.1.1.5 Test de référence utilisé*

Dans 5 études (23,24,26,27,31) le test de référence a été le test MAT, dans une étude (17) le test de référence a été l'hémoculture et dans 5 études (25,28-30,32) le test de référence a été le test MAT ou l'hémoculture sans précision sur les raisons de choix de l'un ou de l'autre en fonction du délais à partir du début de la maladie. Quatre études analysées (25,28-30) n'ont pas mentionné les sérogroupes positifs en MAT.

Les onze études traitant de la performance de la technique ELISA IgM dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose sont présentées dans le tableau 5.

### I.1.2 Limites méthodologiques

Les études analysées comportent les limites méthodologiques suivantes :

- le manque de précision sur les symptômes et les formes cliniques des patients inclus ne permet pas d'exclure le biais de spectre ;
- l'inclusion des patients n'est ni consécutive ni au hasard dans 8 études sur 11 ;
- l'hétérogénéité des groupes « contrôles », ayant inclus des patients atteints d'autres maladies infectieuses, des patients suspectés de leptospirose non confirmés ou des individus en bonnes santé ;
- le choix du test de référence est inapproprié dans certaines études. Notamment, le choix de MAT comme test de référence pour les prélèvements avant 8 jours de maladie<sup>1</sup> (25,28-31) ou le choix de l'hémoculture comme test de référence en cas de prélèvement au-delà de 10 jours de maladie<sup>2</sup> (25,28-30,32).

Il est aussi à noter que l'interprétation du test ELISA n'a pas été effectuée à l'aveugle du résultat du test de référence et que l'existence dans certaines études de paire de sérum de même patient réduit la population réelle des patients atteints de leptospirose.

Onze articles traitant de la performance de la technique IgM ELISA dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés. Ils ont inclus au total 2665 dosages.

Les études analysées sont des séries de cas et se caractérisent pas une hétérogénéité tant sur le plan :

- du type d'étude (prospective avec inclusion de patients consécutifs, prospective, rétrospective avec sélection randomisée des patients, rétrospective),
- du test étudié (tests commercialisés par les sociétés Sérion et PanBio ou les tests « maison »),
- du lieu géographique de recrutement des patients (France, Australie, Brésil, Thaïlande, Italie, Barbades, Seychelles),
- que sur le test de référence utilisé (MAT seul, hémoculture seule ou MAT ou hémoculture).

Elles présentent des limites méthodologiques.

---

<sup>1</sup> Le test MAT ne détecte des anticorps circulants qu'à partir du 8<sup>ème</sup> jour de la maladie.

<sup>2</sup> La bactérie est présente dans le sang jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour de la maladie.

**Tableau 5.** Etudes portant sur les tests ELISA pour le diagnostic biologique de la leptospirose

1 <sup>er</sup> Auteur, année, type d'étude, pays	Test	Description de la population patient, contrôle	Test de référence et les principaux sérovars détectés
Trombert-Paolantoni <i>et al.</i> , 2009 (23), rétrospective, NR* France	Sérion ELISA <sup>S</sup> classic, Ig <sup>T</sup> M, microplaque	<u>Patients</u> : 30 sérums de patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 98 sérums de patients atteints de borréliose, hépatite A, syphilis, grippe	MAT <sup>+</sup> , Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Australis, Tarassovi, Canicola, Sejroe, Patoc, Cynopteri
Slack <i>et al.</i> , 2007 (17), NR, Australie	IgM ELISA (PanBio, Sinnamon Park, Australie)	<u>Patients</u> : 24 sérums de patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 207 sérums de patients suspectés de leptospirose, non confirmés	Hémoculture
Ooteman <i>et al.</i> , 2006 (24), NR, Brésil	IgM ELISA (PanBio, Sinnamon Park, Australie)	<u>Patients</u> : 47 patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 45 patients suspectés de leptospirose, non confirmés	MAT, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae
de Abreu Fonseca <i>et al.</i> , 2006 (25), prospective, NR, Brésil	IgM ELISA "maison", utilisant une suspension de 5 sérovars de <i>L. interrogans</i> (Icterohaemorrhagiae, Canicola, Hebdomadis, Brasiliensis, Cynopteri)	<u>Patients</u> : 60 patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 64 patients atteints d'autres maladies fébriles ou individus en bonne santé	MAT ou hémoculture, sérogroupes NR
Tansuphasiri <i>et al.</i> , 2005 (26), rétrospective, sélection randomisée des cas, NR, Thaïlande	IgM ELISA microplaque, "maison", mélange d'antigènes Bratislava, Sejroe, Pyrogenes	<u>Patients</u> : 96 patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 192 sujets sains des régions endémiques et non endémiques et 55 patients atteints d'autres maladies (syphilis, fièvre hémorragique, hépatite B et C)	MAT, Bratislava, Sejroe, Pyrogenes, Balico, Bangkoki, Hebdomadis



Vitale, 2004 (27), NR, Italie	IgM ELISA (PanBio, Sinnamon Park, Australie)	<u>Patients</u> : 19 sérums de patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 23 sérums de donneurs de sang, 29 sérums des patients atteints d'autres pathologies infectieuses	MAT, Bianchi, Wijnberg, Riccio2, Alarik, Ballico, Hebdomadis, Castellon
Bajani, 2003 (28), NR, Thaïlande, Etats-Unis	IgM ELISA (PanBio, Sinnamon Park, Australie)	<u>Patients</u> : 276 sérums (dont 148 en phase aiguë et 128 en phase de convalescence) de 133 patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 642 sérums (dont 133 de donneurs sains et 509 de malades avec d'autres pathologies infectieuses ou auto-immunes)	MAT ou hémoculture, sérogroupes NR
Vijayachari <i>et al.</i> , 2002 (29), prospective, consécutives, Inde	IgM ELISA sur plaque "maison", souche <i>Wijnberg</i> , sérovar Copenhageni, séro-groupe Icterohaemorrhagiae	<u>Patients</u> : 74 patients atteints de leptospirose (début brutal, fièvre, myalgie, ictère, hépatomégalie, insuffisance rénale aiguë), <u>Contrôles</u> : 50 patients suspectés de leptospirose, non confirmés	MAT ou hémoculture, sérogroupes NR
Levett et Branch 2002 (30), prospective, NR, Barbados	IgM ELISA (PanBio, Sinnamon Park, Australie)	<u>Patients</u> : 48 patients hospitalisés pour leptospirose (fièvre, ictère, anorexie, céphalées, myalgies, douleurs abdominales), <u>Contrôles</u> : 55 patients suspectés de leptospirose, non confirmés	MAT ou hémoculture, sérogroupes NR
Yersin <i>et al.</i> , 1999 (31), prospective, consécutives, Seychelles	IgM ELISA « maison », antigène de la souche <i>Wijnberg</i>	<u>Patients</u> : 74 patients atteints de leptospirose (fièvre, myalgies, ictère, hépatomégalie, insuffisance rénale aiguë), <u>Contrôles</u> : 124 individus sélectionnés au hasard, appariés pour l'âge, le sexe et les occupations	MAT, Icterohaemorrhagiae, Hurstbridge, Djasiman, Autumnalis
Winslow <i>et al.</i> , 1997 (32), non aveugle, NR, Australie	IgM ELISA (PanBio, Sinnamon Park, Australie)	<u>Patients</u> : 117 sérums de 41 patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 59 sérums d'individus sains et 233 malades atteints d'autres maladies (brucellose, chlamydie, toxoplasmose, hépatite B)	MAT ou hémoculture, Hardjo, Pomona, Copengageni, Australis

\* – non renseigné, † – immunoglobuline, ‡ – micro-agglutination test, § – *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*

I.1.3 Présentation et analyse critique des résultats

La synthèse des résultats des études sur les performances du test ELISA à diagnostiquer la leptospirose est présentée dans le tableau 6.

**Tableau 6.** Synthèse des résultats des études portant sur le test ELISA

1 <sup>er</sup> Auteur, année, pays	Test	Moment du dosage	SE <sup>†</sup> (IC <sup>§</sup> )	SP <sup>  </sup> (IC)
<b>Tests commercialisés</b>				
Trombert-Paolantoni <i>et al.</i> , 2009 (23), France	Ig <sup>†</sup> M ELISA*, Sérion classic	NR <sup>†</sup>	90 % (N <sup>**</sup> = 30)	82 % (Nc <sup>††</sup> = 98)
Slack <i>et al.</i> , 2007 (17) Australie	IgM ELISA, PanBio	Phase aiguë, sans plus de précision,	4,2 % (0,1-21,1), (N = 24)	87,0 % (81,6-91,2), (Nc = 207)
Ooteman <i>et al.</i> , 2006 (24), Brésil	IgM ELISA, PanBio	NR	93,6 % (N = 47)	93,3 % (Nc = 45)
Vitale <i>et al.</i> , 2004 (27), Italie	IgM ELISA, Panbio	10 à 30 jours à partir du début des symptômes	100 % (N = 19)	94,2 % (Nc = 52)
Bajani <i>et al.</i> , 2003 (28), Thaïlande, Etats-Unis	IgM ELISA, Panbio	<u>Phase aiguë</u> - 0-14 jours, <u>phase de convalescence</u> - 15 jours ou plus à partir du début de la maladie	48,7 % (40,4-57,0), (N = 148) 75,0 % (66,6-82,2) (N = 128)	97,0 % (95,4-98,2), (Nc = 642)
Levett et Branch, 2002 (30), Barbados	IgM ELISA Panbio	En moyenne 4,8 jours après le début de la fièvre	97,48 % (N = 48)	96,40 % (Nc = 55)
Winslow <i>et al.</i> , 1997 (32), Australie	IgM ELISA Panbio	NR	100 % (N = 41)	93,10 % (Nc = 292)
<b>Tests non commercialisés</b>				
de Abreu Fonseca <i>et al.</i> , 2006 (25), Brésil	IgM ELISA « maison »	<u>Première</u> période - J3-J8 ; <u>deuxième</u> - J9-J14 et <u>troisième</u> - au-delà de J14 après le début de la maladie	79,3 % (NR) ; 100,0 % (NR) ; 88,8 % (NR) (N total 60)	89,1 % (Nc = 64)
Tansuphasiri <i>et al.</i> , 2005 (26), Thaïlande	IgM ELISA « maison »	La médiane est de 7 jours après le début de la fièvre (de 3 à 14 jours)	87,50 % (N = 96)	97,57 % (Nc = 247)

Vijayachari <i>et al.</i> , 2002 (29), Inde	IgM ELISA « maison »	Premier prélèvement - jusqu'à 7 jours après le début de la fièvre, <u>deuxième</u> - après 7 jours	48,6 %(37,0- 60,5) ;	78,0 %(63,7-88,0) ;  84,0 %(70,3-92,4) (Nc = 50)
			89,1 %(77,1-95,5) (N total = 74)	
Yersin <i>et al.</i> , 1999 (31), Seychelles	IgM ELISA « maison »	J3-J9 (NR) J20-J59 (NR)	36,49 % ; 75,68 % (N total = 74)	96,77 % (Nc = 124)

Note de bas de tableau : \* - *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, † - immunoglobuline, ‡ - sensibilité, § - intervalle de confiance 95 %, || - spécificité, ¶ - non renseigné, \*\* - nombre de dosages chez les patients atteints de leptospirose, †† - nombre de dosages dans le groupe contrôle

### 1.1.3.1 Sensibilité

La sensibilité des différents Kits IgM ELISA pour diagnostiquer la leptospirose est très hétérogène entre les études et varie de 4,2 à 100 %.

Une grande part de la variabilité observée pour un Kit donné peut s'expliquer par le moment auquel a été réalisé le prélèvement. En effet, la méthode ELISA est une technique sérologique permettant de détecter des anticorps de type IgM, il est donc attendu que cette technique contribue au diagnostic de la leptospirose après l'apparition des anticorps circulants, habituellement détectables à partir du 6<sup>ème</sup> jour du début de la maladie.

Or, dans cinq séries, le dosage a été réalisé de 0 à 6 jours du début de la maladie (17,25,28,29,31) ; dans ces études, la sensibilité varie de 4,2 à 79,3 %. En revanche, dans les cinq séries où le dosage a été réalisé plus de 7 jours après le début de la maladie (25,27-29,31), la sensibilité varie de 75,0 à 100 %.

Donc, la sensibilité de cette technique semble meilleure lorsqu'elle est réalisée après 7 jours de maladie. Cependant, les informations disponibles dans les études analysées n'ont pas permis d'expliquer l'intervalle de variation de la sensibilité, qui reste important.

### 1.1.3.2 Spécificité

La spécificité de ce test est un peu moins hétérogène et est du même ordre que la sensibilité : de 78 à 97,57 % dans les études analysées.

### 1.1.3.3 Influence de la zone géographique

Les études analysées ont été menées dans des pays différents, avec des situations épidémiologiques différentes concernant la leptospirose : pays à leptospirose endémique, Australie, Brésil, Thaïlande, Inde, Barbades, Seychelles, pays non endémiques, comme l'Italie et pays comportant des zones endémiques de leptospirose et des zones non endémiques, comme la France.

Comme les IgM persistent dans la circulation sanguine pendant quelques mois après la leptospirose le choix de l'étude sur la performance du test sérologique dans une zone endémique peut mener à une surestimation de la sensibilité et une sous-estimation de la spécificité de la technique considérée.

Les tests ELISA ont montré une sensibilité et une spécificité élevées (100,0 % et 93,10 % respectivement) dans un pays non endémique de leptospirose, comme l'Italie (27) où ce biais d'estimation est évité.

L'étude effectuée en France (23) (qui comporte des zones endémiques et non endémiques) a montré une sensibilité de 90 % et une spécificité de 82 %.

Dans l'étude d'Ooteman *et al.* (24), menée au Brésil, pays endémique de leptospirose (comme toutes les autres études analysées), la sensibilité est de 93,6 % et la spécificité de 93,3 %.

Les valeurs de la sensibilité et de la spécificité ne semblent donc pas être dépendantes de la situation épidémique du pays où le test a été réalisé. Il est à noter toutefois le faible nombre d'études réalisées en zone non endémique.

#### *1.1.3.4 Influence du kit de dosage sur la valeur de la sensibilité en cas de dosage après le 7<sup>ème</sup> jour de la maladie*

Une étude (ayant inclus 128 patients) a utilisé le kit commercialisé par la société Sérion (23). La sensibilité a été de 90 % (le moment du dosage n'a pas été indiqué).

Six études (ayant inclus 1748 patients) ont utilisé le kit commercialisé par la société PanBio (17,24,27,28,30,32). La sensibilité dans les séries où le dosage a été réalisé après 7 jours de maladie varie de 75 à 100 %.

Quatre études (ayant inclus 789 patients) ont utilisé des tests « maison » (25,26,29,31). La sensibilité dans ces séries pour des dosages après 7 jours de maladie varie de 75,7 à 100 %.

Les valeurs de sensibilité sont équivalentes et aussi variables avec le test commercialisé par PanBio qu'avec les tests « maison » étudiés (de 75 à 100 %), six études avec 1748 patients et quatre études avec 789 patients respectivement. La valeur de la sensibilité est de 90 % avec le test de Sérion, mais une seule étude avec 128 patients est disponible pour ce test. Il ne semble pas d'exister de différence notable en fonction du kit étudié.

#### 1.1.4 Conclusion

La sensibilité des différents dosages des IgM par la méthode ELISA pour le diagnostic de la leptospirose est extrêmement variable dans les onze études sélectionnées (de 4,2 à 100 %) mais si on se limite aux études avec un dosage réalisé après 7 jours de maladie, la sensibilité est comprise entre 75,0 et 100 %. (versus de 4,2 à 79,3 % pour les études avec un dosage réalisé avant le 7<sup>ème</sup> jour).

La spécificité de ce dosage est moins variable et se situe entre 78 et 98 %.

Les valeurs de sensibilité et de spécificité ne semblent pas être très différentes ni en fonction du pays où le test a été réalisé ni en fonction du kit utilisé pour le dosage.

## **I.2 Macro-agglutination avec antigène thermorésistant (TR) pour le diagnostic de la leptospirose**

### I.2.1 Présentation des documents analysés

#### *I.2.1.1 Type d'étude*

Quatre articles présentant des études traitant de la performance de la technique de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés (25,33-35).

Toutes ces études sont des séries de cas qui avaient pour l'objectif d'évaluer l'efficacité de la macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant en termes de sensibilité et de spécificité.

Une d'entre elles était prospective, avec inclusion de patients consécutifs (33), deux étaient prospectives (25,35) et une était rétrospective (34).

#### *I.2.1.2 Type de test étudié*

Deux études (25,35) portent sur le test commercialisé par la société *BioManguinhos Institute* (FIOCRUZ), une étude porte sur le test commercialisé par la société PanBio (34) et une étude porte sur un test non commercialisé, dit test « maison », élaboré par le CNR de Leptospire (33) en France.

#### *I.2.1.3 Population étudiée*

La population étudiée dans tous les articles analysés est constituée de patients suspects de leptospirose, mais les symptômes présentés par les patients n'ont été précisés dans aucun des ces articles.

#### *I.2.1.4 Localisation géographique de recrutement des patients*

Le recrutement des patients a été effectué en zone endémique de leptospirose en France (34), en zones endémiques et non endémiques en France (33), et au Brésil (25,35).

#### *I.2.1.5 Test de référence utilisé*

Dans 3 études (33-35) le test de référence a été le test MAT, dans une étude (25) le test de référence a été le test MAT ou l'hémoculture sans précision sur les raisons de choix de l'un ou de l'autre en fonction du délais à partir du début de la maladie. Deux études analysées (25,33) n'ont pas mentionné les sérogroupes positifs en MAT.

Les études traitant de la performance de la technique de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose sont présentées dans le tableau 7.

**Tableau 7.** Etudes sur le diagnostic de la leptospirose par le test sérologique de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant

1 <sup>er</sup> Auteur, année, type d'étude, pays	Test	Description de la population patient, contrôle	Test de référence et les principaux sérovars détectés
Picardeau, 2008 (33), prospective, consécutive, France	Test « maison » du CNRL <sup>†</sup> , utilisant l'antigène TR <sup>§</sup> de la souche Patoc	<u>Patients</u> : 177 sérums de patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 2090 sérums de patients suspectés de leptospirose, non confirmés	MAT <sup>‡</sup> , sérovars NR
de Abreu Fonseca, 2006 (25), prospective, NR, Brésil	<i>BioManguinhos Institute</i> (FIOCRUZ), test commercialisé	<u>Patients</u> : 60 patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 64 patients atteints d'autres maladies fébriles ou individus en bonne santé	MAT ou hémoculture, sérovars NR
Berlioz-Arthaud, 2002 (34), rétrospective, NR Nouvelle Calédonie, France	Test de PanBio, suspension chauffée de <i>L. biflexa Patoc</i> , test commercialisé	<u>Patients</u> : 20 sérums positifs en MAT, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 25 sérums positifs pour d'autres maladies (hépatite B, A, CMV <sup>  </sup> , toxoplasmose, syphilis, VIH, dengue, grippe)	MAT, Icterohaemorrhagiae, Australis, Canicola, Ballum, Semarang
Brandao <i>et al.</i> , 1998 (35), prospective, NR, Brésil	<i>BioManguinhos Institute</i> (FIOCRUZ), test commercialisé	<u>Patients</u> : 108 patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 145 individus sains et 100 patients atteints d'autres maladies (hépatites, dengue, leishmaniose, syphilis, paludisme)	MAT, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Grippotyphosa, Canicola, Sejroe, Australis, Bataviae

\* – non renseigné, † – Centre National de Référence des Leptospires, ‡ – micro-agglutination test, § – test de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant, || – cyto-mégalo-virus

### I.2.2 Limites méthodologiques

Les études analysées comportent des limites méthodologiques suivantes :

- le manque de précision sur les symptômes et les formes cliniques des patients inclus ne permet pas d'exclure le biais de spectre ;
- l'inclusion des patients n'est ni consécutive ni au hasard dans 3 études sur les 4 analysées ;
- l'hétérogénéité des groupes « contrôles », ayant inclus des patients atteints d'autres maladies infectieuses, des patients suspectés de leptospirose non confirmés ou des individus en bonne santé ;
- le choix du test de référence est inapproprié dans certaines études. Notamment, le choix du MAT comme test de référence pour les prélèvements avant 8 jours de maladie ou le choix de l'hémoculture comme test de référence en cas de dosage au-delà de 10 jours de maladie (25).

Il est aussi à noter que l'interprétation du test de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant n'a pas été effectuée à l'aveugle du résultat du test de référence et que l'existence dans certaines études de paire de sérum de même patient réduit la population réelle des patients atteints de leptospirose.

Quatre articles traitant de la performance de la technique de macro-agglutination avec antigène thermorésistant dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés. Elles ont inclus au total 2789 dosages.

Ces articles comportent des études de type série de cas. Deux d'entre elles ont été menées au Brésil et étudiaient le test de la société FIOCRUZ. Deux autres ont été menées en France (en zones endémiques et non endémiques) et étudiaient le test de la société PanBio et celui élaboré par le CNR des leptospires.

Trois sur quatre études étaient prospectives. Trois sur quatre études utilisaient comme test de référence le test MAT. Ces études présentent des limites méthodologiques.

A noter le faible nombre d'études identifiées (4 au total) par rapport au test IgM ELISA (11 études) et aux tests unitaires à lecture visuelle (7 études, cf. infra).

### I.2.3 Présentation et analyse critique des résultats

La synthèse des résultats des études sur les performances de la technique par macro-agglutination avec antigène thermorésistant pour diagnostiquer la leptospirose est présentée dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Synthèse des résultats portant sur le test diagnostique par macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant

1 <sup>er</sup> Auteur, année, type d'étude, pays	Moment du dosage/nombre de cas	SE <sup>†</sup> (IC <sup>§</sup> )	SP <sup>‡</sup> (IC)
Picardeau, 2008 (33), France	NR*	63,28 % (N <sup>  </sup> = 177)	88,42 % (Nc <sup>¶</sup> = 2090)
de Abreu Fonseca <i>et al.</i> , 2006 (25), Brésil	Première période - J3-J8 ; deuxième - J9-J14 et troisième - au delà de J14 après le début de la maladie	J3-J8 72,4 % ; J9-J14 100,0 % ; >J14 77,7 % (N total 60)	96,90 % (Nc = 64)
Berlioz-Arthaud, 2002 (34), Nouvelle Calédonie, France	NR	45,00 % (N = 20)	84,00 % (Nc = 25)
Brandao <i>et al.</i> , 1998 (35), Brésil	Deux prélèvements, moment du dosage NR	I 93,5 % ; II 97,09 % (N= 108)	I 56,45 % ; II 60 % (Nc = 245)

\* – non renseigné, † - sensibilité, ‡ - spécificité, § - intervalle de confiance 95 %, || - nombre de dosages chez les patients atteints de leptospirose, ¶ - nombre de dosages dans le groupe de contrôle

La sensibilité de la technique de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant pour diagnostiquer la leptospirose est très hétérogène entre les études : de 45 à 100 %.

La spécificité de cette technique est également hétérogène : de 56,45 à 96,90 %.

La sensibilité semble meilleure dans deux études menées au Brésil (25,35) : 100 % et 97,09 % et ce dans la phase immune de la maladie, lors de la deuxième semaine à partir de son début. Ces études ont porté sur le même test commercialisé par la société FIOCRUZ. A noter la spécificité très basse de ce test dans l'étude de Brandao (56,45 à 60 %).

Deux autres études analysées ont été menées en France par Picardeau, 2008 (33) et Berlioz-Arthaud, 2002 (34). Les tests utilisés sont ceux utilisés en pratique courante en France. Les valeurs de sensibilité et de spécificité relevées sont basses de 45 à 63,28 % et de 84 à 88,42 % respectivement.

Donc, dans les études analysées le test TR n'a pas montré de valeurs élevées de sensibilité et de spécificité en même temps, mais seulement d'une d'entre elles à la fois.

L'analyse fine des résultats faux négatifs dans l'étude de Picardeau, 2008 (33) montre que la technique de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant ne détecte pas un grand nombre de sérogroupes, dont certains très répandus en France, comme *Grippityphosa* ou *Australis*. Le taux de faux négatifs est de 5 %. Les 175 faux négatifs correspondent aux sérums de 162 patients présentant un titre significatif d'anticorps contre des leptospires pathogènes et qui n'auraient pas été dépistés en l'absence de MAT systématique. Les sérogroupes non dépistés par macro-agglutination et identifiés avec la MAT sont *Icterohaemorrhagiae* [47], *Grippityphosa* [41], *Canicola* [8], *Sejroe*



[8], Pomona [7], Australis [7], Cynopteri [7], Sejroe [4], Panama [3], Hebdomadis [2], Ballum [1], Bataviae [1].

La non détection des sérogroupes répandus peut être préjudiciable pour les patients, car elle empêche la mise en route du traitement adapté.

#### 1.2.4 Conclusion

La sensibilité de la technique de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant pour le diagnostic de la leptospirose est variable de 45 à 100 % dans les 4 études analysées.

La spécificité de cette méthode est également hétérogène (de 56,5 à 96,9 %).

Aucune étude analysée ne montre de valeurs élevées de la sensibilité et de la spécificité à la fois.

Les tests pratiqués en France ont une sensibilité de 45 à 63,28 % et une spécificité de 84 à 88,42 % et présentent en plus, selon une étude de Picardeau, 2008 (33), des défauts de détection de sérovars répandus en France, comme Grippyphosa ou Australis.

### **1.3 Tests unitaires à lecture visuelle pour détecter des anticorps antileptospire dans le diagnostic de la leptospirose**

#### 1.3.1 Présentation des documents analysés

##### *1.3.1.1 Type d'étude*

Sept articles présentant des études traitant de la performance des tests unitaires à lecture visuelle dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés (26,28,29,31,34,36,37).

Toutes ces études sont des séries de cas qui avaient pour objectif d'évaluer l'efficacité des tests unitaires à lecture visuelle en termes de sensibilité et spécificité.

L'une de ces études était prospective, avec inclusion de patients consécutifs (31), 3 études étaient prospectives (29,36,37), une était rétrospective avec sélection randomisée des patients étudiés (26), une était rétrospective (34) et une ne comportait pas de précision sur le type d'étude (28).

##### *1.3.1.2 Type de test étudié*

Ces 7 études portent sur 8 tests unitaires à lecture visuelle différents, basés sur le principe de détection des anticorps contre les leptospire. Cinq études portent sur les tests commercialisés (28,29,34,36,37) et deux (26,31) portent sur les tests non commercialisés, dit tests « maison ».

### *1.3.1.3 Population étudiée*

La population étudiée dans tous les articles analysés était constituée de patients suspects de leptospirose, mais les symptômes présentés par les patients n'ont pas été précisés dans 4 articles (26,28,34,37).

### *1.3.1.4 Localisation géographique de recrutement des patients*

Le recrutement des patients a été effectué en Thaïlande (26,36), en Inde (29), en zone endémique en France (34), en Malaisie (37), aux Seychelles (31), en Thaïlande et aux Etats-Unis (28).

### *1.3.1.5 Test de référence utilisé*

Dans 5 études (26,31,34,36,37) le test de référence a été le test MAT, dans 2 études (28,29) le test de référence a été le test MAT ou l'hémoculture sans précision sur les raisons de choix de l'un ou de l'autre en fonction du délai à partir du début de la maladie. Quatre études analysées (28,29,36,37) n'ont pas mentionné les sérogroupes positifs en MAT.

Les études traitant de la performance des tests unitaires à lecture visuelle dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose sont présentées dans le tableau 9.

## 1.3.2 Limites méthodologiques

Les études analysées comportent des limites méthodologiques suivantes :

- le manque de précision sur les symptômes et les formes cliniques des patients inclus ne permet pas d'exclure le biais de spectre ;
- l'inclusion des patients n'est ni consécutive ni au hasard dans les 5 études sur 7 ;
- l'hétérogénéité des groupes « contrôles », ayant inclus des patients atteints d'autres maladies infectieuses, des patients suspects de leptospirose non confirmés ou des individus en bonne santé ;
- le choix du test de référence est inapproprié dans certaines situations de ces études. Notamment, le choix de MAT comme test de référence pour les prélèvements avant 8 jours de maladie (26,28,29,31,34,36,37) ou le choix de l'hémoculture comme test de référence en cas de prélèvement au-delà de 10 jours de maladie (28,29).

Il est aussi à noter que l'interprétation des tests unitaires à lecture visuelle n'a pas été effectuée à l'aveugle du résultat du test de référence et que l'existence dans certaines études de paire de sérum de même patient réduit la population réelle des patients atteints de leptospirose.

Sept articles traitant de la performance des tests unitaires à lecture visuelle dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés. Ils ont inclus au total 1831 dosages.

Ces études sont des séries de cas et se caractérisent par une hétérogénéité tant sur le plan :

- du type d'étude (prospective avec l'inclusion des patients consécutifs, prospective, rétrospective avec sélection randomisée des patients, rétrospective),
  - du test étudié (Dip-S-Ticks Multitest de Panbio, Dot-ELISA IgM « maison », Lepto Dri Dot test de Pays-Bas, Dip-S-Ticks de Integrated diagnostics, Dip-S-Ticks « maison »),
  - du lieu géographique de recrutement des patients (Thaïlande, Inde, France, Malaisie, Seychelles),
  - que sur le test de référence utilisé (MAT, MAT ou hémoculture).
- Elles présentent des limites méthodologiques.

**Tableau 9.** Etudes portant sur les tests unitaires à lecture visuelle pour le diagnostic de la leptospirose

1 <sup>er</sup> Auteur, année, type d'étude, pays	Test, Classe d'anticorps recherché	Description de la population cas, contrôle	Test de référence et les principaux sérovars détectés
Cohen <i>et al.</i> , 2007 (36), prospective, NR*, Thaïlande	Dip-S-Ticks Multi- Test, Panbio Ltd, Brisbane, Australie (Ig <sup>T</sup> M contre <i>L.interrogans</i> et <i>L.biflexa</i> )	<u>Patients</u> : 67 patients atteints de leptospirose, consultant pour fièvre, <u>Contrôles</u> : NR	MAT <sup>+</sup> , sérogroupes NR
Tansuphasiri <i>et al.</i> , 2005 (26), retrospective,, sélection randomisée des cas, Thaïlande	Dot-ELISA <sup>S</sup> "maison", IgM	<u>Patients</u> : 96 patients atteints de leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 192 sujets sains de régions endémiques et non endémiques, sans antécédents de leptospirose, et 55 patients avec d'autres maladies (syphilis, fièvre hémorragique, hépatite B et C)	MAT, Bratislava, Sejroe, Pyrogenes, Balico, Bangkoki, Hebdomadis
Vijayachari <i>et al.</i> , 2002 (29), prospective, NR, Inde	Lepto Dri Dot test, Pays-Bas, sérovar Hardjo du séro groupe Sejroe	<u>Patients</u> : 74 patients atteints de leptospirose (début brutal, fièvre, myalgies, ictère, hépatomégalie, insuffisance rénale aiguë), <u>Contrôles</u> : 50 patients suspectés de leptospirose, non confirmés	MAT ou hémoculture, sérogroupes NR
Berlioz-Arthaud, 2002 (34), Nouvelle Calédonie, France, retrospective, NR	Dip-S-Ticks IgM Leptospira, PanBio	<u>Patients</u> : 20 sérums positifs au MAT pour la leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 25 sérums positifs pour d'autres maladies (hépatite B, A, CMV, toxoplasmose, syphilis, VIH, Dengue, grippe)	MAT, Icterohaemorrhagiae, Australis, Canicola, Ballum, Semarang patoc
Sekhar <i>et al.</i> , 2000 (37), rétrospective, Malaisie	Dip-S-Ticks (Integrated diagnostics, Inc.) Ig totales contre <i>L. biflexa</i> souche Patoc	<u>Patients</u> : 104 sérums de patients hospitalisés pour leptospirose, symptômes NR, <u>Contrôles</u> : 32 sérums, dont 6 d'individus sains, 10 avec une hépatite virale, 4 avec la dengue, 12 avec une fièvre d'origine inconnue	MAT, sérogroupes NR

Yersin <i>et al.</i> , 1999 (31), prospective, consécutives, Seychelles	Dip-S-Ticks immunoassay "maison", IgM, antigène de <i>L.biflexa</i>	<u>Patients</u> : 74 patients atteints de leptospirose (fièvre, myalgies, ictère, hépatomégalie, insuffisance rénale aiguë), <u>Contrôles</u> : 124 individus sélectionnés au hasard, appariés pour l'âge, le sexe et les occupations	MAT, Icterohaemorrhagiae, Hurstbridge, Djasiman, Autumnalis
Bajani <i>et al.</i> , 2003 (28), NR, Thaïlande, Etats-Unis	1. IgM Dip-S-Ticks immunoassay Royal Tropical Institute, Pays-Bas 2. Dot-ELISA Dip-S-Ticks test IgM, Integrated Diagnostics Inc.(Baltimore, Md.)	<u>Patients</u> : 276 sérums (dont 148 en phase aiguë et 128 en phase de convalescence) de 133 patients atteints de leptospirose, symptômes NR <u>Contrôles</u> : 642 sérums (dont 133 de donneurs sains et 509 de malades atteints d'autres pathologies infectieuses ou auto-immunes)	MAT ou hémoculture, sérogroupes NR

---

Note de bas de tableau : \* – non renseigné, † – immunoglobuline, ‡ – micro-agglutination test, § - *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*

## I.3.3 Présentation et analyse critique des résultats

La synthèse des résultats des études sur les performances des tests unitaires à lecture visuelle pour diagnostiquer la leptospirose est présentée dans le tableau 10.

**Tableau 10.** Synthèse des résultats pour les tests unitaires à lecture visuelle pour le diagnostic de la leptospirose

1 <sup>er</sup> Auteur, année, pays	Moment du prélèvement, nombre	SE <sup>‡</sup> (IC <sup>§</sup> )	SP <sup>  </sup> (IC)
<b>Tests commercialisés</b>			
Cohen <i>et al.</i> , 2007 (36), Thaïlande	<u>Premier</u> prélèvement - en moyenne 3,4 jours après le début de la fièvre, <u>deuxième</u> - en moyenne 25,5 jours après le début de la fièvre	22 % (13-34), 82 % (70-90) (N <sup>†</sup> total = 67)	88 % (85-90), 81 % (78-84) (Nc <sup>¶</sup> = NR)
Vijayachari <i>et al.</i> , 2002 (29), Inde	<u>Premier</u> prélèvement – jusqu'à 7 jours après le début de la fièvre, <u>deuxième</u> – au-delà de 7 jours	67,6 % (55,6-77,7) ; 85,5 % (72,8-93,1) (N = 74)	66,0 % (51,1-78,4) ; 80,0 % (65,9-89,5) (Nc = 50)
Berlioz-Arthaud, 2002 (34), Nouvelle Calédonie, France	NR*	80,00 % (N = 20)	100,00 % (Nc = 25)
Sekhar <i>et al.</i> , 2000 (37), Malaisie	Les sérums uniques - entre 3 et 14 jours à partir du début de la fièvre, les sérums appariés - lors de l'hospitalisation, sans autre précision	83,33 % (N = 104)	93,75 % (Nc = 32)
Bajani ( <u>test 1</u> ) <i>et al.</i> , 2003 (28), Thaïlande, Etats-Unis	<u>Phase aiguë</u> - 0-14 jours à partir du début de la maladie, <u>phase de convalescence</u> - 15 ou plus de jours à partir du début de la maladie	52,7 % (44,3-61,0), (N = 148), 83,0 % (76,0-89,6) (N = 128)	89,6 % (86,9-91,8) (Nc = 642)
Bajani ( <u>test 2</u> ) <i>et al.</i> , 2003 (28), Thaïlande, Etats-Unis	<u>Phase aiguë</u> - 0-14 jours à partir du début de la maladie, <u>phase de convalescence</u> - 15 jours ou plus à partir du début de la maladie	50,0 % (41,7-58,3), (N = 148), 84,4 % (76,9-90,2) (N = 128)	98,8 % (97,6-99,5) (Nc = 642)
<b>Tests « maison »</b>			
Tansuphasiri <i>et al.</i> , 2005 (26), Thaïlande	La médiane est de 7 jours après le début de la fièvre (de 3 à 14 jours)	98,96 % (N = 96)	93,93 % (Nc = 247)
Yersin <i>et al.</i> , 1999 (31), Seychelles	J3-J9 J20-J59	36,49 % ; 78,38 % (N total = 74)	95,16 % (Nc = 124)

Note de bas de tableau : \* - non renseigné, † - nombre de dosages chez les patients atteints de leptospirose, ‡ - sensibilité, § - intervalle de confiance 95 %, || - spécificité, ¶ - nombre de dosages dans le groupe de contrôle

#### 1.3.3.1 Sensibilité

La sensibilité des tests unitaires à lecture visuelle pour diagnostiquer la leptospirose est très hétérogène entre les études : de 22 à 98,8 %.

Les valeurs de la sensibilité apparaissent plus élevées dans la phase immune de la maladie, à partir de la deuxième semaine du début des symptômes, ce qui est attendu pour un test sérologique. Ainsi, elles varient de 22 à 67,6 % dans les 4 séries (26,29,31,36) où le dosage est précoce et de 78,4 à 85,5 % dans les 5 séries (28,29,31,36) où le prélèvement est tardif.

#### 1.3.3.2 Spécificité

La spécificité est un peu moins hétérogène que la sensibilité et varie de 66,0 à 100,0 %.

#### 1.3.3.3 Zone géographique de réalisation

Les études analysées ont été menées dans les pays endémiques pour la leptospirose, en particulier l'étude réalisée en Nouvelle Calédonie (34), où la sensibilité était de 80 % et la spécificité de 100 %, avec toutefois la limite du faible effectif (N total = 45).

La seule exception est l'étude de Bajani *et al.*, 2003 (28), où une partie des patients inclus résident aux Etats-Unis, sans précision sur la localité et donc sans indice sur la situation épidémiologique concernant la leptospirose.

En conséquence, il n'est pas possible d'extrapoler leurs résultats sur les régions non endémiques de leptospirose comme la France métropolitaine.

#### 1.3.3.4 Influence du kit de dosage

Les études analysées ont été effectuées avec des tests différents, commercialisés ou non. Il n'est pas possible, d'identifier l'influence du test sur les performances diagnostiques.

L'étude menée en France (34) a utilisé le test Dip-S-Ticks de société PanBio.

L'analyse des faux négatifs n'a été effectuée dans aucune étude considérée.

#### 1.3.4 Conclusion

La sensibilité des tests unitaires à lecture visuelle pour le diagnostic de la leptospirose est très variable (de 22 à 98,96 %) dans les 7 études analysées mais semble plus élevée lorsque ce dosage est réalisé dans la phase immune de la maladie (78,4 à 85,5 %).

La spécificité de ce dosage est hétérogène et varie de 66 à 100 %.

Les résultats sont valides pour les zones endémiques de leptospirose où toutes les études analysées ont été menées. Aucun résultat n'est disponible pour les zones non endémiques de leptospirose comme la France métropolitaine.

## **II. ANALYSE DE LA LITTÉRATURE : PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DES TESTS DE DETECTION DE L'ADN DES LEPTOSPIRES PAR BIOLOGIE MOLECULAIRE AVEC AMPLIFICATION**

### **II.1 Présentation des documents analysés concernant le test PCR**

#### *II.1.1.1 Type d'étude*

Neuf articles présentant des études traitant de la performance du test de détection de l'ADN de leptospires par PCR dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés (24,25,31,38-43).

Parmi ces études, 3 (38,39,43) sont des études d'élaboration d'un nouveau test avec détermination de sa sensibilité analytique et 6 (24,25,31,40-42) sont des études de modification et/ou d'évaluation d'un test existant sur des échantillons de patients atteints de leptospirose en termes de sensibilité et spécificité diagnostique.

Une d'entre elles était prospective, avec inclusion de patients consécutifs (31), deux étaient prospectives (25,38), 6 ne comportaient pas de précision sur le type d'étude (24,39-43).

#### *II.1.1.2 Type de test étudié*

Cinq études (31,38-40) (43) ont utilisé le test PCR avec comme cible un gène de l'ARN ribosomal 16S, une étude (24) a utilisé comme cible G1/G2, une étude (25) a utilisé comme cible G1/G2 avec LP1/LP2 et deux études (41,42) ont utilisé comme cible G1/G2 avec B64-I/B64-II.

Dans 5 études (24,25,31,38,39) l'échantillon biologique considéré était du sérum, dans une étude (42) de l'urine et dans 3 études (40,41,43) le sérum et l'urine ont été considérés.

#### *II.1.1.3 Population étudiée*

La population étudiée dans tous les articles analysés est constituée de patients suspectés de leptospirose, mais les symptômes présentés par les patients n'ont pas été précisés dans 6 études (24,25,39,41-43).

#### *II.1.1.4 Test de référence utilisé*

Dans 3 études (24,31,40) le test de référence était le test MAT, dans 1 étude (42) le test de référence était l'uroculture, dans 3 études (25,41,43) le test de référence était le test MAT ou l'hémoculture sans précision sur les raisons de choix de l'un ou de l'autre en fonction du début de la maladie et dans 2 études (38,39) le test de référence utilisé n'était pas indiqué.

#### *II.1.1.5 Méthodologie des études analysées*

A noter un faible niveau méthodologique des études retenues à la suite de l'absence d'autres études disponibles. En effet, plusieurs études analysées :

- sont de faible effectif (7 patients dans l'étude de Kositamont (39), 15 échantillons de 7 patients dans l'étude de Bal (42)) ;
- concernent un stade précoce d'élaboration des tests de PCR (38,39,43) ;
- avec comme seule donnée connue pour les échantillons leur statut sérologique pour la leptospirose (24,25,39,42) ;
- avec un moment de prélèvement non indiqué ou inadapté ;
- avec le choix comme test de référence du test MAT qui se positive au stade immun de la maladie, tandis que la bactérie ne circule plus dans le sang en l'absence d'adaptation du schéma de l'étude.



Les limites méthodologiques citées compromettent la validité des résultats de ces études.

Neuf articles traitant des performances analytiques et diagnostiques de tests PCR pour la détection de l'ADN de leptospires ont été sélectionnés et analysés. Les études présentées dans ces articles ont inclus au total 1087 dosages.

Les études analysées sont des séries de cas et se caractérisent par une hétérogénéité tant sur le plan :

- du type d'étude (prospective, avec inclusion de patients consécutifs),
- des cibles utilisées (le gène de l'ARN ribosomal 16S, G1/G2, G1/G2 avec LP1/LP2, G1/G2 avec B64-I/B64-II),
- de l'échantillon utilisé (sérum et/ou urine),
- que sur celui du test de référence utilisé (MAT, uroculture, MAT ou hémoculture).

Les études analysées présentent de nombreux biais méthodologiques qu'il faudra prendre en compte lors de l'interprétation de leurs résultats.

## **II.2 Présentation des documents analysés concernant le test PCR en temps réel**

### **II.2.1 Type d'étude**

Quatre articles présentant des études traitant de la performance du test de détection de l'ADN des leptospires par PCR en temps réel dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés (17-19,44).

Parmi ces études, 3 (18,19,44) sont des études d'élaboration d'un nouveau test avec détermination de sa sensibilité analytique, et 1 (17) est l'étude de modification et d'évaluation d'un test existant sur des échantillons des patients atteints de leptospirose.

Une d'entre elles était prospective, avec inclusion de patients consécutifs (44), 3 ne comportaient pas de précision sur le type d'étude (17-19).

### **II.2.2 Type de test étudié**

Les amorces utilisées étaient différentes dans ces quatre études : *lipL32* dans l'étude de Stoddard *et al.* (18), *secY* dans l'étude d'Ahmed *et al.* (44), *rrs* de l'ARN ribosomal 16S dans l'étude de Slack *et al.* (17) et *lfb1* dans l'étude de Mérien *et al.*, 2005 (19).

Dans 3 études (17,19,44) l'échantillon biologique considéré était le sérum et dans 1 étude (18) le sérum et l'urine ont été considérés.

### **II.2.3 Population étudiée**

La population étudiée dans tous les articles analysés est constituée de patients suspectés de leptospirose, mais les symptômes présentés par les patients n'ont pas été précisés dans 3 articles (17-19).

### **II.2.4 Test de référence utilisé**

Dans 2 études (17,44) le test de référence était l'hémoculture, dans 1 étude (19) le test de référence était un test PCR et dans 1 étude (18) le test de référence utilisé n'était pas indiqué.

Les études traitant de la performance des tests de PCR et de PCR en temps réel dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose sont présentées dans le tableau 11.

### II.2.5 Limites méthodologiques des études PCR en temps réel

Les études analysées comportent des limites méthodologiques suivantes :

- I. l'effectif est très petit dans certaines études (N = 7 dans l'étude de Stoddard *et al.* (18)), ce qui compromet la validité des résultats ;
- II. les tests considérés sont au stade précoce de leur développement dans ces études ;
- III. le manque de précision sur les symptômes et les formes cliniques des patients inclus ne permet pas d'exclure le biais de spectre ;
- IV. l'inclusion des patients n'est ni consécutive ni au hasard dans 3 études des 4 analysées.

Ces limites méthodologiques étaient attendues en l'absence d'autres études disponibles, cependant elles sont à prendre en compte lors de l'interprétation de leurs résultats.

Quatre articles traitant des performances analytiques et diagnostiques de tests PCR en temps réel pour la détection de l'ADN des leptospires dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés. Ils ont inclus au total 419 dosages.

Ces études sont des séries de cas, et se caractérisent pas une hétérogénéité tant sur le plan :

- de types d'étude (élaboration d'un test, sa modification ou évaluation),
- des tests étudiés (les amorces de *lipL32/hap1*, *secY*, *rrs*, *lfb1*),
- des échantillons biologiques utilisés (sérum, urine),
- que sur le test de référence utilisé (hémoculture, PCR).

Elles présentent des limites méthodologiques.

**Tableau 11.** Etudes portant sur les techniques de PCR et de PCR en temps réel pour le diagnostic de la leptospirose

1 <sup>er</sup> Auteur Année, type d'étude, pays	Objectif de l'étude	Test, amorce	Description de la population patient, contrôle	Test de confirmation de la leptospirose, critères de positivité
<b>Techniques de PCR</b>				
Djadid <i>et al.</i> , 2009 (38), prospective, NR* Iran	Elaborer un test détectant des leptospires pathogènes et non pathogènes dans des échantillons humains et animaux	- PCR-RTLP (PCR couplée avec une analyse par des enzymes de restriction spécifiques et un séquençage), - <i>rrs</i> de l'ARN ribosomal 16S	<u>Patients</u> : 283 sérums de patients hospitalisés pour leptospirose (fièvre, ictère, céphalée, myalgies) ; <u>Contrôles</u> : 22 sérums de donneurs de sang	NR, NR
Kositamont <i>et al.</i> , 2007(39), NR, Thaïlande	Elaborer un test spécifique des leptospires pathogènes, déterminer sa spécificité analytique	- PCR, suivi des enzymes de restriction spécifiques des leptospires pathogènes - gène de l'ARN ribosomal	<u>Patients</u> : échantillons sanguins de 7 patients atteints de leptospirose, symptômes NR ; <u>Contrôles</u> : NR	NR, NR
Ooteman <i>et al.</i> , 2006 (24), NR, Brésil	Evaluer la PCR pour le diagnostic de la leptospirose humaine	- PCR "maison" - G1/G2	<u>Patients</u> : 30 sérums des patients atteints de leptospirose, symptômes NR ; <u>Contrôles</u> : 62 patients suspectés de leptospirose, non confirmés	MAT <sup>†</sup> , Copenhageni, Icterohaemorrhagiae ; titre plus que 800 ou multiplication par 4 du titre
de Abreu Fonseca <i>et al.</i> , 2006 (25), prospective, Brésil	Comparer la SE <sup>§</sup> et SP <sup>  </sup> de la PCR avec l'hémoculture, ELISA <sup>‡</sup> et MAT	- PCR "maison" - G1/G2 et LP1/LP2	<u>Patients</u> : 60 sérums de patients atteints de leptospirose, symptômes NR ; <u>Contrôles</u> : 20 patients avec d'autres maladies fébriles et 44 individus en bonne santé	MAT ou hémoculture, sérovars NR ; titre plus que 800
Yersin <i>et al.</i> , 1999 (31), prospective, consécutive, NR, Seychelles	Comparer la SE et SP de la PCR avec le Dipstick, IHA <sup>¶</sup> et MAT	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ; - <i>rrs</i> de l'ARN 16S	<u>Patients</u> : 74 sérums de patients atteints de leptospirose (fièvre, myalgie, ictère, hépatomégalie, insuffisance rénale aiguë) ; <u>Contrôles</u> : 124 individus sélectionnés au hasard, appariés pour l'âge, le sexe et les activités professionnelles	MAT, Icterohaemorrhagiae, Hurstbridge, Djasiman, Autumnalis ; séroconversion (augmentation de moins que 100 à plus sur deux prélèvements) ou multiplication par 4 du titre

Mérien <i>et al.</i> , 1995, (40), NR, Nouvelle Calédonie, France	Evaluer l'utilisation en routine du test dans la région endémique	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ; - <i>rrs</i> de l' ARN 16S	<u>Patients</u> : 28 sérums et/ou urines de patients avec leptospirose, symptômes "compatibles avec une leptospirose" ; <u>Contrôles</u> : 169 patients suspectés de leptospirose	MAT, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Tarassovi, Australis, Canicola, Pomona ; séroconversion (augmentation de moins de 100 à plus sur deux prélèvements) ou multiplication par 4 du titre
Brown <i>et al.</i> , 1995 (41), NR, Barbados	Evaluer le test PCR sur les échantillons du sang et des urines chez les patients hospitalisés pour la leptospirose	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ; - G1/G2 et B64-I/B64-II	<u>Patients</u> : 71 patients atteints de leptospirose (sérums), dont 20 patients pour lesquels des échantillons d'urines étaient disponibles, symptômes NR ; <u>Contrôles</u> : 16 patients suspectés de leptospirose	MAT ou hémoculture, le choix NR ; titre supérieur à 800, augmentation de 4 fois du titre
Bal <i>et al.</i> , 1994 (42), NR, Pays Bas	Evaluer la PCR sur les échantillons d'urines (alternative à la culture pour le diagnostic de la leptospirose)	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ; - G1/G2 et B64-I/B64-II	<u>Patients</u> : 15 échantillons d'urines de 7 patients atteints de leptospirose, symptômes NR ; <u>Contrôles</u> : 20 échantillons d'urines d'individus sains et de patients atteints d'autres maladies	Culture, NR
Mérien <i>et al.</i> , 1992 (43), NR, France	Elaboration du test PCR	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ou par électrophorèse sur l'agarose ; - <i>rrs</i> de l' ARN 16S	<u>Patients</u> : 28 échantillons de patients (LCR, sang, urines) atteints de leptospirose, symptômes NR ; <u>Contrôles</u> : 22 échantillons négatifs (LCR, urines, sang)	MAT, ELISA ou culture ; titre supérieur à 800 ou augmentation du titre dans les échantillons
<b>Techniques de PCR en temps réel</b>				
Stoddard <i>et al.</i> , 2009 (18), NR, Etats Unis	Elaborer un test spécifique des leptospires pathogènes	- PCR en temps réel, (TaqMan), - <i>lipL32/hap1</i>	<u>Patients</u> : Sérums et urines de 7 patients atteints de leptospirose, symptômes NR ; <u>Contrôles</u> : échantillons de donneurs de sang	NR, NR
Ahmed <i>et al.</i> , 2009 (44), cohorte prospective, consécutive, Pays Bas	Elaborer un test spécifique des leptospires pathogènes, déterminer sa spécificité analytique	- PCR en temps réel, (SYBR green), - <i>secY</i>	<u>Patients</u> : 23 sérums de patients atteints de leptospirose (dont 12 patients 0-4 jours et 11 patients 5-10 jours de la maladie), 50 % des patients étaient de retour d'un voyage, 92 % étaient hospitalisés et 45,8 % en réanimation ; <u>Contrôles</u> : 107 patients suspectés de leptospirose, non confirmés	hémoculture, NR
Slack <i>et al.</i> , 2007 (17), NR Australie	Modification de la méthode de PCR en temps réel avec Taqman et son évaluation sur les échantillons cliniques	- PCR en temps réel (LighCycler Taqman) - <i>rrs</i> de l'ARN ribosomal 16S	<u>Patients</u> : 28 sérums de patients atteints de leptospirose, symptômes NR ; <u>Contrôles</u> : 203 sérums de patients suspectés de leptospirose, non confirmés	Hémoculture, NR

Mérien <i>et al.</i> , 2005 (19), NR, Nouvelle Calédonie, France	Elaborer un test spécifique des leptospires pathogènes et comparer ses performances à celles du test existant	- PCR en temps réel, (SYBR Green LightCycler) ; - LFB1	<u>Patients</u> : 25 sérums de patients avec leptospirose confirmée, symptômes NR ; <u>Contrôles</u> : 26 patients suspectés de leptospirose	PCR (amorce <i>rrs</i> ) ; NR
---	---	---	---	----------------------------------

---

Note de bas de tableau : \* – non renseigné, † – micro-agglutination test, ‡ – *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, § - sensibilité, || - spécificité, ¶ - hémagglutination indirecte.

## II.3 Présentation et analyse critique des résultats des techniques de détection de l'ADN des leptospires par biologie moléculaire avec amplification

A noter une grande difficulté d'évaluer la technique de biologie moléculaire avec amplification pour le diagnostic de la leptospirose à cause de :

- l'absence de test de référence valide avant 8 jours de la maladie,
- un faible niveau méthodologique des études identifiées sur ce sujet.

La synthèse des résultats des études sur les performances de PCR et de PCR en temps réel pour diagnostiquer la leptospirose est présentée dans le tableau 12.

### II.3.1 PCR

La sensibilité de la technique PCR pour la détection de l'ADN des leptospires dans le sang est variable en fonction des études – de 9,46 à 72,7 % (3 études, 414 patients). Dans des séries où le prélèvement a été effectué avant 9<sup>ème</sup> jour de maladie elle est moins variable (de 39,19 à 62 %) que dans des séries où le prélèvement a été réalisé après le 9<sup>ème</sup> jour de maladie (de 9,46 à 72,7 %), mais les valeurs restent basses.

La valeur la plus élevée de sensibilité (100 %) a été obtenue dans l'étude de Bal (42), où le test de référence était la culture, qui est plus adaptée dans cette période de la maladie (septicémique). A noter que l'effectif de cette étude est petit ce qui diminue la validité des résultats et que l'échantillon utilisé était l'urine.

La spécificité de la technique PCR pour la détection des acides nucléiques des leptospires est très variable (de 51,6 à 100 %) dans les études analysées.

La sensibilité analytique de cette technique est exprimée dans des unités différentes selon les études analysées. Elle varie de 10 à 50 leptospires/mL dans le sang.

### II.3.2 PCR en temps réel

La sensibilité de la technique PCR en temps réel pour la détection de l'ADN des leptospires dans le sang est élevée – de 96,4 à 100 %, dans les 4 études analysées.

La spécificité de la technique PCR en temps réel pour la détection de l'ADN des leptospires dans le sang est également élevée – de 96 à 100 % dans les 4 études analysées. Cependant, ces résultats sont à pondérer par le faible niveau méthodologique des études disponibles.

La sensibilité analytique de cette technique est exprimée dans des unités différentes dans les études analysées. Elle varie de 10 à 50 leptospires/mL dans le sang. Cette valeur est meilleure que la sensibilité analytique de l'observation du prélèvement au microscope à fond noir qui est de 10<sup>4</sup> leptospires/mL (13).

**Tableau 12.** Synthèse des résultats de PCR et de PCR en temps réel pour le diagnostic de la leptospirose

1 <sup>er</sup> Auteur année, type d'étude, pays	Test, amorce	Moment du dosage, nombre	SE <sup>†</sup> (IC <sup>§</sup> )	SP <sup>  </sup> (IC)	Sensitivité analytique, seuil de détection	Remarque
<b>Techniques de PCR</b>						
Djadid <i>et al.</i> , 2009 (38), prospective, NR* Iran	- PCR-RTL (PCR imbriqué avec l'analyse par les enzymes de restriction spécifiques et le séquençage), - <i>rrs</i> de l'ARN ribosomal 16S	NR	NR (N <sup>†</sup> = 283)	NR (Nc <sup>  </sup> = 22)	1-2pg de l'ADN	Durée 24-36 heures
Kositamont <i>et al.</i> , 2007(39), NR, Thaïlande	- PCR, suivi d'une analyse par enzymes de restriction spécifiques des leptospires pathogènes - <i>rrs</i> de l'ARN ribosomal 16S	NR	NR (N = 7)	NR (Nc = NR)	1-2 leptospires dans le prélèvement	
Ooteman <i>et al.</i> , 2006 (24), NR, Brésil	- PCR "maison" - G1/G2	NR	56,60 % (N = 30)	51,60 % (Nc = 62)	4,4 leptospires	
de Abreu Fonseca <i>et al.</i> , 2006 (25), prospective, Brésil	- PCR "maison" - G1/G2 et LP1/LP2	J3-J8 (NR) ; J9-J14 (NR) ; au-delà de J14 après le début de la maladie	62 % ; 72,7 % ; 44,4 % (N total = 60)	100,00 % (Nc = 64)	10 leptospires	
Yersin <i>et al.</i> , (31), prospective, consécutives, NR, Seychelles	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ; - <i>rrs</i> de l'ARN 16S	J3-J9 (NR) ; J20-J59 (NR)	39,19 % ; 9,46 % (N total = 74)	86,30 % (Nc = 124)	NR	

Mérien <i>et al.</i> , 1995, (40), NR, Nouvelle Calédonie, France	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ; - <i>rrs</i> de l' ARN 16S	2 prélèvements sanguins - précoce et tardif, pour certains patients - prélèvement d'urines	NR (N total = 28)	NR (Nc = 169)	NR	Tous les patients positifs au MAT ont été positifs en PCR
Brown <i>et al.</i> ,1995 (41), NR, Barbados	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ; - G1/G2 et B64-I/B64-II	NR	NR (N = 71)	NR (Nc = 16)	NR	
Bal <i>et al.</i> , 1994 (42), NR, Pays Bas	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ; - G1/G2 et B64-I/B64-II	Echantillons <u>d'urines</u> prélevées à moins de 8 jours de maladie	100,0 % (N = 7)	100,0 % (Nc = 20)	NR	
Mérien <i>et al.</i> , 1992 (43), NR, France	- PCR dont les produits sont analysés par Dot Blot hybridation ou par électrophorèse sur l'agarose ; - <i>rrs</i> de l' ARN 16S	NR	NR (N = 28)	NR (Nc = 22)	10 leptospires 50 leptospires/ml, environ 1 à 2 copie du génome dans l'échantillon, 5 leptospires dans les urines	

#### Techniques de PCR en temps réel

Stoddard <i>et al.</i> ,2009 (18), NR, Etats Unis	- PCR en temps réel, (TaqMan), - <i>lipL32</i>	Période précoce, sans autre précision,	100 % (N = 7)	100 % (Nc = NR)	Sang 10 leptospires /ml, plasma 100 leptospires/ml, sérum 1000 leptospires/ml, urines centrifugées 10 leptospires/ml, urines non centrifugées 100 leptospires/ml
Ahmed <i>et al.</i> , 2009 (44), cohorte prospective, consécutives, Pays Bas	- PCR en temps réel, (SYBR green), - <i>secY</i>	0-4 jours et  5-10 jours du début de la maladie	100 %(63-100), (N = 12)  100 %(52-100) (N = 11)	96 %(86-99),  90 %(78-96) (Nc total = 107)	1 copie d'ADN par réaction sur la culture, 10-20 copies sur les tissus



Diagnostic biologique de la leptospirose – Rapport d'évaluation

Slack <i>et al.</i> , 2007 (17), NR, Australie	- PCR en temps réel (LigthCycler Taqman) - <i>rrs</i> de l'ARN ribosomal 16S	Phase aigue, sans autre précision	96,4 % (81,7 - 99,9) (N = 28)	99,5 % (97,3-100) (Nc = 203)	10 copies par réaction, environ 5 équivalents génomiques	
Mérien <i>et al.</i> , 2005 (19), NR, Nouvelle Calédonie, France	- PCR en temps réel, (SYBR Green LightCycler) ; - LFB1	NR	NR (N = 25)	NR (Nc = 26)	50 leptospires/ml, environ 1 à 2 copies du génome dans l'échantillon, 5 leptospires dans les urines	Durée moins de 3 heures, sur les prélèvements pairs tous les cas confirmés par MAT sur le prélèvement tardif ont été positifs en PCR sur le prélèvement précoce

Note de bas de tableau : \*- non renseigné, † - nombre de dosages chez les patients atteints de leptospirose, ‡ - sensibilité, § - intervalle de confiance 95 %, || - spécificité, ¶ - nombre de dosages dans le groupe de contrôle

Le moment optimal de prélèvement a été étudié par l'Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie (19). Les échantillons de 51 patients (25 d'entre eux étaient atteints de leptospirose, confirmés par le test MAT ou le test PCR et 26 entre eux étaient suspectés de leptospirose) ont été considérés dans cette étude. Pour 10 d'entre eux, deux prélèvements sanguins étaient disponibles : l'un étant précoce – avant 8 jours de maladie et le deuxième tardif - après le 8<sup>ème</sup> jour. Dans tous les prélèvements précoces la PCR en temps réel a détecté l'ADN des leptospires. Le test de PCR en temps réel est devenu négatif dans tous les prélèvements tardifs, ce qui était attendu puisque la bactérie n'est en général plus présente dans le sang après le 10<sup>ème</sup> jour de maladie.

Le test de PCR en temps réel est donc très prometteur pour la détection précoce des leptospires dans les prélèvements sanguins. Cependant, ce test n'est pas utile sur les prélèvements sanguins tardifs (après 8-10 jours de la maladie).

Les échantillons d'urine ont été analysés dans une étude (18), sur un très petit effectif (7 patients). Il n'est pas possible de conclure sur l'utilisation de ce type de prélèvement pour le test PCR en temps réel par manque d'informations disponibles.

#### **Article supplémentaire :**

Un article supplémentaire (45) concernant le test PCR en temps réel a été identifié après l'envoi des questionnaires et donc n'a pas pu être présenté au groupe de travail.

C'est une étude prospective cas-témoins ayant inclus 266 patients au total, dont 133 patients atteints de leptospirose et 133 contrôles. Cette étude avait comme objectif d'évaluer la sensibilité et la spécificité diagnostique des deux tests PCR en temps réel, utilisant la technique Taqman, l'un ayant pour cible le gène *rrs* et l'autre *lipL32*. Les patients inclus étaient des patients qui se sont présentés à l'hôpital Udon Thai au Thaïlande avec la fièvre aiguë d'origine indéterminée. Les critères d'inclusion étaient l'âge plus que 15 ans, fièvre supérieure à 37,8°C, accord de participer à l'étude et d'avoir un suivi en externe à la sortie d'hospitalisation. Les critères d'exclusion étaient le frottis sanguin positif pour le paludisme, une autre cause d'infection clairement identifiée, une infection pulmonaire ou urinaire.

La durée médiane du début de la maladie était 4 jours (extrêmes 1 – 12 jours), le test de référence était la culture et/ou MAT.

La sensibilité de ces deux tests apparaît faible 43 % et 56 % sur cet échantillon plus grand qu'auparavant (266 patients au total) de patients.

La sensibilité du test *rrs* était supérieure à celle du *lipL32* (56 %, 95 %IC 47-64 % versus 43 % 95 %IC 34-52 %,  $p < 0,001$ ). La différence de la spécificité entre les tests étudiés n'était pas significative : 90 % (IC95 % 83-94) pour le *rrs* et 93 % (IC95 % 88-97) pour le *lipL32*,  $p = 0,06$ .

La sensibilité diagnostique des deux tests était plus élevée dans le sous-groupe de 39 patients chez lesquels la leptospirose a été confirmée par la culture (95 % pour le *rrs* et 87 % pour le *lipL32*).

L'explication probable de ces modestes valeurs de la sensibilité est la faible charge bactérienne habituelle pour la leptospirose. Par conséquence, un résultat négatif de la PCR en temps réel doit conduire à la poursuite des investigations par des tests sérologiques chez un patient avec la suspicion clinique de la leptospirose.

## II.4 Conclusion

Donc, dans les limites du faible niveau méthodologique des études disponibles, les résultats de l'analyse de la littérature concernant les techniques de biologie moléculaire avec amplification pour la détection de l'ADN de leptospires sont les suivants :

### 1. pour le test PCR

- la sensibilité et la spécificité diagnostiques sur échantillon sanguin sont variables et faibles – de 9,46 à 72,7 % et de 51,6 à 100 % respectivement (3 études, 414 patients),
- la sensibilité et la spécificité diagnostiques sur échantillon d'urine est élevée – 100,0 % chacune, mais repose sur 1 seule étude avec 27 patients,
- la sensibilité analytique est de 10 à 50 leptospires/ml de sang.

### 2. pour le test PCR en temps réel

- la sensibilité diagnostique sur l'échantillon sanguin est variable – de 43 à 56 % dans l'étude la plus récente, de plus grand effectif et de meilleur niveau méthodologique (1 étude, 266 patients) à 96,4 à 100 % dans les études précédentes (3 études, 368 patients),
- la spécificité diagnostiques sur échantillon sanguin est très élevée – de 90,0 à 100 % (4 études, 634 patients),
- pas d'information disponible concernant la sensibilité et la spécificité diagnostiques sur d'autres échantillons,
- la sensibilité analytique varie de 10 à 50 leptospires/ml de sang,
- le moment optimal de prélèvement pour le sang est avant 8 jours de maladie. Il n'y a pas d'intérêt à pratiquer le test PCR en temps réel dans le sang au-delà de 10 jours du début de la maladie.

## III. SYNTHÈSE DE L'ANALYSE DES ARTICLES SUR LES DIFFÉRENTES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA LEPTOSPIROSE

La synthèse des résultats de différentes techniques considérées est présentée dans le tableau 13.

**Tableau 13.** Synthèse des résultats de l'analyse des articles sur les différentes techniques de diagnostic biologique de la leptospirose

Test	Nb* d'études	Nb de dosages	SE <sup>†</sup> (sang)	SP <sup>‡</sup> (sang)	Disponibilité/commercialisation en France	Niveau <sup>3</sup> de laboratoire pour la réalisation	Remarques
<b>MAT</b> <sup>§</sup>	NE <sup>§§</sup>	NE	NE	NE	oui /non	3 (CNR <sup>††</sup> )	Test de référence
<b>ELISA</b> <sup>  </sup> (IgM)	11	2665	75,0-100,0 % <sup>4</sup>	78-98 %	oui/oui	1	
<b>TR</b> <sup>¶</sup> (Ig)	4	2789	45-100 %	56,5-96,6 %	oui/oui	1	Défaut de détection de certains sérovars en France, problème de stabilité des réactifs (à l'origine de la demande)
<b>Tests unitaires</b> (IgM)	7	1831	78,4-85,5 %	66,0-100,0 %	NR <sup>‡‡</sup>	1	Réalisation rapide, kits unitaires
<b>PCR</b> <sup>**</sup> (ADN)	3	414	9,46-72,7 %	51,6-100 %	oui/non	2	Durée 24-36 heures, la technique abandonnée, remplacée par la PCR en temps réel
<b>PCR en temps réel</b> (ADN)	3	368	96,4-100,0 %	96,0-100,0 %	oui/non	2	Durée 3 heures

Note de bas de tableau : \* - nombre, † - sensibilité, ‡ - spécificité, § - micro-agglutination test, || - *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, ¶ - test de macro-agglutination avec antigène thermorésistant, \*\* - réaction de polymérisation en chaîne, †† - Centre National de Référence, ‡‡ - non renseigné, §§ - non évalué.

Définis par l'arrêté du 16 juillet 2007(JO du 4 août 2007) et le guide de conception des laboratoires d'analyses biologiques de l'INRS, 2007.

<sup>4</sup> Résultats retenus pour les tests sérologiques (ELISA, TR et tests unitaires) sont ceux des dosages en phase immune de la maladie.

## IV. ANALYSE DE LA LITTÉRATURE : STRATEGIE DIAGNOSTIQUE

### IV.1 Présentation des documents analysés

Deux recommandations sur la stratégie diagnostique de la leptospirose ont été identifiées et analysées (12,46).

La recommandation de la Société Française de Microbiologie (12), nommée Rémic, a été émise en 2010 et a pour l'objectif la mise à disposition des professionnels d'un référentiel de microbiologie pragmatique, l'amélioration du service médical rendu, l'utilité pour la collectivité et la santé publique.

La recommandation de la Société Britannique d'Infectiologie (46) a été émise en 2009, elle a pour l'objectif de fournir aux cliniciens hospitaliers une approche pratique pour la gestion des patients présentant une fièvre au retour du voyage.

Ces deux recommandations concernent plusieurs maladies infectieuses, dont la leptospirose.

### IV.2 Limites méthodologiques

Les recommandations analysées comportent les limites méthodologiques suivantes :

- la méthode d'élaboration de ces documents n'a pas été clairement indiquée ;
- les critères de sélection des études qui ont servi à élaborer ces recommandations n'ont pas été explicités ;
- le processus de recueil de la position d'experts n'a pas été précisé.

Une recommandation britannique et une recommandation française ont été identifiées et analysées. L'une concerne de la stratégie diagnostique chez les patients au retour d'un voyage et suspectés de leptospirose et l'autre concerne tous les patients suspectés de leptospirose.

Ce sont des recommandations sur les aspects cliniques pratiques. Elles présentent des limites méthodologiques d'élaboration.

### IV.3 Présentation et analyse critique des résultats

#### IV.3.1 Conclusions de la recommandation française « Rémic » concernant la leptospirose

La recommandation Rémic présente la position de la Société Française de Microbiologie sur les différents aspects du processus diagnostique biologique de la leptospirose, en particulier :

- le nature de prélèvement pour la détection directe de la bactérie ou ses acides nucléiques doit tenir compte de la chronologie de la présence des leptospires dans les différents compartiments de l'organisme (dans le sang de 0 à 10 jours, dans le liquide céphalo-rachidien de 5 à 15 jours, dans les urines de 15 à 25 jours à partir du début de la fièvre) ;
- le choix de la technique utilisée (détection directe ou la sérologie) doit tenir compte du stade de la maladie, c'est pourquoi il est indispensable de joindre au prélèvement des informations cliniques précises ;
- la détection directe par culture peut être utilisée, mais elle peut durer jusqu'à 2 mois ;

- la détection de l'ADN bactérien par PCR (sans plus de précision sur la technique dans la recommandation) est à développer et à utiliser en première intention, car c'est la seule technique de détection précoce de la bactérie. Actuellement, il n'y a pas de trousse diagnostiques commercialisées ;
- certaines trousse sont commercialisées (pas d'autres précisions dans la recommandation) pour le test sérologique ELISA IgM. A noter que ce test présente un défaut de détection des sérogroupes *Grippityphosa* et *Australis* ;
- le test sérologique TR (avec l'antigène thermorésistant) est simple et rapide, mais il présente une valeur prédictive positive de 33 % et une valeur prédictive négative de 95 %, de plus, il peine à détecter les sérogroupes *Grippityphosa*, *Australis*, *Ballum*, *Panama*, donc il doit être abandonné ;
- le test sérologique MAT est le test de référence pour le diagnostic de la leptospirose. En raison de sa complexité et du besoin d'entretien de cultures d'un panel de souches de leptospires pour l'effectuer, il est réalisé uniquement au CNR ;
- l'interprétation des résultats des tests sérologiques doit tenir compte du tableau clinique, des données épidémiologiques, des connaissances sur la dynamique des anticorps dans l'organisme. Deux prélèvements à 2-3 semaines d'intervalle sont nécessaires pour les tests sérologiques.

#### IV.3.2 Conclusions de la recommandation britannique concernant la leptospirose

Chez un patient présentant la fièvre au retour d'un voyage, seule ou accompagnée d'ictère, d'hépatosplénomégalie, d'hématurie ou de protéinurie, il est recommandé :

- de faire des prélèvements pour une hémoculture et une culture de liquide céphalo-rachidien pour la recherche des leptospires, s'il présente des symptômes depuis moins de 5 jours et cela avant l'instauration de l'antibiothérapie. Les prélèvements peuvent être envoyés dans l'Unité Britannique des Leptospores ;
- d'effectuer le dosage des IgM en ELISA, si les symptômes sont présents depuis plus de 5 jours ;
- de confirmer le diagnostic 10 jours plus tard par la méthode sérologique MAT ou par le dosage des IgM en ELISA.

Le prélèvement d'urines n'est pas souhaitable pour le diagnostic de la leptospirose.

## IV.4 Conclusion

La recommandation française « Rémic » 2010 préconise pour les cas de suspicion clinique de leptospirose :

- la prise en compte de la présence de la bactérie dans les différents compartiments de l'organisme pour le choix de la technique (sang 0-10 jours, LCR 5-15 jours, urine 15-25 jours après le début de la maladie) ;
- l'utilisation des techniques sérologiques dans la phase immune de la maladie (à partir du 6<sup>ème</sup> jour pour les IgM en ELISA, à partir du 8<sup>ème</sup> jour pour le test MAT) ; deux prélèvements sont nécessaires ;
- le développement de la technique PCR (sans plus de précision) en première intention pour les prélèvements précoces ;
- l'abandon de la technique de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant (TR).

Cette recommandation cite d'autres techniques (la culture, les tests ELISA, MAT), décline leurs avantages et leurs inconvénients, mais ne prend pas de position à leur égard.

La recommandation britannique de stratégie diagnostique chez les patients de retour d'un voyage :

- distingue deux périodes (moins de 5 jours et plus de 5 jours après le début de la maladie) pour le choix de la technique,
- préconise l'utilisation de trois techniques (culture bactérienne dans le sang et dans le LCR dans les 5 jours suivant le début de la maladie, ELISA IgM au-delà de 5 jours après le début de la maladie et test MAT pour confirmation),
- indique la nécessité de confirmer le résultat sérologique sur un deuxième prélèvement 10 jours après le premier.

## V. POSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

### 1. Performances diagnostiques et des conditions de réalisation des tests

Quelques membres du groupe de travail ont remarqué que dans le rapport l'intérêt des tests de diagnostic biologique spécifique de la leptospirose est estimé en fonction du début de la fièvre. En pratique clinique il y a souvent l'incertitude sur le début exacte de celle-ci, car elle est déclarée par le patient et est rarement mesurée avec précision, notamment à domicile.

Concernant plus particulièrement les tests PCR et PCR en temps réel certains experts précisent que la période de la détection des leptospires dans le sang est selon eux de 8 jours et non de 10 jours.

#### Test ELISA IgM

La plupart des membres ont signalé que la littérature disponible concernant le test ELISA IgM est de faible quantité et présente de nombreuses limites méthodologiques. La grande hétérogénéité de ses résultats, est à l'origine des difficultés pour l'analyse plus précise des données.

Un expert considère qu'il n'est pas possible de savoir si l'un des tests commercialisés présente de meilleures performances diagnostiques que l'autre puisqu'il n'y a qu'une seule étude de faible effectif concernant le test Sérion versus 6 études avec le test Panbio. Il en est de même quant à l'influence éventuelle en terme d'utilisation de ces

tests en zone d'endémie versus en zone non endémique (seulement deux études en zone non endémique identifiées). Des études supplémentaires sont souhaitables pour mieux évaluer ces aspects, répondant à des critères méthodologiques plus stricts.

La majorité d'experts du groupe de travail a estimé que la technique de l'ELISA IgM est intéressante à l'heure actuelle étant donné que celle-ci est évolutive (développement des protéines recombinantes), facilement adaptable à une assurance qualité, opérateur indépendante.

Cependant, un expert a fait remarquer que les antigènes de leptospires manquent encore de standardisation et que les antigènes utilisés dans les différents kits ELISA sont différents. Ceci rend impossible la comparaison des performances de ces kits.

Quant aux performances diagnostiques, plusieurs experts ont estimé la sensibilité et la spécificité de l'ELISA IgM suffisantes pour utilisation du test en pratique clinique, sous réserve de réalisation après 7 jours d'évolution de la maladie. Avant 7 jours de la maladie la sensibilité a été considérée comme très médiocre et trop variable.

Pour un expert, compte tenu du nombre non négligeable de faux négatifs, le test ELISA IgM n'est pas un test de choix en cas de suspicion de leptospirose même chez un patient avec de la fièvre depuis plus de 7 jours (sensibilité de 75 à 100 % à partir du 7<sup>ème</sup> jour).

La confirmation du test ELISA IgM positif par MAT ou PCR est nécessaire du fait de l'existence de faux positifs surtout en zone d'endémie. Le risque principal des faux positifs est de conclure hâtivement au diagnostic de leptospirose et de « passer à côté » d'une infection plus grave ou requérant une prise en charge spécifique (comme par exemple la primo-infection VIH ou le paludisme).

Certaines remarques concernent la comparaison du test ELISA IgM avec d'autres tests. Le test IgM ELISA semble être plus utile pour le dépistage de leptospirose que le test TR car il présente une meilleure sensibilité que ce dernier. Le test ELISA IgM peut être utilisé plus tôt que le test MAT et il est également plus facile à réaliser que celui-ci, mais moins performant.

Un expert se dit contre l'utilisation du test ELISA IgM en zone endémique, étant donné qu'avec l'arrivée de la PCR en temps réel le test ELISA IgM n'a plus sa place en tant que test précoce.

Selon les experts du groupe de travail, malgré les performances diagnostiques médiocres au stade précoce de la maladie, le test ELISA IgM est réalisé en pratique clinique avant le 7<sup>ème</sup> jour. Généralement, il est répété 7-10 jours plus tard pour mettre en évidence une séroconversion.

Le groupe de travail a souligné l'importance d'avoir deux prélèvements de sérum avec un sérum tardif surtout en zone d'endémie et la nécessité de répéter le prélèvement si un premier est négatif.

Dans le contexte clinico-biologique évocateur et l'évolution clinique favorable avec l'antibiothérapie active sur les leptospires, la positivité de l'ELISA suffit à établir le diagnostic pour le groupe de travail. Le MAT dans cette situation a un intérêt épidémiologique quant au sérotype infectant. En revanche dans le cas où le diagnostic est plausible mais le test ELISA est négatif, le MAT a un intérêt épidémiologique et diagnostique.

Le principal intérêt du test ELISA IgM est son accessibilité à tout laboratoire, même en zone reculée, l'existence des kits commercialisés pour sa réalisation et la standardisation de la technique. Il peut être utile quand les autres tests de diagnostic de leptospirose ne sont pas disponibles ainsi qu'en médecine de catastrophe.

Les experts ont estimé le test ELISA IgM applicable dans les conditions de leur exercice en raison de la commercialisation du kit, de l'existence de techniques en



microplaque automatisables, de la connexion au système informatique évitant des erreurs de recopiage ainsi que de la possibilité de suivi de qualité.

**Tableau 14. Test ELISA IgM**

Question posée	Position du groupe de travail*	Niveau d'accord au sein du groupe
<i>« Le test ELISA IgM présente une sensibilité et une spécificité suffisantes pour être utilisé en pratique clinique courante »</i>	[7]	Accord fort <sup>†</sup>
<i>« Le test ELISA IgM est un test indiqué chez des patients suspectés de leptospirose et qui présentent de la fièvre depuis au moins 6 jours »</i>	[7]	Accord fort
<i>« Le test ELISA IgM doit toujours être confirmé par le test MAT » (en raison de performances non suffisantes dans certaines situations)</i>	[8]	Accord fort
<i>« Le test ELISA IgM présente des performances non optimales dans le diagnostic de leptospirose, mais peut avoir un intérêt dans certaines situations du fait de ses conditions de réalisation plus simples et sa plus grande accessibilité »</i>	[8]	Pas de consensus <sup>‡</sup>

\* – médiane de cotation, † - toutes les cotations sont comprises entre 7 et 9, ‡ - les cotations sont dispersées entre 1 et 9 et la moyenne est supérieure à 6,5

En conclusion, la plupart des membres du groupe de travail estiment que les performances du test ELISA IgM sont médiocres mais considèrent que ce test peut faire partie des éléments à disposition du clinicien pour sa décision de prise en charge du patient en phase immune de la maladie (au-delà du 7<sup>ème</sup> jour).

Les experts précisent également que tout résultat positif ou négatif doit être confirmé par le test de référence MAT.

Ce test présente des avantages de lecture standardisée avec l'exécution facilitée par l'existence des kits commercialisés. Il est réalisable par un laboratoire peu équipé et dans un délai court, ce qui est important pour une maladie potentiellement grave comme la leptospirose.

### Test TR

Les experts du groupe de travail ont exprimé leur accord avec les conclusions de l'analyse de la littérature.

Selon le groupe de travail, l'analyse de la littérature reflète l'absence de qualités analytiques suffisantes du test TR. De plus, la quantité limitée de données récentes témoigne de l'abandon de ce test en pratique clinique. Un expert d'outre-mer signale l'arrêt de l'utilisation du test TR depuis plusieurs années dans l'établissement où il exerce.

Plusieurs experts ont noté l'absence de caractérisation et de standardisation de l'antigène utilisé pour le test TR avec une variabilité des performances en fonction des lots.

Le groupe de travail a estimé la sensibilité du test TR inférieure à celle de l'ELISA IgM et a remarqué le défaut de détection de certains sérogroupes qui peut être préjudiciable pour les patients, car il empêche la mise en route du traitement adapté. Ainsi, les performances diagnostiques du test TR ont été considérées comme insuffisantes pour le diagnostic de leptospirose. En effet, le test TR présente des performances inférieures par rapport au test de référence MAT et n'apporte pas d'avantage ni en terme d'épidémiologie ni en terme de rapidité de diagnostic.

Selon le groupe de travail, le test TR demande autant d'expertise que le test MAT. Sa lecture est subjective, l'interprétation des agglutinats est difficile en pratique, notamment pour des sérums opalescents. La technique est considérée comme non reproductible entre laboratoires. De plus, il y a eu en France des problèmes d'instabilité des réactifs et des ruptures de stocks.

Pour la majorité des experts il n'y a pas de situation où le test TR présenterait un intérêt. L'argument supplémentaire pour son abandon est l'existence des tests alternatifs (ELISA ou PCR) qui présentent des performances plus élevées. Cependant quelques experts admettent l'utilisation du test TR quand les autres techniques diagnostiques ne sont pas disponibles, en situation d'isolement ou d'urgence. Toute réalisation du test TR dans les situations citées doit être suivie par le test MAT.

**Tableau 15.**

Test TR

Question posée	Position du groupe de travail*	Niveau d'accord au sein du groupe
« Le test TR présente une sensibilité et une spécificité insuffisantes pour être utilisé en pratique clinique courante en France ».	[9]	Accord fort <sup>†</sup>

\* – médiane de cotation, † - toutes les cotations notifiées sont comprises entre 7 et 9

La majorité des experts du groupe de travail sont contre l'utilisation du test TR en pratique clinique.

En effet, de nombreux défauts du test TR ont été pointés, à savoir des performances diagnostiques insuffisantes, des défauts de détection de sérovars répandus en France ainsi que la survenue de problèmes de stabilité de réactifs et de rupture de stocks des réactifs.

### Tests unitaires à lecture visuelle

Les experts du groupe de travail sont d'accord avec les conclusions de l'analyse de la littérature concernant les tests unitaires à lecture visuelle. Ils ont souligné le manque d'études en zone non endémique (aucun résultat n'est disponible) et que les études analysées sont très disparates avec peu de dénominateur commun. Pourtant, il est important d'évaluer ces tests dans chacune des zones d'outre-mer, ainsi qu'en France métropolitaine.

Les tests unitaires à lecture visuelle présentent le même défaut que le test ELISA, à savoir l'absence de caractérisation et de standardisation des antigènes.

Les performances des tests unitaires à lecture visuelle sont jugées faibles, mais satisfaisantes sous réserve de leur utilisation à la phase immune de la maladie (après 7 jours de son début) et en zone d'endémie. Les résultats positifs comme négatifs nécessitent une confirmation par le test MAT en raison de nombreux faux positifs et des faux négatifs.

Les performances diagnostiques des tests unitaires à lecture visuelle sont estimées meilleures que celles du test TR sous réserve des limites méthodologiques des études.

Les conditions de réalisation des tests unitaires à lecture visuelle ne sont pas plus simples que celles de l'ELISA selon les experts. La réalisation des tests unitaires à lecture visuelle est cependant plus facile que celle du test MAT ou de la PCR. Ces tests sont rapides à effectuer et accessibles à l'utilisation « au coup par coup ». Une formation spécifique du personnel est requise pour la réalisation des tests unitaires à lecture visuelle. Par ailleurs les experts ont noté que la qualité des résultats est potentiellement variable, leur transcription et la traçabilité ne sont pas toujours satisfaisantes. Le coût de ces tests est élevé.

Les tests unitaires à lecture visuelle peuvent avoir un intérêt potentiel en pratique clinique après 6 jours de la maladie, dans les sites peu équipés si la PCR en temps réel est indisponible ou dans les formes graves où la rapidité des résultats biologiques est importante, en médecine de catastrophe.

Selon un expert dans les centres délocalisés de soins en Guyane ces tests ont un intérêt potentiel du fait de l'absence de laboratoire d'analyse médicale. En revanche, il n'y a aucun intérêt dans des centres hospitaliers en outre-mer.

Le groupe de travail a considéré les tests unitaires à lecture visuelle applicables dans les conditions de leur exercice.

Aucun expert du groupe de travail n'a l'expérience d'utilisation des tests unitaires à lecture visuelle dans sa pratique.

**Tableau 16.** Tests unitaires à lecture visuelle

Question posée	Position du groupe de travail*	Niveau d'accord au sein du groupe
<i>« Les tests unitaires à lecture visuelle présentent une sensibilité et une spécificité suffisantes pour être utilisés en pratique clinique ».</i>	[5]	Indécision <sup>‡</sup>
<i>« Les tests unitaires à lecture visuelle sont indiqués chez des patients suspectés de leptospirose qui présentent de la fièvre depuis au moins 6 jours ».</i>	[6]	Indécision
<i>« Les tests unitaires à lecture visuelle ont démontré leurs performances dans les zones endémiques de leptospirose, comme les territoires d'outre-mer ».</i>	[6]	Indécision
<i>« Il n'est pas possible de recommander l'utilisation des tests unitaires à lecture visuelle dans des zones non endémiques comme la France métropolitaine, en raison de l'absence d'études de leurs performances dans ces conditions ».</i>	[8]	Accord fort <sup>‡</sup>
<i>« Les tests unitaires à lecture visuelle doivent être toujours confirmés par le test MAT » (en raison des performances insuffisantes dans certaines situations).</i>	[8]	Accord fort

« Les tests unitaires à lecture visuelle présentent des performances non optimales dans le diagnostic de leptospirose, mais peuvent avoir un intérêt dans certaines situations du fait de leurs conditions de réalisation plus simples et leur plus grande accessibilité ». [6] Indécision

\*– médiane de cotation, † - toutes les cotations notifiées sont comprises entre 7 et 9, ‡ - les cotations sont dispersées entre 1 et 9, et la moyenne est inférieure à 6,5.

Selon le groupe de travail, l'intérêt potentiel des tests unitaires à lecture visuelle est leur utilisation en phase immune de la maladie, en zones éloignées d'outre-mer où la réalisation d'autres tests tels que la PCR ou l'ELISA n'est pas possible.

La sensibilité et la spécificité sont considérées par le groupe de travail comme médiocres, comparables à celles de l'ELISA IgM. La confirmation par MAT de tout résultat est indispensable.

Les performances de ces tests n'ont pas été évaluées en zones non endémiques de leptospirose comme la France métropolitaine.

Aucun des membres du groupe de travail n'avait d'expérience de réalisation de ce test.

### Test PCR

Les résultats des études analysées traitant des tests PCR sont considérés comme très hétérogènes, et le manque de spécificité de la PCR laisse craindre des problèmes techniques intrinsèques liés à la méthode.

Cependant, certains experts doutent de la possibilité de conclure sur les performances diagnostiques de la PCR sur la base des études d'aussi faible niveau de preuve.

Une réserve a été émise sur la globalisation des résultats, car ils sont obtenus avec les tests utilisant des gènes différents, et le moment de prélèvement pour la réalisation de PCR est souvent non indiqué.

Un expert regrette la construction non adaptée des études d'évaluation de la PCR, il note qu'il faudrait effectuer le test PCR et la culture sur le même prélèvement et non comparer la PCR au résultat tardif de la MAT.

Au total, la sensibilité est considérée comme insuffisante sur l'échantillon sanguin, y compris dans les séries où le prélèvement a été réalisé avant le 9<sup>e</sup> jour de la maladie ; la spécificité est variable et insuffisante. La PCR est jugée moins sensible et moins spécifique que la PCR en temps réel.

Le test PCR est difficile à pratiquer. Il existe le risque de contamination par l'ADN préalablement amplifié. Il est nécessaire de réaliser une PCR en parallèle permettant le dépistage d'inhibiteurs devenu incontournable. Plusieurs contrôles sont indispensables à effectuer (extraction, amplification et exclusion des contaminations). Il n'est pas accessible à tout laboratoire. Sa durée de réalisation est plus grande que celle de la PCR en temps réel.

Le groupe de travail a une position partagée sur l'intérêt potentiel de ce test. Pour certains experts, ce test est inutile, pour d'autres, il peut avoir un intérêt quand la PCR en temps réel n'est pas disponible avant 8 jours de la maladie ou sur échantillon d'urine après le 12<sup>e</sup> jour de la maladie.

**Tableau 17. Test PCR.**

Question posée	Position du groupe de travail*	Niveau d'accord au sein du groupe
« La technique de PCR présente une sensibilité et une spécificité insuffisantes pour être utilisée en pratique clinique ».	[7,5]	Accord fort <sup>†</sup>
« Aujourd'hui, cette modalité de PCR est abandonnée et remplacée en pratique courante par la technique PCR en temps réel ».	[8,5]	Accord fort

\* – médiane de cotation, † - toutes les cotations notifiées sont comprises entre 7 et 9

Selon le groupe de travail le test PCR n'a pas son intérêt dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose.

Le niveau méthodologique des études identifiées n'est pas suffisant pour conclure, de façon fiable, sur la performance diagnostique du test PCR en cas de suspicion de leptospirose.

Le test est difficile à réaliser, et est non accessible à tout laboratoire. De plus, ce test était l'une des étapes d'évolution technologique, et est aujourd'hui remplacé par la PCR en temps réel.

### Test PCR en temps réel

La plupart des membres du groupe de travail ont précisé que le faible niveau méthodologique de la littérature analysée, avec un petit nombre d'études et un effectif insuffisant, rend nécessaire des précautions dans l'interprétation de ses résultats.

Ils estiment que des études complémentaires sont nécessaires, prospectives, comparatives, de grand effectif, avec la définition correcte des cas, stratifiées sur les délais des symptômes et également sur d'autres types de prélèvement (urines, LCR), menées en zones endémiques et non endémiques.

Les résultats des études analysées sont considérés comme encourageants, mais préliminaires et sous réserve des limites méthodologiques des études. Un expert remarque que dans les études analysées, comme dans celles qui ont été publiées depuis<sup>5</sup>, les tests PCR en temps réel ont de bonnes performances. Toutefois, la concentration toujours faible de leptospires dans les liquides biologiques (généralement inférieure à 10 000/mL) constitue et constituera toujours un réel défi diagnostique. Ainsi, l'exclusion d'une leptospirose demeure très probablement et devrait à minima reposer sur des résultats sérologiques convaincants (absence de séroconversion ou séro-ascension en deux tests MAT effectués à 10-15 jours d'intervalle).

Le groupe de travail considère que le test de PCR en temps réel peut être utilisé en pratique courante, sous réserve d'une maîtrise importante des conditions de réalisation. Il est jugé être l'examen de choix pour une maladie potentiellement mortelle comme la leptospirose. C'est le test à réaliser en urgence, dès le début des symptômes jusqu'au 6<sup>e</sup> jour de la maladie. À partir de J5 – J7, l'ELISA et le MAT peuvent être réalisés en parallèle pour confirmer le diagnostic.

Concernant le moment de réalisation du test, plusieurs experts considèrent le test de PCR en temps réel justifié pendant la phase septicémique de la maladie, i.e. avant le

<sup>5</sup> Un seul de ces articles a été inclus et présenté dans le rapport (45).

10<sup>e</sup> jour du début de la fièvre, et sont d'accord qu'il n'y a pas de sens de réaliser le test plus tard, car la bactérie ne circule plus dans le sang. Cependant, un expert suggère la vérification de l'inefficacité de la PCR en temps réel dans le sang, sur les prélèvements tardifs par des études supplémentaires.

La réalisation du test PCR en temps réel nécessite une organisation spécifique, un équipement propre, des plages horaires et un site de réalisation dédié pour les PCR, avec précautions standard pour assurer la bonne réalisation et éviter la contamination du personnel qualifié, pour la réalisation des tests et des contrôles témoins. Cette technique n'est à réaliser que dans des laboratoires pratiquant la biologie moléculaire en routine, avec une bonne séparation physique des différentes étapes : extraction, amplification et postamplification.

Il est, de plus, souhaitable de choisir une technique incluant un contrôle permettant d'exclure la présence d'inhibiteurs dans les extraits (dit « contrôle interne »). La technique doit être validée par le centre de référence.

La technique est plus simple à réaliser que la PCR, et permet d'inclure facilement un contrôle interne pour le dépistage des inhibiteurs potentiels ainsi que la comparaison interlaboratoires. Elle permet un diagnostic précoce utile pour la bonne prise en charge du patient, en particulier dans des contextes de diagnostic différentiel délicat afin d'améliorer le pronostic en mettant en place l'antibiothérapie précoce.

Les arguments, en faveur de l'utilisation de la technique PCR en temps réel, sont sa bonne valeur diagnostique, la réponse rapide et l'absence d'autres tests de diagnostic biologique spécifique de la leptospirose dans la période précoce de la maladie (avant 6 jours), hormis l'hémoculture difficile d'accès et de réponse très tardive.

La majorité des experts du groupe de travail a l'expérience de l'utilisation de ce test dans leur pratique. La technique semble particulièrement développée et largement utilisée en outre-mer.

Concernant la confirmation du test par MAT, elle reste nécessaire pour la détermination du sérotype. Le test PCR en temps réel seul est cependant suffisant pour la prise en charge des patients.

La position du groupe de travail sur l'influence de l'antibiothérapie préalable sur le résultat de la PCR en temps réel et de la sérologie est partagée. En cas de traitement par antibiotiques, de test PCR en temps réel négatif et de forte suspicion clinique, il est indispensable de réaliser un suivi sérologique pour exclure une leptospirose. De plus, l'antibiothérapie antérieure au prélèvement est l'un des cas où la PCR en temps réel doit être réalisée avec le plus de réserve.

Plus généralement, en dehors du cas de traitement préalable par antibiotiques, il convient de poursuivre l'exploration aussi en cas d'absence de confirmation d'un autre diagnostic différentiel devant un tableau clinique évocateur.

**Tableau 18.** Test PCR en temps réel.

Question posée	Position du groupe de travail*	Niveau d'accord au sein du groupe
« La littérature scientifique sur les performances du test de PCR en temps réel est de faible volume et de très faible niveau de preuve ».	[7]	Absence de consensus <sup>‡</sup>

« Des études cliniques supplémentaires portant sur les performances de ce test sont nécessaires ».	[8]	Accord relatif <sup>§</sup>
« Le test de PCR en temps réel présente des performances élevées dans les études analysées ».	[8]	Accord fort <sup>†</sup>
« En raison de l'absence d'autre test pour le diagnostic biologique de la leptospirose durant la première semaine à partir du début de la fièvre, le test de PCR en temps réel peut être utile en pratique courante ».	[9]	Accord fort
« Le test de PCR en temps réel <u>positif</u> ne nécessite pas de confirmation par un autre test ».	[7]	Absence de consensus
« Le test de PCR en temps réel est à réaliser chez des patients suspectés de leptospirose qui présentent de la fièvre depuis moins de 10 jours ».	[8,5]	Accord relatif
« Au-delà de 10 jours à partir du début de la fièvre, la réalisation de PCR en temps réel sur échantillon sanguin n'est plus justifiée ».	[8,5]	Accord relatif
« En cas de traitement par antibiotiques préalable au prélèvement <u>et</u> en cas de test PCR en temps réel négatif, il convient de poursuivre l'exploration par un dosage sérologique ultérieur ».	[8]	Accord relatif
Toutes les questions précédentes portent sur des échantillons sanguins. Êtes-vous d'accord sur le fait que, pour les échantillons d'urine, il manque de données pour conclure sur les performances diagnostiques du test PCR en temps réel ?	[8,5]	Accord relatif

\* médiane de cotation ; † : toutes les cotations notifiées sont comprises entre 7 et 9 ; ‡ : les cotations sont dispersées entre 1 et 9 et la moyenne est supérieure à 6,5 ; § : toutes les cotations notifiées sont comprises entre 4 et 9.

Malgré le peu de données publiées, mais en se fondant sur la maîtrise technique déjà acquise, la rapidité du compte-rendu du résultat, le groupe de travail estime que la technique de PCR en temps réel est actuellement la technique la plus intéressante pour le diagnostic biologique spécifique précoce de la leptospirose. Elle doit être réservée aux huit premiers jours après l'apparition de la fièvre, réalisée sur échantillon de sang, prélevé de préférence avant la mise en œuvre de l'antibiothérapie.

Du fait de la faible concentration habituelle des leptospires dans le sang, toute PCR en temps réel négative doit donner lieu à une exploration sérologique.

Le groupe de travail souhaite que d'autres expériences soient publiées afin de confirmer les résultats d'études concernant les performances diagnostiques du test PCR en temps réel, notamment dans les différentes zones géographiques.

Une expérience notable d'utilisation de la technologie de PCR en temps réel a été accumulée en outre-mer.

## 2. Stratégie diagnostique de la leptospirose

Le groupe de travail a été interrogé afin de définir une stratégie diagnostique biologique spécifique de la leptospirose.

**Tableau 19.** Les tests à effectuer en fonction du stade de la maladie.

TEST/JOURS FIEVRE	DE	MOINS DE 6 JOURS	DE 6 A 10 JOURS	PLUS DE 10 JOURS	REMARQUES
ELISA IgM		NON (ACCORD FORT*)	OUI (ACCORD FORT)	OUI (ACCORD FORT)	FAIRE UN DEUXIEME SERUM TARDIF SI LE PREMIER EST NEGATIF, PROBLEME DE PERSISTANCE DES IGM.
TR		NON (ACCORD FORT)	NON (ACCORD FORT)	NON (ACCORD FORT)	DOIT ETRE ABANDONNE.
TESTS UNITAIRES		NON (ACCORD FORT)	ABSENCE DE CONSENSUS‡	OUI (ACCORD RELATIF†)	SI AUTRES TESTS NON DISPONIBLES.
MAT		NON (ACCORD FORT)	OUI (ACCORD RELATIF)	OUI (ACCORD FORT)	TEST DE REFERENCE, POUR CONFIRMER L'ELISA, AFIN DE DETERMINER LE SEROGROUPE.
PCR		ABSENCE DE CONSENSUS	ABSENCE DE CONSENSUS	NON (ACCORD FORT)	CERTAINS EXPERTS ADMETTENT SON UTILISATION EN CAS DE NON- DISPONIBILITE DE PCR EN TEMPS REEL.
PCR EN TEMPS REEL		OUI (ACCORD FORT)	OUI (ACCORD FORT)	NON (ACCORD RELATIF)	PERSPECTIVE DE DOSAGE DES URINES ET LCR, SI LA TECHNIQUE EST VALIDEE SUR CES ECHANTILLON S

\* : 80 % ou plus de réponses sont concordantes ; † : 70 à 80 % de réponses sont concordantes ; ‡ : les réponses sont dispersées.

Le groupe de travail estime donc que pour la première semaine de la maladie seul le test PCR en temps réel a un intérêt. Pour la période transitoire entre la phase septicémique et la phase immune de la maladie (entre 6 et 10 jours) les tests ELISA IgM, MAT et la PCR en temps réel présentent une utilité. Au-delà de 10 jours de la maladie les tests ELISA IgM et MAT doivent être considérés. Les experts de groupe de travail admettent l'utilisation des tests unitaires à lecture visuelle en cas de non disponibilité de test ELISA IgM.



---

## CONCLUSION

---

Sont présentées les conclusions de l'analyse de la littérature et la position du groupe de travail pour chaque acte évalué.

### **Pour les techniques de biologie moléculaire avec amplification :**

- Deux techniques de détection de l'ADN des leptospires ont été évaluées, à savoir le test de PCR et le test de PCR en temps réel,
- Neuf articles traitant de la performance du test PCR (non en temps réel) pour le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont montré que la sensibilité et la spécificité sont variables et faibles. L'expérience et l'opinion des membres du groupe de travail sont en accord avec les conclusions de l'analyse de la littérature. Cette technique est difficile à réaliser, non accessible à tout laboratoire et a été remplacée en pratique par la PCR en temps réel,
- Cinq articles traitant des performances du test PCR en temps réel pour le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont montré que la sensibilité reste médiocre et variable mais que leur spécificité est élevée. Le groupe de travail a considéré le test PCR en temps réel comme la meilleure technique pour le diagnostic de la leptospirose durant la première semaine de la maladie. Le défaut de sensibilité selon le groupe travail est lié à la faible charge bactérienne dans le sang et se retrouve donc pour tous les tests de détection directe de leptospires. La réalisation du test PCR en temps réel nécessite le respect de règles strictes, mais en revanche la réponse peut être rapide. Il y a une grande expérience d'utilisation de ce test en outre-mer.

Au total, parmi les tests de biologie moléculaire avec amplification d'ADN pour le diagnostic biologique de la leptospirose le test PCR apparaît comme une étape dans le développement technologique et a été remplacé par le test PCR en temps réel, qui présente un intérêt certain pour le diagnostic précoce de cette maladie potentiellement grave, notamment en raison de sa très bonne spécificité. Avant le 6<sup>ème</sup> jour de la maladie il n'y a pas d'autre test pour la détection des leptospires en pratique clinique, la culture bactérienne, test historique, n'étant pas utilisable en raison de son délai de réalisation trop long.

### **Pour la technique sérologique ELISA IgM :**

- Onze articles traitant de la performance diagnostique du test ELISA IgM pour le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont montré que la sensibilité et la spécificité n'étaient pas élevées et variables. Le groupe de travail considère que, malgré ses performances non optimales, ce test a sa place dans le panel des données permettant au clinicien d'étayer sa décision de prise en charge d'un patient suspecté de leptospirose en phase immune de la maladie. En effet, ce test a l'avantage de disposer de kits commerciaux, et est réalisable par un laboratoire peu équipé dans un délai court. Compte tenu des limites de ce test il doit être confirmé par le test de référence MAT.

Au total, le test ELISA IgM présente un intérêt pour orienter la prise en charge d'un patient suspecté de leptospirose en phase immune de la maladie en attendant la confirmation du diagnostic par le test de référence. En particulier, il est utilisable à partir du 6<sup>ème</sup> jour de la maladie si le test PCR en temps réel n'est pas disponible ou négatif. Le test ELISA IgM est accessible à tout laboratoire.

### **Pour la technique sérologique des tests unitaires à lecture visuelle :**

- Sept articles traitant de la performance diagnostique des tests unitaires à lecture visuelle pour le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont montré que leur sensibilité et leur spécificité sont médiocres et variables. Le groupe de travail

considère que les performances diagnostiques de ces tests sont comparables à celles du test ELISA IgM. Ces tests ont l'avantage de pouvoir être réalisés par un laboratoire peu équipé, dans un délai court et « au coup par coup », mais la transcription des résultats et la traçabilité ne sont pas toujours satisfaisantes. Tout résultat de ces tests doit être confirmé par le test de référence, compte tenu de leurs performances médiocres,

- En France, les tests unitaires à lecture visuelle semblent très peu connus. En particulier, aucun membre du groupe de travail n'avait l'expérience de leur utilisation.

Au total, les tests unitaires à lecture visuelle n'ont d'intérêt qu'en cas de test ELISA IgM indisponible, en zones reculées. Leur utilisation à large échelle n'est pas conseillée.

**Pour la technique sérologique de macro-agglutination avec antigène thermorésistant (TR) :**

- Quatre articles traitant de la performance diagnostique du test TR ont montré une sensibilité et une spécificité médiocres et variables. Ce test présente de plus un défaut de détection des sérovars répandus en France. Le groupe de travail a exprimé son opposition à l'utilisation de ce test en pratique clinique. A noter également la survenue de problèmes de stabilité des réactifs et de rupture de stocks des réactifs en France.

Au total, le test TR n'a pas d'intérêt en pratique clinique dans le diagnostic biologique de la leptospirose.

**Pour conclure**, tous les tests évalués présentent des inconvénients ou des insuffisances (performances diagnostiques non optimales, délais parfois longs de rendu des résultats, difficultés liées aux conditions de réalisation, tests non utilisables à toutes les phases de la maladie).

Les conclusions de la HAS s'appuient donc sur un faisceau d'arguments prenant en compte les caractéristiques des tests mais aussi les données cliniques.

Sur cette base, deux des tests évalués trouvent leur place dans la stratégie diagnostique de la leptospirose :

- La PCR en temps réel pour la première semaine de la maladie. La technique présente une excellente spécificité, son résultat est rapide ce qui est très important pour une maladie comme leptospirose. C'est le seul test biologique utilisable en pratique clinique pendant la première semaine de la maladie, la culture bactérienne n'étant pas adaptée en raison de son délai de réalisation trop long. Plusieurs laboratoires ont déjà l'expérience de son utilisation ;
- L'ELISA IgM en phase immune de la maladie. Ce test est accessible à tout laboratoire, rapide à réaliser et permet au clinicien d'étayer sa décision pour la prise en charge d'un patient suspecté de leptospirose. Il doit être confirmé par la MAT car ses performances diagnostiques ne sont pas optimales.

Le test MAT reste le test de référence utilisable seulement par quelques laboratoires experts, comme par exemple le CNR des Leptospores.

Par ailleurs, trois tests évalués n'ont pas leur place dans la stratégie diagnostique actuelle de la leptospirose en France :

- La PCR (non en temps réel) qui est une étape de développement technologique aujourd'hui dépassée avec la mise au point de la PCR en temps réel ;
- Les tests unitaires à lecture visuelle potentiellement utilisables dans les situations sans autre alternatives mais pour lesquels il ne semble pas y avoir d'expertise en France et qui peuvent être remplacés par le test ELISA IgM ;

- Le test TR qui présente des performances diagnostiques insuffisantes, de plus, l'utilisation de ce test a été marqué par une instabilité de certains réactifs et un retrait de lots à l'origine d'une rupture de stocks.

---

## ANNEXES

---

### I. METHODE GENERALE D'ELABORATION D'UN RAPPORT D'EVALUATION D'UNE TECHNOLOGIE DE SANTE

L'évaluation des technologies de santé est, selon l'*Institute of Medicine* (1985) « une démarche dont l'objet est d'examiner les conséquences à court et à long terme, de l'usage d'une technologie particulière sur les individus et sur la société dans son ensemble. Elle prend en compte la sécurité, l'efficacité expérimentale et pragmatique d'une technologie, ainsi que son impact économique (coût, rapport coûts/résultats et implications budgétaires) ; elle analyse également ses implications sociales et éthiques et met à jour les points à approfondir en terme de direction de recherche ». L'objectif est d'éclairer la décision publique par un avis argumenté prenant en compte les différentes dimensions du sujet.

#### **Analyse critique des données identifiées de la littérature scientifique**

Une recherche documentaire méthodique est effectuée d'abord par interrogation systématique des bases de données bibliographiques médicales et scientifiques sur une période adaptée à chaque thème. En fonction du thème traité, des bases de données spécifiques peuvent être consultées. Une étape commune à toutes les études consiste à rechercher systématiquement les recommandations pour la pratique clinique, conférences de consensus, revues systématiques, méta-analyses et autres travaux d'évaluation déjà publiés au plan national et international. Tous les sites Internet utiles (agences gouvernementales, organisations professionnelles, etc.) sont consultés. Les documents non accessibles par les circuits conventionnels de diffusion de l'information (littérature grise) sont recherchés par tous les moyens disponibles. Par ailleurs, les textes législatifs et réglementaires pouvant avoir un rapport avec le thème sont consultés. Les recherches initiales sont mises à jour jusqu'au terme du projet. L'examen des références citées dans les articles analysés permet de sélectionner des articles non identifiés lors de l'interrogation des différentes sources d'information. Enfin, les membres des groupes de travail et de lecture peuvent transmettre des articles de leur propre fonds bibliographique. Le paragraphe « Recherche documentaire » présente le détail des sources consultées ainsi que la stratégie de recherche propres à ce rapport d'évaluation.

#### **La position argumentée de professionnels de santé**

Les organisations professionnelles sont consultées pour connaître les travaux réalisés sur le sujet et pour proposer une liste d'experts de la technique à évaluer, des autres options thérapeutiques ou de la pathologie étudiée. Le groupe de travail est composé d'une quinzaine de professionnels de différentes spécialités, de différents modes d'exercice (public et libéral, universitaire et non-universitaire) et de différentes localisations géographiques. Chaque membre du groupe de travail a rempli une déclaration publique d'intérêts qui a été examinée par la HAS. En cas d'intérêts déclarés, la HAS a estimé qu'ils étaient compatibles avec participation des personnes concernées, au groupe de travail, eu égard à leur expertise par rapport au sujet. La déclaration publique d'intérêts de chacun des membres est mise en ligne sur le site internet de la HAS ; le cas échéant, les intérêts déclarés pouvant avoir un lien avec le sujet évalué, sont présentés dans le rapport. Le groupe de travail se réunit en général une fois. Un rapport présentant la problématique, le champ, la méthode et l'analyse critique de la littérature est envoyé aux membres du groupe de travail avec un questionnaire pour recueillir leur position de manière formalisée et standardisée avant la réunion. Lors de la réunion, les membres du groupe de travail discutent sur la base de leur expertise et de l'analyse de la littérature des différents critères permettant d'estimer la validité de la technique (ratio efficacité/sécurité, indications, place dans la stratégie de prise en charge, conditions de réalisation, ...) et aboutissent, le cas échéant, à un consensus. La réunion est menée d'une manière structurée en

s'appuyant sur une liste de questions. Le compte rendu de la réunion (discussion et position finale) est rédigé par la HAS et envoyé aux membres du groupe de travail pour validation.

Un chef de projet de la HAS coordonne l'ensemble du travail et en assure l'encadrement méthodologique.

Au vu de l'analyse critique de la littérature identifiée et de la position argumentée des professionnels de santé du groupe de travail, le Collège de la HAS, après examen et validation du dossier par la Commission Nationale d'Evaluation des Dispositifs Médicaux et des Technologies de Santé (CNEDiMTS) conclut quant à la validité de la technologie de santé étudiée en précisant selon les cas, ses indications, sa place dans la stratégie de prise en charge des patients, les conditions de sa bonne réalisation, les conséquences de son introduction dans le système de soins. La composition du Collège de la HAS et de la CNEDiMTS sont présents sur le site internet de la HAS.

## II. QUESTIONNAIRE ENVOYÉ AU GROUPE DE TRAVAIL

### PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DES DIFFERENTS TESTS BIOLOGIQUES

#### II.1 Test ELISA IgM

1/ Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant le test ELISA IgM pour le diagnostic de la leptospirose ?

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités dans ce rapport? Si oui, précisez.

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quels sont les articles manquants ou redondants.

Que nous conseillez-vous pour améliorer la lisibilité du rapport pour cette partie?

2/ Etes-vous d'accord avec les affirmations suivantes ? :

« Le test ELISA IgM présente une sensibilité et une spécificité suffisantes pour être utilisé en pratique clinique courante ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total								Accord total

« Le test ELISA IgM est un test indiqué chez des patients suspectés de leptospirose et qui présentent de la fièvre depuis au moins 6 jours ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total								Accord total

«Le test ELISA IgM doit toujours être confirmé par le test MAT »(en raison de performances non suffisantes dans certaines situations). Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total							Accord total	

« Le test ELISA IgM présente des performances non optimales dans le diagnostic de leptospirose, mais peut avoir un intérêt dans certaines situations du fait de ses conditions de réalisation plus simples et sa plus grande accessibilité ». Si oui, quelles sont ces situations.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total							Accord total	

3/ Estimez-vous que le test ELISA IgM est applicable dans les conditions de votre exercice (réactifs, équipement, aménagement, personnel, éloignement du laboratoire, etc.)? Argumentez votre réponse.

Avez-vous d'autres remarques au sujet du test ELISA IgM ?

## II.2 Test TR (macro-agglutination avec antigène thermorésistant)

1/ Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant le test TR pour le diagnostic de la leptospirose ?

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités dans ce rapport? Si oui, précisez.

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quels sont les articles manquants ou redondants.

Que nous conseillez-vous pour améliorer la lisibilité du rapport pour cette partie?

2/ Etes-vous d'accord avec l'affirmation suivante ? :

« Le test TR présente une sensibilité et une spécificité insuffisantes pour être utilisé en pratique clinique courante en France ».

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

Si oui, pour quelle raison ? (performances diagnostiques insuffisantes ? défaut de détection des sérovars répandus en France ? autres ?)

.....

Existe-t-il néanmoins des situations où la réalisation de ce test présente un intérêt ?  
Lesquelles et pourquoi ?

### II.3 Tests unitaires à lecture visuelle (recherche d'IgM)

1/ Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant les tests unitaires à lecture visuelle pour le diagnostic de la leptospirose ?

—

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités dans ce rapport ? Si oui précisez.

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes ? Si non, précisez quels sont les articles manquants ou redondants.

Que nous conseillez-vous pour améliorer la lisibilité du rapport pour cette partie ?

2/ Êtes-vous d'accord avec les affirmations suivantes ? :

« Les tests unitaires à lecture visuelle présentent une sensibilité et une spécificité suffisantes pour être utilisés en pratique clinique ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

« Les tests unitaires à lecture visuelle sont indiqués chez des patients suspectés de leptospirose qui présentent de la fièvre depuis au moins 6 jours ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

« Les tests unitaires à lecture visuelle ont démontré leurs performances dans les zones endémiques de leptospirose, comme les territoires d'outre-mer ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

« Il n'est pas possible de recommander l'utilisation des tests unitaires à lecture visuelle dans des zones non endémiques comme la France métropolitaine, en raison de l'absence d'études de leurs performances dans ces conditions ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

« Les tests unitaires à lecture visuelle doivent être toujours confirmés par le test MAT » (en raison des performances insuffisantes dans certaines situations). Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

« Les tests unitaires à lecture visuelle présentent des performances non optimales dans le diagnostic de leptospirose, mais peuvent avoir un intérêt dans certaines situations du fait de leurs conditions de réalisation plus simples et leur plus grande accessibilité ». Si oui, quelles sont ces situations.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

3/ Estimez-vous que les tests unitaires à lecture visuelle sont applicables dans les conditions de votre exercice (réactifs, équipement, aménagement, personnel, éloignement du laboratoire, etc.) ? Argumentez votre réponse.

Dans votre pratique, utilisez-vous des tests unitaires à lecture visuelle pour le diagnostic de leptospirose ? Si oui, dans quelles circonstances ?

Avez-vous d'autres remarques au sujet des tests unitaires à lecture visuelle ?



**II.4 Technique de PCR (échantillon sanguin, hors PCR en temps réel, traité au chapitre suivant)**

1/ Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant le test PCR pour le diagnostic de la leptospirose ?

Existe-t-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités ? Si oui précisez.

Estimez-vous que l'analyse, présentée dans le rapport, reflète les données de la littérature existantes ? Si non, précisez quels sont les articles manquants ou redondants.

Que nous conseillez-vous pour améliorer la lisibilité du rapport pour cette partie ?

2/ Êtes-vous d'accord avec l'affirmation suivante ?

« La technique de PCR présente une sensibilité et une spécificité insuffisantes pour être utilisée en pratique clinique ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total								Accord total

« Aujourd'hui, cette modalité de PCR est abandonnée et remplacée en pratique courante par la technique PCR en temps réel ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total								Accord total

3/ Existe-t-il des situations où la réalisation de ce test présente un intérêt ? Lesquelles et pourquoi ?

Avez-vous d'autres remarques au sujet de la technique de PCR ?

.....

## II.5 Test de PCR en temps réel (échantillon sanguin)

1/ Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant le test de PCR en temps réel pour le diagnostic de la leptospirose ?

**Existe-t-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités ? Si oui précisez.**

**Estimez-vous que l'analyse, présentée dans le rapport, reflète les données de la littérature existantes ? Si non, précisez quels sont les articles manquants ou redondants.**

**Que nous conseillez-vous pour améliorer la lisibilité du rapport pour cette partie ?**

2/ Êtes-vous d'accord avec les affirmations suivantes ?

« La littérature scientifique sur les performances du test de PCR en temps réel est de faible volume et de très faible niveau de preuve ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total								Accord total

.....

« Des études cliniques supplémentaires portant sur les performances de ce test sont nécessaires ».

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total								Accord total

Si oui, quelles seront les principales caractéristiques de ces études ? (plus grand nombre de patients ? études prospectives ? patients ou échantillons particuliers ?)

.....

« Le test de PCR en temps réel présente des performances élevées dans les études analysées ». Si non, argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

« En raison de l'absence d'autre test pour le diagnostic biologique de la leptospirose durant la première semaine à partir du début de la fièvre, le test de PCR en temps réel peut être utile en pratique courante ». Si non, argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

« Le test de PCR en temps réel positif ne nécessite pas de confirmation par un autre test ». Si non, argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

« Le test de PCR en temps réel est à réaliser chez des patients suspectés de leptospirose qui présentent de la fièvre depuis moins de 10 jours ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

« **Au-delà de 10 jours** à partir du début de la fièvre, la réalisation de PCR en temps réel sur échantillon sanguin **n'est plus** justifiée ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

« En cas de traitement par **antibiotiques** préalable au prélèvement et en cas de **test PCR en temps réel négatif**, il convient de poursuivre l'exploration par un dosage sérologique ultérieur ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total							Accord total	

.....

3/ Quelles sont les conditions indispensables à la bonne réalisation du test PCR en temps réel (équipement du laboratoire, organisation particulière, qualification du personnel) ?

.....

**Utilisez-vous le test PCR en temps réel dans votre pratique? Argumentez.**

.....

**II.6 Toutes les questions précédentes portent sur des échantillons sanguins. Êtes-vous d'accord sur le fait que, pour les échantillons d'urine, il manque de données pour conclure sur les performances diagnostiques du test PCR en temps réel ? Argumentez votre réponse.**

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total							Accord total	

.....

Avez-vous d'autres remarques au sujet du test PCR en temps réel ?

STRATEGIE DIAGNOSTIQUE
------------------------

**Selon vous, chez un patient suspecté de leptospirose, les tests à réaliser en fonction du nombre de jours écoulés depuis le début de la fièvre sont :**

**(Mettre par exemple – oui en règle générale – non – discutable dans des situations particulières et lesquelles).**

TESTS/JOURS DE	MOINS DE 6 JOURS	DE 6 A 10 JOURS	PLUS DE 10	REMARQUES
FIEVRE			JOURS	
ELISA IgM				
TR				
TESTS UNITAIRES				
MAT				
PCR				
PCR EN TEMPS REEL				

**La confirmation sérologique de la leptospirose prévoit deux prélèvements à 10-14 jours d'intervalle, car un dosage positif peut représenter une « cicatrice sérologique ».**

**Est-ce que ce double prélèvement est réalisé en pratique clinique ? Si oui, est-ce systématique ?**

.....

**Est-ce que ce double prélèvement modifie la prise en charge du patient suspecté de leptospirose (ou est-il surtout utilisé dans le suivi épidémiologique) ?**

.....

**Pensez-vous que cette pratique est toujours d'actualité ?**

---

## REFERENCES

---

1. Haute Autorité de Santé. Diagnostic biologique de la leptospirose - Note de cadrage. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2010.
2. Abgueguen P, Pichard E. Leptospiroses. *Encycl Méd Chir Mal Infect* 2006;4-1161.
3. Organisation mondiale de la Santé. Guide pour la lutte contre la leptospirose. Genève: OMS; 1987.
4. Houpikian P, Perolat P, Baranton G, Brouqui P. Leptospiroses. *Encycl Méd Chir Mal Infect* 2002;8-039-Q-10.
5. Mazzonelli J, Dorta de Mazzonelli G, Mailloux M. Antigène thermorésistant chez les leptospires. *Ann Microbiol* 1974;125(1):125-6.
6. Centre National de Référence des Leptospiroses. Rapport d'activité année 2008. Paris: Institut Pasteur; 2008.
7. Institut de veille sanitaire, Hirschauer C, Daudens E, Coudert C, Frogier E, Melix G, *et al.* Épidémiologie de la leptospirose en Polynésie française de 2006 à 2008. *BEH* 2009;48(508):11.
8. Centre National de Référence des Leptospiroses. Epidémiologie de la Leptospirose en France en 2008. [consulté en 09/2010].
9. Perolat P. *Leptospira*. Cours de Bactériologie médicale 2003. <<http://www.microbes-edu.org/etudiant/Leptospira.html>> [consulté en 02/2011].
10. Aubry P. Leptospiroses - Actualités 2008. <<http://medecinetropicale.free.fr/cours/leptospirose.htm>> [consulté en 09/2010].
11. World Health Organization. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. 2003. <[http://www.who.int/csr/don/en/WHO\\_CD\\_S\\_CSR\\_EPH\\_2002.23.pdf](http://www.who.int/csr/don/en/WHO_CD_S_CSR_EPH_2002.23.pdf)> [consulté en 09/2010].
12. Société française de microbiologie. Rémic. Référentiel en microbiologie médicale. Paris: SFM; 2010.
13. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001;14(2):296-326.
14. 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.
15. Chalayon P, Chanket P, Boonchawalit T, Chattanadee S, Srimanote P, Kalambaheti T. Leptospirosis serodiagnosis by ELISA based on recombinant outer membrane protein. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2011.
16. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Recommandations d'utilisation des tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle. Saint-Denis: Afssaps; 2009.
17. Slack A, Symonds M, Dohnt M, Harris C, Brookes D, Smythe L. Evaluation of a modified Taqman assay detecting pathogenic *Leptospira* spp. against culture and *Leptospira*-specific IgM enzyme-linked immunosorbent assay in a clinical environment. *Diagn Microbiol Infect Dis*

- 2007;57(4):361-6.
18. Stoddard RA, Gee JE, Wilkins PP, McCaustland K, Hoffmaster AR. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the *lipL32* gene. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;64(3):247-55.
19. Mérien F, Portnoi D, Bourhy P, Charavay F, Berlioz-Arthaud A, Baranton G. A rapid and quantitative method for the detection of *Leptospira* species in human leptospirosis. *FEMS Microbiol Lett* 2005;249(1):139-47.
20. Goarant C, Laumond-Barny S, Perez J, Vernel-Pauillac F, Chanteau S, Guigon A. Outbreak of leptospirosis in New Caledonia: diagnosis issues and burden of disease. *Trop Med Int Health* 2009;14(8):926-9.
21. Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie. Rapport technique. Nouméa: Institut Pasteur; 2009.
22. Haute Autorité de Santé. Élaboration de recommandations de bonne pratique. Méthode « Recommandations par consensus formalisé ». Saint-Denis La Plaine: HAS; 2010.
23. Trombert-Paolantoni S, Thomas P, Hermet F, Clairet V, Litou N, Maury L. Dépistage de la Leptospirose : performance de la trousse Sérion Elisa *classic Leptospira* IgM®. *Pathol Biol* 2009;58(1):95-9.
24. Ooteman MC, Vago AR, Koury MC. Evaluation of MAT, IgM ELISA and PCR methods for the diagnosis of human leptospirosis. *J Microbiol Methods* 2006;65(2):247-57.
25. de Abreu Fonseca C, de Freitas TV, Romero E.C., Spinosa C, Arroyo Sanches MC, da Silva MV, *et al.* Polymerase chain reaction in comparison with serological tests for early diagnosis of human leptospirosis. *Trop Med Int Health* 2006;11(11):1699-707.
26. Tansuphasiri U, Deepradit S, Phulsuksombati D, Tangkanakul W. Two simple immunoassays using endemic leptospiral antigens for serodiagnosis of human leptospirosis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005;36(2):302-11.
27. Vitale G, La Russa C, Galioto A, Chifari N, Mocciaro C, Caruso R, *et al.* Evaluation of an IgM-ELISA test for the diagnosis of human leptospirosis. *New Microbiol* 2004;27(2):149-54.
28. Bajani MD, Ashford DA, Bragg SL, Woods CW, Aye T, Spiegel RA, *et al.* Evaluation of four commercially available rapid serologic tests for diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol* 2003;41(2):803-9.
29. Vijayachari P, Sugunan AP, Sehgal SC. Evaluation of Lepto Dri Dot as a rapid test for the diagnosis of leptospirosis. *Epidemiol Infect* 2002;129(3):617-21.
30. Levett PN, Branch SL. Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assay methods for detection of immunoglobulin M antibodies in acute leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg* 2002;66(6):745-8.
31. Yersin C, Bovet P, Smits HL, Perolat P. Field evaluation of a one-step dipstick assay for the diagnosis of human leptospirosis in the Seychelles. *Trop Med Int Health* 1999;4(1):38-45.
32. Winslow WE, Merry DJ, Pirc ML, Devine PL. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection. *J Clin Microbiol* 1997;35(8):1938-42.

33. Institut de veille sanitaire, Picardeau M, Cornet M, Morel V, Sertour N, Chaumet D, *et al.* Impact du changement de nomenclature médicale sur le diagnostic et la surveillance de la leptospirose en France. BEH 2008;37(329):31.
34. Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, Berlioz-Arthaud A. Evaluation de réactifs pour le diagnostic sérologique de la Leptospirose. Atelier EPINET (Guam, Décembre 2001). Nouméa: Réseau international des instituts Pasteur et instituts associés; 2002.
35. Brandão AP, Camargo ED, da Silva ED, Silva MV, Abrão RV. Macroscopic agglutination test for rapid diagnosis of human leptospirosis. J Clin Microbiol 1998;36(11):3138-42.
36. Cohen AL, Dowell SF, Nisalak A, Mammen MP, Petkanchanapong W, Fisk TL. Rapid diagnostic tests for dengue and leptospirosis: antibody detection is insensitive at presentation. Trop Med Int Health 2007;12(1):47-51.
37. Sekhar WY, Soo EH, Gopalakrishnan V, Devi S. Leptospirosis in Kuala Lumpur and the comparative evaluation of two rapid commercial diagnostic kits against the MAT test for the detection of antibodies to *Leptospira interrogans*. Singapore Med J 2000;41(8):370-5.
38. Djadid ND, Ganji ZF, Gouya MM, Rezvani M, Zakeri S. A simple and rapid nested polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism technique for differentiation of pathogenic and nonpathogenic *Leptospira* spp. Diagn Microbiol Infect Dis 2009;63(3):251-6.
39. Kositamont U, Rugsasuk S, Leelaporn A, Phulsuksombati D, Tantitanawat S, Naigowit P. Detection and differentiation between pathogenic and saprophytic *Leptospira* spp. by multiplex polymerase chain reaction. Diagn Microbiol Infect Dis 2007;57:117-22.
40. Merien F, Baranton G, Perolat P. Comparison of polymerase chain reaction with microagglutination test and culture for diagnosis of leptospirosis. J Infect Dis 1995;172(1):281-5.
41. Brown PD, Gravekamp C, Carrington DG, van de Kemp H, Hartskeerl RA, Edwards CN, *et al.* Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis. J Med Microbiol 1995;43(2):110-4.
42. Bal AE, Gravekamp C, Hartskeerl RA, De Meza-Brewster J, Korver H, Terpstra WJ. Detection of leptospires in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. J Clin Microbiol 1994;32(8):1894-8.
43. Mérien F, Amouriaux P, Perolat P, Baranton G, Saint Girons I. Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples. J Clin Microbiol 1992;30(9):2219-24.
44. Ahmed A, Engelberts MF, Boer KR, Ahmed N, Hartskeerl RA. Development and validation of a real-time PCR for detection of pathogenic *Leptospira* species in clinical materials. PLoS One 2009;4(9):e7093.
45. Thaipadunpanit J, Chierakul W, Wuthiekanun V, Limmathurotsakul D, Amornchai P, Boonslip S, *et al.* Diagnostic accuracy of real-time PCR assays targeting 16S rRNA and *lipL32* genes for human leptospirosis in Thailand: a case-control study. PLoS One 2011;6(1):e16236.
46. British Infection Society, Johnston V, Stockley JM, Dockrell D, Warrell D, Bailey R, *et al.* Fever in returned travellers presenting in the United Kingdom: recommendations for investigation and initial management. J Infect 2009;59(1):1-18.





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

N° ISBN : 978-2-11-128499-9