

La feuille de route vise à proposer au Collège une orientation méthodologique pour répondre à une demande d'évaluation inscrite au programme de travail de la HAS. Cette proposition est fondée sur une analyse préliminaire (sur la base d'une faisabilité lorsqu'elle a eu lieu : demandes issues des organismes professionnels ou des institutionnels) ; elle est donc établie avant toute recherche documentaire structurée. Cette orientation sera à confirmer lors du démarrage de l'évaluation (phase de cadrage le cas échéant)

Collège d'orientation et d'information : 19 mars 2015

Demandeur : Union nationale des caisses d'assurance maladie

Objectif : Modification de la Nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de recherche du *Treponema pallidum* (bactérie responsable de la syphilis)

1. Saisine

Il s'agit d'une demande de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie (UNCAM) adressée en juin 2014 ; elle s'intègre au programme de travail de la HAS. L'UNCAM souhaite modifier la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) pour les actes de recherche du *Treponema pallidum* (bactérie responsable de la syphilis).

Cette demande concerne les tests d'examen direct et les tests d'examen indirect (cf. Tableau 1) et consiste à :

- supprimer deux actes d'examen direct présentés comme obsolètes ;
- pour les examens indirects (sérologie), remplacer l'algorithme actuel par un nouveau proposé par l'UNCAM et issu d'une proposition du Centre national de référence (CNR) de la syphilis (cf. schémas 1 et 2).

2. Étude de faisabilité

S'agissant d'une demande de l'UNCAM, une telle étude n'a pas eu lieu. A réception de la demande, une première analyse du sujet a néanmoins été réalisée :

Analyse de la demande

- Concernant la demande de suppression de la recherche du Tréponème par immunofluorescence, l'argument avancé est l'impossibilité de se fournir en réactifs et de fait l'arrêt de l'utilisation de cette technique en France.
- La deuxième proposition est la suppression de la recherche de spirochètes par examen direct extemporané ou coloration. Il est indiqué dans la demande que le diagnostic direct par microscope à fond noir est une méthode difficilement accréditable selon les normes ISO 15189 car la lecture est subjective et il existe un manque de contrôle qualité¹.
- Les propositions concernant les modifications des tests sérologiques (qui sont les tests les plus utilisés pour rechercher une syphilis) n'ont pas été argumentées dans le texte, et les références permettant de justifier ces modifications ne sont pas indiquées dans le corps du texte (elles sont juste listées à la fin du document). La principale modification proposée est le remplacement de deux examens manuels (un test tréponémique [TT] et un test non tréponémique [TNT]) - tel qu'actuellement spécifié dans la NABM - par un seul TT réalisé par une technique automatisable, sur Ig

¹ Cette demande n'a plus lieu d'être puisque suite à une modification de la NABM intervenue en août 2014, cet acte a été supprimé au cours des réarrangements de la NABM réalisés pour modifier les actes concernant la leptospirose.

totales. En plus des enjeux de performances diagnostiques, il semble y avoir d'autres enjeux d'ordre pratique (facilité de réalisation des tests automatisables) et économique (de manière générale dans la NABM [*i.e.*, quelle que soit ce qui est recherché], les techniques automatiques bénéficient d'une meilleure cotation que les techniques manuelles).

Recherche préliminaire de la littérature

Une telle recherche a été réalisée et a d'abord permis d'identifier un rapport de la HAS publié en 2007 et intitulé « Evaluation *a priori* du dépistage de la syphilis en France ». Dans un chapitre de ce rapport consacré aux tests de dépistage de la syphilis, il est mentionné que « Les ELISA ont une sensibilité supérieure au TPHA (TT manuel) et au VDRL (TNT) réalisés séparément. Cette sensibilité est comparable à celle de l'approche combinée TPHA/VDRL. Le caractère automatisable de l'ELISA permet d'envisager une économie d'échelle si le test est réalisé dans les laboratoires ayant un recrutement important. Les ELISA ont également l'avantage de permettre la mise en place de procédure d'assurance qualité ».

Par ailleurs, cette recherche préliminaire a abouti à l'identification de quelques recommandations de bonne pratique dont les préconisations sont homogènes avec la proposition de juin 2014 de l'UNCAM et du CNR. Il est à noter que la qualité méthodologique de ces recommandations semble faible.

Enfin, cette recherche n'a pas permis d'identifier des données originales sur les performances diagnostiques des TT automatisables *versus* la combinaison d'un TT et d'un TNT.

Réunion avec le CNR syphilis

Afin d'approfondir la compréhension de la demande et d'en cerner mieux les contours, une réunion a été organisée avec Mme Bianchi du CNR syphilis, à l'origine de la demande. Au cours de cette réunion, les limites de l'algorithme actuel ont été exposées (cf. compte rendu de la réunion annexe 1). Mme Bianchi a argumenté, point par point, toutes les modifications contenues dans l'algorithme proposé. Les principaux points de l'argumentation sont les suivants :

- dans les laboratoires utilisant un TT automatique par une technique ELISA ou apparentée, aucun cas de résultat faussement négatif avec cette technique (c'est-à-dire « rattrapée » par un TNT manuel réalisé ensuite) n'a été signalé ;
- sur le plan pratique, la réalisation d'un TT par une technique ELISA ou apparentée présente l'avantage d'une facilité de réalisation due à l'automatisation, contrairement aux TNT qui représentent un travail fastidieux et en particulier que la lecture visuelle des TNT est très difficile.

3. Problématique émergeant de la première analyse des données

L'algorithme proposé dans la demande prévoit principalement le remplacement de l'association systématique d'un test tréponémique (TT) et d'un test non tréponémique (TNT), par un seul TT sur Ig totales avec une méthode reproductible et automatisable ; il s'agit des techniques ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) ou apparentées comme l'EIA (*Enzyme ImmunoAssays*) ou la CMIA (*Chemiluminescent Magnetic microparticle ImmunoAssay*)².

L'obligation de réaliser conjointement un TT et TNT est une exception française. Aux Etats-Unis, par exemple, pendant très longtemps le dépistage de la syphilis était basé sur la réalisation d'un TNT seul. En 2006, le *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), du fait de la diffusion des techniques ELISA aux Etats-Unis, a modifié ses recommandations en admettant la réalisation d'un TT automatisable seul, comme premier test de dépistage.

L'enjeu de la demande est donc de s'assurer que le changement proposé n'engendre pas une baisse dans la qualité de la détection qui aboutirait à méconnaître des cas de patients infectés (apparition de faux-négatifs sur la base d'un TT automatisable seul).

Pour répondre à cette question, les éléments disponibles semblent à ce stade être :

- une recherche préliminaire n'ayant pas permis d'identifier de nouvelles données originales depuis le rapport de la HAS 2007, qui avait conclu que les deux options étaient comparables en matière de performances diagnostiques ;
- selon le CNR, le fait que l'ajout d'un TNT manuel suite à un TT automatisable ne permet pas d'identifier de patients qui n'auraient pas été diagnostiqués ;
- une recherche préliminaire ayant abouti à identifier quelques recommandations de bonne pratique dont les préconisations sont homogènes avec la proposition de l'UNCAM concernant la réalisation d'un TT automatisable seul ; ces recommandations apparaissant cependant de faible qualité méthodologique.

4. Méthode proposée pour traiter la demande

A ce stade de l'analyse (avec probablement une absence de données originales mais une homogénéité avec les recommandations de bonne pratique), il est proposé au Collège de répondre à la demande de l'UNCAM-CNR, dont la question principale est le passage d'un couple TNT-TT à un TT automatisable seul, avec la méthode suivante :

² À l'exclusion des tests rapides d'orientation diagnostique (*point of care*).

- réalisation d'une analyse de cohérence entre la demande et les recommandations de bonne pratique identifiées par une recherche exhaustive ;
- recueil de quelques expériences de terrain :
 - données de pratiques de quelques laboratoires de biologie médicale ayant une expérience des TT automatisables,
 - données recueillies par l'ANSM lors de la réalisation de ses contrôles de qualité,
 - technique(s) choisie(s) par l'EFS dans la qualification des dons de sang ;
- compilation de ces éléments avec le rappel des conclusions du rapport de la HAS 2007, dans un argumentaire court soumis au Collège pour validation.

5. Actions envisagées en pratique pour la conduite de l'évaluation

- Recherche exhaustive des recommandations de bonne pratique (en cours).
- Analyse de ces recommandations (qualité méthodologique et concordance avec la demande) en vue de la validation de la méthode proposée et de la production de l'avis (mars 2015).
- Recueil des expériences de terrain (mars 2015).
- Rédaction de l'argumentaire puis de la proposition d'avis (mars 2015).
- Soumission au Collège pour validation (avril 2015).

Tableau 1 : Propositions de suppression, modification et création de libellés.

Code de l'acte (examen itératif)	Libellé de l'acte	Proposition de modification
5291	Recherche d'une espèce microbienne par immunofluorescence sur prescription explicite (<i>Pneumocystis</i> , <i>Treponema</i> , <i>Legionella</i> , ...)	Suppression des termes <i>Treponema</i> et <i>Legionella</i>
0246	Recherche de spirochètes par examen direct extemporané ou coloration ou immunofluorescence	Suppression
1326	Dépistage par deux réactions obligatoires dont au moins une de chaque groupe ! Groupe 1 : - VDRL Latex - VDRL coloré - VDRL charbon Groupe 2 : - TPHA - EIA - FTA abs 1327 En cas de réaction positive ou dissociée, un titrage doit être pratiqué sur chaque groupe, soit pour les deux titrages 1250 Test de confirmation des IgG par immuno-empreinte ou immuno-blot IgG 1330 En cas de sérologie positive, recherche des IgM 1251 Test de confirmation des IgM par immuno-empreinte ou immuno-blot IgM	Remplacé par : 1256 Test tréponomique (TT) - Recherche des Ig totaux par EIA La prise en charge de cet acte est limitée au dépistage de la syphilis. Si le test 1256 est négatif, il convient de ne pas réaliser d'autre test. 1257 En cas d'acte 1256 positif, Test non tréponomique (TNT) avec titrage (VDRL, RPR,...) Si le test 1257 est négatif, il peut s'agir d'un début de conversion. Aussi le biologiste médical réalisera un nouveau TNT (acte 1258) dans un délai compatible avec la détection d'une éventuelle séro-conversion. 1258 En cas de suspicion de séroconversion, nouveau TNT 1259 En cas de suivi thérapeutique, TNT avec titrage : examen précédent + examen itératif La prise en charge de l'acte 1259 est limitée aux suivis sérologiques après traitement des sujets atteints. En cas de syphilis précoce, contrôle 3, 6 et 12 mois, plus fréquemment chez les patients VIH positifs et la femme enceinte. En cas de syphilis tardive, contrôle 6, 12 et 24 mois. Une négatation, sinon une diminution du titre de quatre fois des Ac du TNT confirme une guérison. Une augmentation par quatre du titre des Ac du TNT permet de poser le diagnostic d'une recontamination. 1250 <i>Western Blot</i> ou Immuno Blot Ig G Le biologiste réalise systématiquement l'examen 1250 si les actes 1256, 1257 et 1258 sont positifs chez une femme enceinte. 1330 Recherche des Ig M chez l'enfant par EIA La prise en charge de l'acte 1330 est limitée à la recherche chez l'enfant d'une syphilis congénitale. Si l'acte 1330 est positif, confirmation par l'acte 1251. 1251 <i>Western Blot</i> ou Immunoblot Ig M Remarque HAS : les termes <i>Western Blot</i> et Immuno-empreinte sont des synonymes.

Figure 1 : Algorithme de diagnostic et de dépistage en vigueur

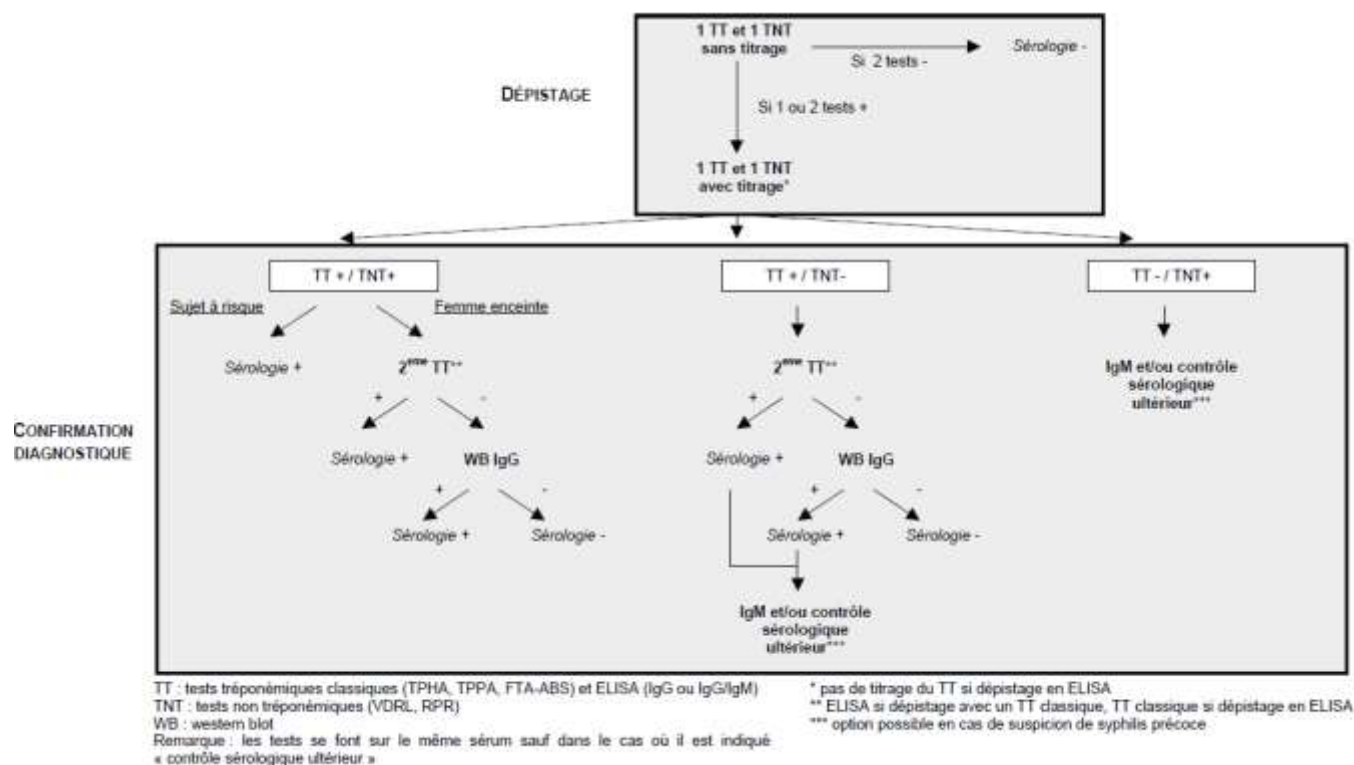
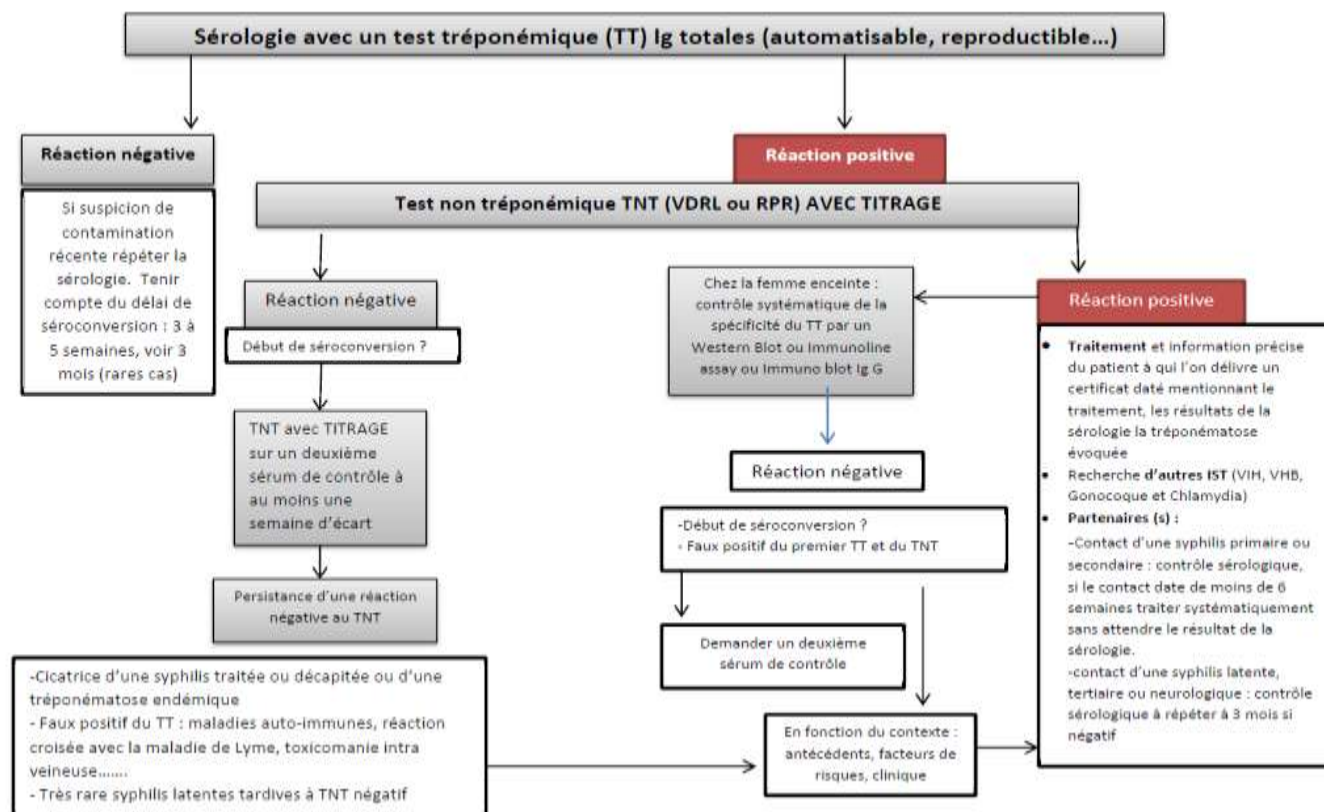


Figure 2 : Algorithme de diagnostic et de dépistage proposé



COMPTE RENDU

Titre : Révision de la nomenclature de dépistage et de diagnostic de la syphilis

Date : 07 janvier 2015

Participants :

- Michèle Morin-Surroca, Chef du service, Service d'évaluation des actes professionnels (SEAP)
 - Denis-Jean David, Adjoint au chef de service, SEAP
 - Nassim Brahmi, Chef de projet, SEAP
 - Anne Bianchi, CNR Syphilis
-

En introduction, il est rappelé que l'algorithme proposé dans la demande de l'UNCAM prévoit le remplacement de l'association systématique d'un test tréponémique (TT) et d'un test non tréponémique (TNT), par un seul TT sur Ig totales par une méthode reproductible et automatisable, il s'agit des techniques ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) ou apparentées comme l'EIA (*enzyme immunoassays*) ou la CMIA (*chemiluminescent magnetic microparticle immunoassay*)³. Mme Bianchi cite une étude, non encore publiée, réalisée par le CNR attestant que ces techniques automatisables possèdent une sensibilité plus élevée que les tests tréponémiques classiques, c'est-à-dire manuels, type TPHA.

Origines et limites de la nomenclature actuelle

Mme Bianchi rappelle que la stratégie française actuelle est une stratégie très précautionneuse. Elle était justifiée tant que les TT étaient réalisés par des techniques présentant des faux négatifs (techniques manuelles et premières techniques automatisables). La réalisation d'un TNT (sensible mais peu spécifique) avait alors pour but de « récupérer » ces faux négatifs. Actuellement, les TT automatisés présentent des sensibilités bien meilleures (voir ci-dessus). Lors de l'évaluation de la HAS en 2007, les trousse commercialisées ne permettaient pas d'attester de la supériorité des ELISA et apparentées par rapport aux TT classiques.

Aujourd'hui, Mme Bianchi constate qu'un nombre important de laboratoires, y compris dans les centres hospitaliers, ont choisi de réaliser le TT par une technique ELISA ou apparentées. Ces laboratoires lui signalent que les cas où le TNT, réalisé conformément à la NABM, permet de rattraper un diagnostic faussement négatif du TT ne se présentent plus, depuis que le TT est réalisé avec une technique automatisable (ELISA ou apparentées). Sur ce point des performances diagnostiques, la réalisation d'un TNT suite à un TT automatisable ne se justifierait donc plus.

Au sein du laboratoire départemental dont Mme Bianchi est responsable, les TT sont réalisés par des ELISA ou apparentées, les TNT ne sont plus réalisés systématiquement⁴.

Sur le plan pratique de la réalisation, Mme Bianchi signale que les techniques manuelles représentent un travail fastidieux, et en particulier que la lecture visuelle des TNT est très difficile. Ceci est d'autant plus vrai lorsque les laboratoires réalisent de grandes séries (risque plus élevé de conclure à tort à un résultat positif), ce qui arrive plus fréquemment compte-tenu de la concentration des laboratoires qui s'opère actuellement. Cette lecture requiert un temps technicien important.

Intérêt de l'algorithme proposé

Mme Bianchi précise qu'en dépistage il faut privilégier le test le plus sensible. Le choix de réaliser une recherche des Ig totaux est justifié par la sensibilité augmentée par rapport aux techniques recherchant soit des IgM, soit des IgG.

Selon Mme Bianchi, l'intérêt de l'algorithme proposé est de placer comme premier test de dépistage le test le plus sensible. Les techniques ELISA ou apparentées sont décrites comme très sensibles, elles présentent en plus des avantages pratiques de réalisation (du fait de l'automatisation). Le TNT, qui ne peut être fait que manuellement, est placé comme examen de confirmation, réservé aux rares cas où le TT est positif. La lecture se fera alors avec toute la vigilance qui est requise pour l'interprétation des tests manuels.

Par ailleurs, Mme Bianchi souligne que le processus d'accréditation est très exigeant en termes de maîtrise des pratiques d'où l'intérêt de passer à des techniques automatisables qui sont plus « facilement accréditables ».

³ À l'exclusion des tests rapides (TROD ou POC).

⁴ Ces examens ne sont pas facturés à l'Assurance maladie via la NABM.

Mme Bianchi précise que l'algorithme proposé permet de couvrir l'ensemble des situations de dépistage et toutes les populations pour le diagnostic. Ceci facilite donc également les pratiques des laboratoires.

Mme Bianchi souligne que cet algorithme est concordant avec les algorithmes proposés par les différentes recommandations internationales (européennes, américaines, anglaises.....). Il a été proposé à la HAS par l'UNCAM mais il a été réalisé en concertation avec le CNR et le docteur Michel Janier (service de dermatologie, Hôpital Saint-Louis, APHP).

Intérêt de l'accréditation et des contrôles de qualité portant sur les TT automatiques

Mme Bianchi précise qu'en matière de syphilis des contrôles de qualité biannuels sont diligentés. Les résultats rendus (comparatifs) par les organismes de contrôle permettent à chacun des laboratoires participants à ces contrôles de situer leur technique par rapport aux autres techniques disponibles et utilisées par les autres laboratoires, ce qui permet au biologiste le cas échéant d'opter pour une technique plus performante.

Sur le choix du *western blot* (WB) comme test de confirmation

Dans la proposition d'algorithme diagnostique, le WB figure lorsque, chez une femme enceinte, le 1^{er} (TT automatisable) et le 2nd (TNT) tests ont donné des résultats positifs. Mme Bianchi souligne que compte tenu de la difficulté d'annoncer une syphilis à une femme enceinte et des répercussions attendues notamment sur la vie privée de la patiente, il est préférable de confirmer la sérologie positive par un *western blot* sur un deuxième prélèvement. Si le résultat du *western blot* est négatif, le médecin pourra toujours faire le choix d'un traitement en expliquant qu'il s'agit d'un traitement « de sécurité ». Il est rappelé que compte-tenu de la faible prévalence de la syphilis, le nombre de cas dont il est question ici (femme enceinte avec un TT et un TNT positifs) est extrêmement faible.

Le *western blot* présente l'avantage de ne pas croiser avec les maladies auto-immunes pouvant être responsables des faux positifs des TT et des TNT.

La place de la PCR

L'examen direct par la PCR n'est pas présent dans la nomenclature actuelle ; il n'est pas non plus inclus dans la proposition.

Mme Bianchi précise en effet que la PCR n'a pas sa place dans une optique de dépistage/diagnostic de la syphilis à partir d'un prélèvement sanguin, qui est le sujet de la demande, puisque le tréponème ne se trouve pas dans le sang.

L'intérêt de la PCR se situe plus dans l'identification du tréponème dans les ulcérations. En effet, cet examen serait plus sensible que l'examen au microscope sur fond noir. La PCR pourrait également permettre de différencier une ulcération due à la syphilis, de celles dues à l'EBV ou à l'HSV, ce qui est difficile cliniquement. L'évaluation de l'intérêt de cet acte pourrait donc être réalisée dans le cadre de l'indication ulcération génitale, durant laquelle une PCR multiplex incluant le tréponème, pourrait être réalisée.

La PCR pourrait aussi avoir un intérêt dans les cas de syphilis néonatale et de neurosyphilis ; il s'agit là d'un examen de laboratoire spécialisé.

Sources de renseignements possibles

Au cours de la réunion, ont été évoquées plusieurs actions éventuelles à mener pour trouver d'autres informations :

- statistiques de quelques laboratoires avec une activité importante quant au pourcentage de patients diagnostiqués grâce au TNT manuel positif (après vérification sur un 2nd prélèvement que ce résultat n'était pas un faux positif) réalisé suite à un TT automatique négatif ;
- part des laboratoires pratiquant déjà un TT automatique en France (chiffre pouvant sans doute être connu via les contrôles de qualité réalisés par l'ANSM et les organismes indépendants) ;
- stratégie adoptée par les EFS pour rechercher la syphilis dans les poches de sang.