



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ARGUMENTAIRE

Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic de la leishmaniose

Juillet 2017

Cet argumentaire, réalisé en vue d'une prise en charge par l'Assurance
maladie obligatoire, est téléchargeable sur
www.has-sante.fr

Haute Autorité de Santé

Service communication - information

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

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

Résumé

Objectif

L'objectif de ce travail est d'évaluer la pertinence des propositions de l'Assurance maladie visant à modifier la liste des actes pris en charge pour le diagnostic et le suivi de la leishmaniose - recherche d'ADN *Leishmania* et recherche des anticorps sériques - en précisant leurs indications et les techniques utilisées. Les leishmanioses sont des parasitoses du système monocytes-macrophages dont l'agent pathogène est un protozoaire flagellé du genre *Leishmania*. Il s'agit d'une zoonose, transmise de vertébré à vertébré par un moucheron hématophage, le phlébotome.

Méthode

La méthode retenue est une procédure d'évaluation courte qui comprend :

- la réalisation d'une analyse critique de la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, méta-analyses et revues systématiques) identifiée par une recherche documentaire systématique puis sélectionnée sur des critères explicites ; ont ainsi été retenues deux méta-analyses et deux recommandations de bonne pratique ;
- le recueil de la position argumentée des organismes professionnels concernés par le sujet (biologie médicale et infectiologie) et du centre national de référence de cette parasitose ;
- une enquête auprès de laboratoires de biologie médicale utilisant la technique d'amplification génique (« PCR ») pour la recherche d'ADN *Leishmania* pour estimer le nombre de patients ayant bénéficié d'un diagnostic par amplification génique en France ces dernières années.

Conclusion

Cette évaluation rapporte une homogénéité entre la plupart des modifications proposées par le demandeur et les conclusions des méta-analyses et les positions professionnelles.

Au final, la HAS estime que :

- **La recherche d'ADN *Leishmania* par amplification génique (PCR) est indiquée :**
 - devant toute suspicion de leishmanioses (cutanée, cutanéomuqueuse et viscérale) afin de poser le diagnostic ;
 - dans le suivi des patients immunodéprimés ayant été atteints d'une forme viscérale.

Elle s'effectue sur prélèvement sanguin ou de moelle osseuse pour les cas de suspicion de forme viscérale et sur prélèvement de lésions des formes cutanées ou cutanéomuqueuses (biopsie, ponction, grattage, écouvillonnage...). Le résultat est quantitatif sur prélèvement sanguin et qualitatif pour tous les autres prélèvements. Le suivi des formes viscérales intervient environ tous les trois mois chez les patients immunodéprimés. La sérologie n'a pas d'utilité dans le suivi.

- **La recherche des anticorps sériques anti-*Leishmania* est indiquée dans le diagnostic des formes viscérales ou cutanéomuqueuses de leishmaniose.**

Les techniques sont l'immunofluorescence (IFI) ou la technique immunoenzymatique (EIA - « ELISA ») pour la recherche initiale, suivie en cas de résultat positif d'une confirmation par immunoprinte (Western-blot). La technique d'agglutination (AGG) n'est plus à utiliser en première ligne. La recherche des anticorps sériques n'a pas d'utilité dans le suivi.

La séquence de la recherche des anticorps sériques et de l'ADN n'est pas clairement établie pour les formes où ces deux examens sont retenus : forme viscérale et forme cutanéomuqueuse ; ils semblent néanmoins être réalisés concomitamment.

Table des matières

Résumé	3
Abréviations et acronymes	5
Introduction	6
1. Contexte	7
1.1 Source d'information.....	7
1.2 La leishmaniose.....	7
1.2.1 L'agent pathogène.....	7
1.2.2 Vecteurs, réservoirs du parasite, transmission.....	8
1.2.3 Le cycle	8
1.2.4 Données épidémiologiques et répartition géographique de la maladie.....	8
1.2.5 Éléments sur le traitement des leishmanioses	9
1.3 Techniques utilisées pour le diagnostic de la leishmaniose en France.....	9
1.3.1 Examen microscopique	9
1.3.2 Culture	9
1.3.3 Sérologie	9
1.3.4 Mise en évidence de l'ADN parasitaire.....	9
1.4 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie	10
2. Méthode d'évaluation	11
2.1 Champ et problématique	11
2.2 Recherche documentaire, sélection et analyse	11
2.2.1 Stratégie de recherche bibliographique et résultats	11
2.2.2 Sélection des documents identifiés	12
2.3 Recueil du point de vue des professionnels	14
2.3.1 Organismes consultés.....	14
2.3.2 Modalité de consultation.....	14
3. Résultats de l'évaluation	15
3.1 Estimation du nombre de recherches de <i>Leishmania</i> par amplification génique (« PCR ») réalisées en France.....	15
3.2 Résultats des méta-analyses	15
3.2.1 Qualité méthodologique.....	15
3.2.2 Leishmaniose viscérale	15
3.2.3 Leishmaniose cutanéomuqueuse.....	16
3.2.4 Leishmaniose cutanée.....	16
3.3 Conclusions de l'analyse des méta-analyses	16
3.4 Avis des professionnels.....	18
3.4.1 Les recommandations de bonne pratique française et européenne	18
3.4.2 Synthèse du point de vue des professionnels.....	18
Conclusion	21
Annexe 1. Recherche documentaire.....	22
Annexe 2. Liste des tableaux et figures	26
Annexe 3. Grille AMSTAR	27
Annexe 4. Analyse critique des méta-analyses et revues systématique avec la grille AMSTAR	29
Annexe 5. Réponses <i>in extenso</i> des parties prenantes	30
Références	52
Fiche descriptive	53

Abréviations et acronymes

AGG.....	Technique d'agglutination
CNAMTS.....	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés
EIA ou ELISA.....	Technique immunoenzymatique
IC	Intervalle de confiance
IE.....	Immunoempreinte ou « Western-Blot »
IFI.....	Immunofluorescence indirecte
NABM.....	Nomenclature des actes de biologie médicale
PCR	Amplification en chaîne par polymérase ou « <i>Polymerase Chain Reaction</i> »

Introduction

Dans le cadre de l'actualisation de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), la HAS a été saisie en septembre 2015 par la Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) afin d'évaluer divers actes relatifs au diagnostic biologique de plus de 20 infections en parasitologie et en mycologie. Parmi les actes concernés par cette révision figurent ceux relatifs au diagnostic biologique de la leishmaniose qui font l'objet du présent argumentaire.

Comme mentionné dans la feuille de route (1), la demande porte sur :

- la modification de la recherche initiale des anticorps sériques anti-*Leishmania* ; la CNAMTS propose de ne conserver que deux techniques : la technique immunoenzymatique (EAI ou « ELISA ») et l'immunofluorescence indirecte (IFI) ; de supprimer la technique d'agglutination (AGG) qui ne serait plus utilisée selon le demandeur ; et de limiter cette recherche d'anticorps sériques à deux des formes de leishmaniose : formes viscérales et formes cutanéomuqueuses ;
- le maintien de la confirmation de cette sérologie initiale, par immunoempreinte (IE ou « Western blot ») ;
- la suppression du suivi itératif par la sérologie qui n'est plus utilisé (cf. Tableau 1), ce suivi s'effectuant actuellement par biologie moléculaire selon le demandeur ;
- d'inscrire la recherche de l'ADN de *Leishmania* dans un prélèvement sanguin ou tissulaire par amplification génique ou « *Polymerase Chain Reaction* » (PCR) avec estimation quantitative.

La version actuelle de la NABM avec les indications et les limitations mentionnées¹, ainsi que les propositions de modification pour les actes à évaluer sont reportées dans le Tableau 1. Il comporte également le nombre de réalisations pour les années 2014 et 2015 des actes évoqués.

L'examen direct « Recherche des autres parasites du sang (code 1126) » ne fait pas l'objet de demande de modification.

Tableau 1. Liste des actes évalués, ou en lien avec l'évaluation ; libellés actuels et propositions de modification ; nombre de réalisations en France en 2014 et 2015.

Code	Libellé actuel de l'acte à la NABM (avril 2017)	Propositions de modification de la CNAMTS	Nombre ² d'actes en 2014 et 2015*
Sérologie parasitaire – Leishmaniose			
4344	Dépistage par au moins 2 techniques parmi les suivantes : EIA - IFI - AGG	Modification : pour les leishmanioses viscérales ou cutanéomuqueuses, recherche d'anticorps par une des techniques suivantes : EIA, IFI	1 138 1 298*
4345	Test de confirmation par IE	Maintien	311 284*
6344	Suivi avec examen itératif du sérum ayant servi au sérodiagnostic de dépistage par une des techniques mises en œuvre pour ce dépistage	Suppression	0 4*
Parasitologie			
na	Aucun	Création : recherche de l'ADN de <i>Leishmania</i> dans un prélèvement sanguin ou tissulaire par amplification génique avec estimation quantitative	na (estimé à 5 000 par an par le demandeur)

¹ NABM édition d'avril 2017 http://www.codage.ext.cnamts.fr/codif/nabm/telecharge/index_tele.php?p_site=AMELI.

² Source BIOLAM (Régime général - Avec sections locales mutualistes - Métropole et DOM). <https://www.ameli.fr/l-assurance-maladie/statistiques-et-publications/donnees-statistiques/actes-de-biologie-medicale/biolam/biolam-2013-2015.php>.

1. Contexte

1.1 Source d'information

Ce chapitre de contexte a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus notamment, des revues générales traitant du diagnostic et de la prise en charge des leishmanioses, le rapport d'activité du Centre national de référence (CNR) pour cette pathologie en France, et des chapitres des ouvrages de référence de l'Association française des enseignants de parasitologie et mycologie médicales (2) et du Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales (3).

1.2 La leishmaniose

Ce chapitre a pour vocation de décrire les principaux éléments de cette pathologie. Il ne présente pas de manière exhaustive la pathologie et son traitement ; et il ne constitue pas de recommandations de prise en charge.

Les leishmanioses sont des parasitoses du système monocytes-macrophages dont l'agent pathogène est un protozoaire flagellé du genre *Leishmania*. Il s'agit d'une zoonose, transmise de vertébré à vertébré par un moucheron hématophage, le phlébotome.

Les leishmanioses peuvent se présenter sous trois formes :

- viscérales ;
- cutanées ;
- cutanéomuqueuses.

Les trois différents tableaux cliniques résultent à la fois d'un large éventail d'espèces leishmaniennes et de la variation de la réponse immunitaire de l'hôte infecté (2-5).

1.2.1 L'agent pathogène

Le parasite est un protozoaire flagellé tissulaire qui présente au cours de son cycle deux stades évolutifs distincts (2) :

- le stade amastigote, sans flagelle extériorisée, intramacrophagique et retrouvé chez les hôtes vertébrés dont l'Homme ;
- le stade promastigote, libre et mobile grâce à son flagelle, retrouvé dans l'intestin du phlébotome.

Les leishmanies se multiplient dans les vacuoles parasitophores du cytoplasme des macrophages pour les formes amastigotes. Ensuite, elles sont libérées par lyse du macrophage, puis elles sont phagocytées et évoluent dans d'autres macrophages. Les amastigotes présents dans une vacuole parasitophore résistent aux mécanismes de défense cellulaire. Le parasitisme entraîne également dans le macrophage une baisse des capacités de production de dérivés oxygénés et nitrogenés, complétant ainsi les mécanismes d'échappement des leishmanies à la digestion cellulaire (2).

Dans certains cas, l'infection reste asymptomatique mais des amastigotes intracellulaires peuvent rester quiescents des années, expliquant les leishmanioses opportunistes de l'immunodéprimé (2).

Lorsque la multiplication intracellulaire reste localisée au site d'inoculation (macrophages et cellules dendritiques), des réactions cellulaires générées et diverses cytokines produites entraînent le développement d'une lésion cutanée localisée (2).

Les parasites peuvent se diffuser vers d'autres sites *via* les ganglions lymphatiques. C'est le cas de certaines formes cutanées avec la leishmaniose cutanée diffuse, ou des leishmanioses cutanéomuqueuses avec des lésions au niveau des muqueuses de la face (2).

Dans d'autres cas, les parasites s'étendent à tous les organes du système des phagocytes mono-nucléés, provoquant la leishmaniose viscérale. Dans cette forme, les organes les plus couramment atteints sont la rate, le foie, les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse (2-4).

Il existe de nombreuses espèces de leishmanie, dont certaines sont limitées à une zone géographique. Les manifestations cliniques varient en fonction de ces espèces ; à titre d'exemple : *Leishmania infantum*, responsable de formes viscérales sur le pourtour méditerranéen ; *Leishmania guyanensis*, rencontrée en Guyane et responsable de formes cutanées.

1.2.2 Vecteurs, réservoirs du parasite, transmission

Les vecteurs de ce parasite sont les phlébotomes. Il s'agit de moucheron hémaphages qui piquent surtout le soir et la nuit par temps calme. Seule la femelle, qui est hémaphage, assure la transmission de la leishmaniose. Ils sont présents toute l'année en zone intertropicale, les phlébotomes apparaissant seulement l'été en région tempérée où ils confèrent à la maladie un caractère saisonnier (2-5).

Les réservoirs naturels des leishmanies sont des mammifères. Ils appartiennent à divers ordres : carnivores, rongeurs, marsupiaux, primates... ; dans ce cas, la leishmaniose est dite zoonotique. Lorsque l'Homme est l'unique réservoir du parasite, la leishmaniose est dite anthroponotique (2-5).

La transmission par le phlébotome est le mode de contamination principal, sa présence conditionnant la répartition de la maladie. Une transmission par échange de seringues chez les toxicomanes est possible. Les transmissions transfusionnelles et congénitales restent exceptionnelles (2-4).

1.2.3 Le cycle

C'est un cycle simple. Chez le vecteur (animal ou homme infecté), les formes amastigotes sont ingérées au cours du repas sanguin du phlébotome. Elles se transforment en formes promastigotes dans les heures qui suivent. Elles subissent ensuite un cycle complexe dans le tractus digestif du phlébotome. Les formes promastigotes infectantes sont régurgitées lors du repas sanguin suivant dans le derme d'un hôte. L'inoculation intradermique de promastigotes induit, au site même de la piqûre, une lésion qui passe généralement inaperçue chez l'Homme et dont le devenir dépend du tropisme cutané, muqueux ou viscéral de l'espèce de leishmanie. Dès la pénétration intracellulaire chez l'hôte, les formes promastigotes se transforment en formes amastigotes (2-4).

1.2.4 Données épidémiologiques et répartition géographique de la maladie

Les leishmanioses sont endémiques sur quatre continents (Afrique, Amérique Centrale et du Sud, Asie et Europe) et dans 88 pays dont la France. Au total, 370 millions de personnes sont exposées au risque de la maladie dans le monde. Chaque année, on compte 500 000 nouveaux cas de leishmaniose viscérale. Le nombre de cas des diverses formes de leishmaniose dans le monde entier est estimé à 12 millions, un tiers seulement des nouveaux cas étant officiellement déclarés (2-5).

Le Centre national de référence (CNR) des leishmanioses en France a recensé sur l'année 2014, 349 cas déclarés dont 242 en Guyane Française. La très grande partie des cas étaient cutanés (n=323), les autres étaient viscéraux (n=17) et cutanéomuqueux (n=3). Il faut noter que treize des cas viscéraux étaient des cas autochtones (sud de la France). Très schématiquement, les principales espèces de *Leishmania* en cause en France sont : *L. infantum* (sud de la France et bassin méditerranéen), responsable des formes viscérales de la maladie, et *L. guyanensis* (Guyane), responsable des formes cutanées. Selon le CNR, le nombre de cas d'une année à l'autre est globalement stable (6, 7).

Les bases du Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès (CépiDc) rapportent cinq décès survenus en France (Outre-mer et métropole) entre 2000 et 2014 dont la cause est une leishmaniose viscérale³.

³ Source CépiDc, code CIM-10 B55, <http://www.cepidc.inserm.fr/site4/index.php?p=accueil>, consulté le 17 mars 2017.

1.2.5 Éléments sur le traitement des leishmanioses

Le traitement est complexe et dépend notamment de la forme de leishmaniose, et de l'espèce en cause. À titre d'exemple, l'amphotéricine B est utilisée dans les formes viscérales. L'antimoniote de méglumine ou l'iséthionate de pentamidine peuvent être utilisés dans les formes cutanées.

Les traitements sont détaillés par deux référentiels récents : un européen abordant les formes cutanées chez les voyageurs (8), et un français détaillant le traitement pour les différentes formes de leishmaniose (9).

1.3 Techniques utilisées pour le diagnostic de la leishmaniose en France

1.3.1 Examen microscopique

L'examen microscopique est une technique de mise en évidence du parasite qui apporte le diagnostic de certitude. Les matériels biologiques utilisés sont notamment le frottis de moelle osseuse ou l'étalement sur lame de grattage cutané. La mise en évidence est réalisée au microscope après coloration (May-Grünwald Geimsa) et permet l'observation des formes amastigotes intra- ou extracellulaires. Cette recherche est longue et nécessite les compétences d'un observateur expérimenté (2, 4).

1.3.2 Culture

La culture est utilisée dans les centres spécialisés à partir des mêmes échantillons que ceux utilisés pour l'examen microscopique. Il s'agit d'une technique lente qui peut nécessiter plusieurs repiquages à une semaine d'intervalle et permet la mise en évidence du parasite qui se présente sous forme promastigote (2, 4).

1.3.3 Sérologie

La recherche d'anticorps sériques est considérée comme un élément majeur du diagnostic de la leishmaniose viscérale. En effet, la leishmaniose viscérale s'accompagne d'une réponse immunitaire humorale, avec apparition de titres élevés d'anticorps sériques, qui peuvent toutefois faire défaut chez l'immunodéprimé. Les leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses sont peu expressives sur le plan sérologique (2, 4).

Les limites de cette recherche sont notamment que les Ac sériques restent détectables plusieurs années après un épisode de leishmaniose viscérale, la positivité de la sérologie ne différencie donc pas aisément une infection récente d'une infection ancienne. Les réactions croisées sont possibles avec d'autres parasites (trypanosomose, paludisme) (2, 4).

Les référentiels français régissant la pratique actuelle (ANOFEL, REMIC et PILLY) retiennent comme techniques l'EIA et l'IFI pour la recherche des Ac sériques, et la limitent aux formes viscérales (2-4).

1.3.4 Mise en évidence de l'ADN parasitaire

La mise en évidence de l'ADN parasitaire par amplification génique peut s'effectuer à partir notamment de prélèvements cutanés, de moelle osseuse ou sanguins. Cette technique est présentée comme ayant de meilleures performances diagnostiques que les autres techniques. Elle est utilisée pour le diagnostic et également dans le suivi des patients atteints d'une leishmaniose viscérale. Une PCR positive après traitement est considérée comme un marqueur précoce de rechute chez les patients immunodéprimés (2, 4).

Plusieurs méthodes cibles de l'amplification sont disponibles. Les cibles utilisées le plus fréquemment sont l'ADN du kinétoplaste (ADN mitochondrial hautement répété), le gène codant pour l'ARN polymérase II et l'ADN ribosomique (18S) (4, 6, 10, 11).

Cette technique est utilisée par le Centre national de référence des leishmanioses en France et ses laboratoires associés (6, 10). Elle est également utilisée selon ce dernier dans 15 laboratoires de CHU en France (4). Les résultats d'une étude des pratiques, menée auprès de ces laboratoires dans le cadre de ce travail, sont présentés dans la partie 3.1 de cette évaluation.

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

Ces conditions actuelles sont résumées dans le Tableau 1. Plus précisément :

- l'examen microscopique est inscrit à la NABM ; l'intitulé du libellé est « Recherche des autres parasites du sang » (code 1126⁴) ;
- la culture n'est pas inscrite à la NABM et ne fait pas partie du champ de ce travail ;
- la sérologie est inscrite à la NABM avec la recherche d'anticorps sériques par technique immunoenzymatique et par immunofluorescence, puis avec la confirmation par immunoempreinte (respectivement codes 4344 et 4345) ;
- la recherche de l'ADN de *Leishmania* par amplification génique n'est pas inscrite et fait l'objet de la présente évaluation.

⁴ Cet acte figure juste après l'acte 1125 qui est « Recherche des hématozoaires sur frottis en goutte épaisse » dans le sous chapitre 6-05 de parasitologie de la NABM.

2. Méthode d'évaluation

Conformément à la feuille de route adoptée en mars 2017 (1), la méthode d'évaluation pour ce sujet se décline suivant les quatre points suivants :

- analyse critique de la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique françaises, européennes ou internationales, rapports d'évaluation technologique, méta-analyses et revues systématiques) identifiée par une recherche documentaire systématique ;
- recueil du point de vue argumenté des professionnels concernés par le sujet, *via* l'envoi d'un questionnaire à leurs différents organismes professionnels, notamment sur les aspects non précisés dans la littérature identifiée ;
- interrogation des laboratoires de biologie médicale en France, utilisant la technique d'amplification génique pour le diagnostic de la leishmaniose, afin d'estimer le nombre d'actes réalisés en France ces dernières années ;
- compilation de ces éléments dans un argumentaire court, soumis directement au Collège de la HAS pour validation.

2.1 Champ et problématique

Le champ de l'évaluation couvre les points suivants :

- précision des techniques et des indications de la recherche d'anticorps sériques (sérologie) ;
- suppression du suivi des patients traités, par sérologie ;
- introduction de l'amplification génique (PCR).

La demande ne précise pas la séquence des deux examens (sérologie et PCR) mais suggère que la PCR est réalisée en première intention.

La problématique de cette évaluation réside principalement dans la définition de :

- la séquence des examens (*i.e.* examen microscopique, sérologie, biologie moléculaire) pour poser le diagnostic en fonction des différentes formes de leishmaniose ;
- l'impact des résultats de la biologie moléculaire sur la prise en charge thérapeutique du patient ;
- l'intérêt clinique du suivi par la biologie moléculaire et les modalités de ce suivi.

2.2 Recherche documentaire, sélection et analyse

2.2.1 Stratégie de recherche bibliographique et résultats

Conformément à la méthode d'évaluation retenue, seule la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique [françaises, européennes ou internationales], rapports d'évaluation technologique, méta-analyses et revues systématiques) a été recherchée. La recherche documentaire a été conduite de la manière suivante (Tableau 2) :

Tableau 2. Stratégie de recherche bibliographique.

Sources interrogées	<i>Medline, Embase, Biosis Previews, Gale Group Health Periodicals Database, Banque de données en santé publique (BDSP), Littérature scientifique en santé (LiSSa)</i>
Recherches complémentaires	Sites internet d'agences d'évaluation de technologies de santé ; sites internet d'organismes professionnels français et étrangers ; références des publications identifiées
Période de recherche	Recherche de janvier 2011 à février 2017, veille documentaire jusqu'en avril 2017

Les équations de recherche, les mots clés utilisés et la liste des sites internet consultés figurent en Annexe 1.

Cette recherche documentaire a permis d'identifier 312 documents (recherche initiale et recherche complémentaire manuelle, puis veille).

2.2.2 Sélection des documents identifiés

Une première sélection, sur titre et résumé, des 312 documents identifiés par la recherche (sur base, et manuelle) a permis d'écarter les documents sans lien avec le sujet et les revues générales. Ont ainsi été écartés 305 documents.

La deuxième étape, après lecture *in extenso*, a permis d'écarter trois documents supplémentaires. L'un était une recommandation nord-américaine. Cette recommandation ne présente que la pratique aux États-Unis et n'exprime que l'avis des experts nord-américains sur la leishmaniose viscérale aux États-Unis ; de plus, elle se fonde sur une méta-analyse sélectionnée pour ce rapport (11). Les deux autres références étaient des versions antérieures des deux méta-analyses retenues (cf. ci-dessous).

Au final, les quatre documents sélectionnés sont :

- deux recommandations de bonne pratique (8, 9) ;
- deux méta-analyses (11, 12).

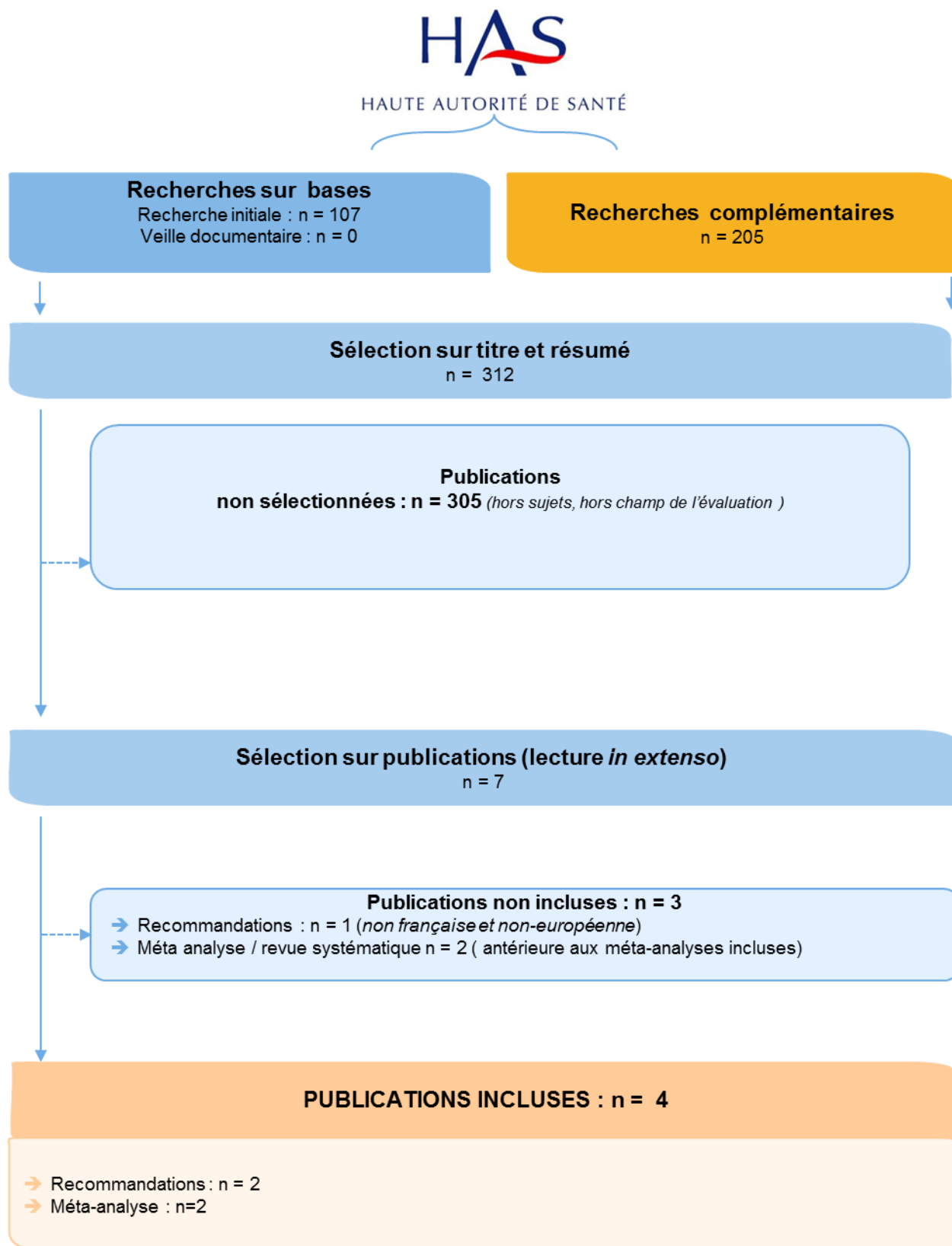
Les résultats de la recherche documentaire et du processus de sélection sont présentés dans le schéma ci-dessous (Figure 1).

La qualité méthodologique des deux méta-analyses (11, 12) a été analysée avec les items de la grille AMSTAR (*A Measurement Tool to Assess Systematic Reviews*)⁵ (13). Ces items sont présentés en Annexe 3.

En ce qui concerne les deux recommandations de bonne pratique, elles ne renseignent pas sur la méthode d'élaboration.

⁵ Grille AMSTAR du Centre de collaboration nationale des méthodes et outils.
<http://www.nccmt.ca/fr/ressources/interrogez-le-registre/97>

Figure 1. Diagramme de sélection des références bibliographiques.



2.3 Recueil du point de vue des professionnels

2.3.1 Organismes consultés

Les professions sollicitées sont celles impliquées dans la réalisation ou la prescription des actes évalués. Leur point de vue a été recueilli *via* leurs conseils nationaux professionnels (CNP) ou *via* les sociétés savantes lorsque le CNP n'était pas constitué. Ce sont :

- le CNP d'infectiologie - Fédération française d'infectiologie ;
- le CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière ;
- le Service de santé des armées ;
- la Société de pathologie exotique.

Le Centre national de référence des leishmanioses a également été consulté.

2.3.2 Modalité de consultation

Ces organismes ont été sollicités en tant que parties prenantes au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013⁶, dans le cas présent comme groupes professionnels concernés en pratique par les conséquences de ce rapport, c'est-à-dire par la réalisation ou la prescription des actes évalués dans ce rapport. Ils devaient à ce titre représenter et exprimer l'intérêt général de leurs membres. Cette sollicitation a été menée conformément à la procédure de consultation des parties prenantes mise en place par la HAS⁷.

En pratique, le président de chacun des organismes concernés a été directement sollicité afin que le groupe professionnel qu'il représente exprime son point de vue argumenté. Il lui a été adressé à cette fin un questionnaire ouvert standardisé rédigé par la HAS, ainsi qu'un exemplaire de travail du document de la HAS contenant une présentation du contexte et l'analyse bibliographique. Pour ce qui est du CNR leishmanioses, le responsable a été destinataire de ces documents.

Cette sollicitation a été envoyée le 28 avril 2017. Les cinq parties prenantes avaient jusqu'au 19 mai 2017 pour répondre au questionnaire. La dernière réponse est parvenue le 21 juin 2017. Les points de vue émis par les quatre parties prenantes qui ont répondu, sont présentés *in extenso* en Annexe 5. Ces différents points de vue ont ensuite été synthétisés par la HAS dans la partie 3.4.2 de ce rapport.

⁶ Décret n°2013-413 du 21 mai 2013. Le quatrième alinéa de ce décret dispose que : « *La décision peut s'appuyer, si l'objet de l'expertise le justifie, sur la prise en compte des points de vue des « parties prenantes » (ou « parties intéressées »), c'est-à-dire des personnes ou groupes concernés ou susceptibles de l'être, directement ou indirectement, par les conséquences de cette décision, notamment des milieux associatifs et des acteurs économiques ou professionnels, ou qui représentent l'intérêt général de groupes concernés par ces conséquences* ». <http://legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027434015&categorieLien=id>

⁷ Procédure de consultation des parties prenantes de la HAS, juin 2014.

3. Résultats de l'évaluation

3.1 Estimation du nombre de recherches de *Leishmania* par amplification génique (« PCR ») réalisées en France

Afin d'approcher le nombre de réalisation des recherches d'ADN de *Leishmania* par amplification génique en France, 15 laboratoires⁸ de parasitologie réalisant ces recherches ont été contactés. Douze laboratoires ont répondu.

Environ 2 000 recherches d'ADN *Leishmania* (par amplification génique « PCR »), avec plus de 500 résultats positifs, seraient réalisées actuellement en France⁹ par an. Neuf utilisent comme cible l'ADN kinétoplastique ; deux l'ADN ribosomique, une le gène de l'ARN polymérase II.

Il faut noter qu'un même patient peut avoir bénéficié de plusieurs PCR. Ainsi, le nombre de résultats positifs ne reflète pas exactement le nombre de patients infectés.

La technique de recherche d'ADN *Leishmania* est donc diffusée et utilisée en France.

3.2 Résultats des méta-analyses

Les deux méta-analyses retenues traitent, pour l'une, des formes viscérales (11) et pour l'autre, des formes cutanéomuqueuses (12). Elles traitent seulement de la PCR. Leurs principales conclusions sont présentées dans le Tableau 3.

3.2.1 Qualité méthodologique

Elles sont de qualité méthodologique moyenne (analyse présentée en Annexe 4) ; leurs principales limites sont présentées ci-après :

- l'hétérogénéité des techniques de biologie moléculaire utilisées dans les études sélectionnées par les méta-analyses (PCR, PCR en temps réel, *Loop Mediated Isothermal Amplification* [LAMP], *Nucleic Acid Sequence Based Amplification* [NASBA]...), ou l'absence de précision ;
- l'hétérogénéité entre les études sur le choix du gène cible de l'amplification (kinétoplaste, ADN ribosomal, cible non renseignée) ;
- l'hétérogénéité du type d'échantillons biologiques, du mode de recueil et d'extraction de l'ADN ;
- l'hétérogénéité du type d'études (série de cas consécutifs ou non) ;
- l'absence d'essai randomisé (les auteurs n'ont pas identifié d'essais de ce type) ;
- l'hétérogénéité des tests de référence (examen microscopique et/ou clinique et/ou sérologie...) ;
- l'absence de définition de la place précise de la technique de biologie moléculaire dans l'algorithme de diagnostic par rapport aux autres examens (sérologie, examen microscopique) ;
- l'absence de définition de seuil des performances diagnostiques dans les suspicions des trois formes de leishmaniose. Ce seuil n'est pas non plus défini en tenant compte de la place revendiquée pour la technique (test utilisé en première ligne : une sensibilité élevée devra être favorisée ; test de confirmation : une spécificité élevée sera favorisée) et en fonction de l'échantillon biologique retenu.

Les résultats résumés ci-après sont donc à considérer avec précaution compte tenu de ces limites (risque de biais élevé).

3.2.2 Leishmaniose viscérale

La méta-analyse de de Ruitter *et al.* présente des valeurs de performance diagnostique de l'amplification génique à partir de 19 études sur échantillons sanguins : la sensibilité calculée est

⁸ Ces 15 laboratoires ont été identifiés par le CNR leishmanioses.

⁹ Avec, en nombre de PCR réalisées et nombre de PCR positives [] pour 2015 : 1 842 [340], 2016 : 2 048 [522].

de 93,1 % (intervalle de confiance à 95 % (95 % IC, 90,0 à 95,2) et la spécificité de 95,6 % (95 % IC, 87,0 à 98,6). Le comparateur « gold standard » était soit : 1) examen direct et/ou culture, ou 2) examen direct et/ou culture et/ou sérologie (11). Les valeurs obtenues à partir de huit études sur moelle osseuse sont similaires pour la sensibilité. En revanche, la spécificité présente un intervalle de confiance trop grand pour avoir pu être reportée.

Les auteurs expliquent les défauts de performance diagnostique par :

- la possibilité de détecter par PCR des patients porteurs sains (sans signes cliniques de leishmaniose viscérale) ;
- et par les performances diagnostiques faibles des tests de référence (*i.e.* la PCR identifie des cas qui ne sont pas identifiés par la sérologie et/ou l'examen microscopique).

La place de la PCR dans la démarche diagnostique de la leishmaniose telle qu'elle est suggérée dans la demande, c'est-à-dire en test de 1^{re} ligne concomitant à l'examen microscopique, est en faveur d'une sensibilité élevée. Cependant, aucune valeur seuil de performance diagnostique à atteindre par le test n'est définie, ni par les auteurs de la méta-analyse.

3.2.3 Leishmaniose cutanéomuqueuse

La méta-analyse de Martins Gomes *et al.* présente des valeurs de performance diagnostique des techniques d'amplification (sans précisions) à partir de trois études sur « biopsie » (échantillons cutanéomuqueux) : la sensibilité calculée est de 71 % (95 % IC, 59 à 81) et la spécificité de 93 % (95 % IC, 83 à 98) (12).

La place de la PCR dans la démarche diagnostique de la leishmaniose telle qu'elle est suggérée dans la demande, c'est-à-dire après observation de la lésion et prélèvement de celle-ci, vient en 2^e ligne en confirmation d'une suspicion de leishmaniose basée sur la clinique et l'anamnèse du patient. Cette place est en faveur d'une spécificité élevée. Cependant, aucune valeur seuil de performance diagnostique à atteindre par le test n'est définie ni par les auteurs de la méta-analyse, ni par des recommandations de bonne pratique identifiées.

3.2.4 Leishmaniose cutanée

La recherche de la littérature systématique menée n'a pas permis d'identifier de documents répondant aux critères de sélection traitant du diagnostic de la leishmaniose cutanée.

Les auteurs de la méta-analyse de Martins Gomes *et al.* (12) indiquent cependant que la distinction *a posteriori* sur les études seules, entre les formes cutanées et les formes cutanéomuqueuses, n'est pas évidente. Des cas de formes cutanées sont donc probablement inclus dans leur méta-analyse.

3.3 Conclusions de l'analyse des méta-analyses

Les deux méta-analyses sélectionnées, qui portent sur l'évaluation de l'amplification génique, ne permettent pas de conclure formellement sur la performance diagnostique de cet examen, en raison de nombreuses limites dont notamment le haut risque de biais des études sélectionnées et le nombre restreint d'études.

Cependant, selon la méta-analyse portant sur la leishmaniose viscérale, l'amplification génique permettrait d'identifier des cas non détectés par les autres techniques (examen microscopique, sérologie).

Pour les deux formes, viscérale et cutanéomuqueuse, la spécificité est élevée. A noter que pour la forme cutanéomuqueuse, ce résultat n'est fondé que sur un nombre restreint d'études.

Tableau 3. Principales conclusions des méta-analyses.

Références	Principales conclusions	Remarques
Leishmaniose viscérale		
De Ruyter <i>et al.</i> , 2014 (11)	<p>Le regroupement des performances diagnostiques de la PCR permet d'obtenir des valeurs moyennes :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sang Sensibilité de <u>93,1 %</u> (95 % intervalle confiance [IC], 90,0 à 95,2), et une <u>spécificité de 95,6 %</u> (95 % IC, 87,0 à 98,6) quel que soit le type d'études (19 études). La sensibilité est similaire, la spécificité est plus faible si on limite l'exploitation des résultats aux séries consécutives de patients 63,3 % (95 % IC, 53,9 à 71,8) (quatre études). • Moelle osseuse Sensibilité de <u>95,3 %</u> (95 % intervalle confiance [IC], 91,0 à 97,6) (huit études). La sensibilité est similaire si on limite l'exploitation des résultats aux séries consécutives de patients. La spécificité présente un intervalle de confiance trop grand pour pouvoir être reportée et commentée. 	<p>La PCR présente une bonne sensibilité (indépendamment du type d'échantillon et/ou type d'étude). La spécificité est plus faible. Les auteurs expliquent cette limite par la possibilité de détecter par PCR des patients porteurs sains et par le défaut des performances diagnostiques des tests de référence (sérologie).</p> <p>Ces résultats sont cependant à prendre avec précaution compte tenu de la faible qualité des données disponibles pour réaliser la méta-analyse (pas d'essais contrôlés randomisés, études à haut risque de biais), hétérogénéité des tests de référence composite (<i>i.e.</i> examen microscopique et/ou clinique et/ou sérologie...) et de l'absence de seuil défini <i>a priori</i> pour les performances diagnostiques. Le nombre de patients regroupés n'est pas renseigné.</p>
Leishmaniose cutanéomuqueuse		
Martins Gomes <i>et al.</i> , 2015 (12)	<p>Sur les 14 études retenues, les auteurs n'exploitent les données que de trois études en raison de leur grande hétérogénéité.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Biopsie Sensibilité de <u>71 %</u> (95 % IC, 59 à 81) et <u>spécificité de 93 %</u> (95 % IC, 83 à 98). 	<p>La PCR présente une bonne spécificité. Elle conforte la place de la PCR qui se situe dans les faits en deuxième ligne après la clinique et doit confirmer le diagnostic à partir d'un échantillon cutanéomuqueux. La sensibilité est faible et les auteurs considèrent qu'une amélioration des échantillons biologiques et des conditions de réalisation de la PCR (extraction, amplification) pourraient à terme palier ce défaut.</p> <p>Ces résultats sont cependant à prendre avec précaution compte tenu de la faible qualité des données disponibles (pas d'essais contrôlés randomisés, études à haut risque de biais, hétérogénéité des tests de référence) et de l'absence de seuil défini <i>a priori</i> pour les performances diagnostiques. Les auteurs rapportent également la difficulté de distinguer les différentes formes de la leishmaniose à la lecture des études retenues (<i>i.e.</i> forme cutanéomuqueuse cumulée avec forme cutanée simple). Le nombre de patients regroupés n'est pas clairement renseigné.</p> <p>Les aires géographiques de ces études sont la Colombie et le sud du Brésil.</p>

3.4 Avis des professionnels

3.4.1 Les recommandations de bonne pratique française et européenne

La recherche de la littérature a permis d'identifier deux recommandations de bonne pratique :

- une française de 2011 (9) d'un groupe de parasitologues et dermatologues (toutes formes de leishmaniose) ;
- et l'autre européenne de 2014 (8) d'un groupe d'experts européens (groupe LeishMan) qui traite spécifiquement des leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses des voyageurs.

Ces deux recommandations détaillent le traitement de la leishmaniose mais ne traitent pas du diagnostic. La qualité méthodologique de ces recommandations de bonne pratique est faible ; elles ne présentent pas de méthode de réalisation.

La recommandation française mentionne cependant le recours à la PCR quantitative dans le suivi clinico-biologique des leishmanioses viscérales chez les patients vivant avec le VIH, immunodéprimés sans autre précision (9).

La recommandation européenne (8) préconise pour le suivi des cas cliniques complexes (sans les définir) des leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses, le recours à l'examen microscopique et/ou à la culture. Elle ne préconise pas la PCR en justifiant que l'ADN de leishmanie peut être retrouvé dans la lésion plusieurs années après succès du traitement.

Les deux recommandations de bonne pratique sélectionnées sont fondées sur avis d'experts. Elles portent essentiellement sur le traitement des leishmanioses et n'apportent pas de renseignement sur le diagnostic.

Cependant, l'une retient la PCR dans le suivi des leishmanioses viscérales des patients vivant avec le VIH, immunodéprimés, et l'autre l'écarte pour les leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses.

3.4.2 Synthèse du point de vue des professionnels

Quatre des cinq parties prenantes sollicitées ont répondu :

- le Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière ;
- la Société de pathologie exotique ;
- le Service de santé des armées ;
- le Centre national de référence des leishmanioses.

Le Conseil national professionnel d'infectiologie - Fédération française d'infectiologie n'a pas répondu.

Aucun des organismes n'a fait de réserve sur l'analyse de la littérature et ses conclusions. L'ensemble des parties prenantes est favorable aux propositions de modification de la NABM.

► Recherche de l'ADN de *Leishmania* par amplification génique

En ce qui concerne le **diagnostic**, l'ensemble des parties prenantes :

- retient la PCR devant toutes suspicions de leishmaniose, quelle que soit la forme clinique (cutanée, cutanéomuqueuse, viscérale) ;
- indique que devant une forme viscérale, la PCR est réalisée sur prélèvement sanguin ou de moelle osseuse ;
- précise que pour une forme cutanée ou cutanéomuqueuse, la PCR est réalisée sur un prélèvement de la lésion par biopsie, grattage, ponction, écouvillonnage...

Les résultats des prélèvements sanguins sont quantitatifs, et qualitatifs pour les autres échantillons.

Seul le CNR cite et entérine les préconisations de l'*Infectious Diseases Society of America* de 2016 (IDSA) (14). En se fondant notamment sur la méta-analyse publiée par de Ruiter *et al.* (11) citée dans le chapitre 3.2.2, l'IDSA préconise la PCR devant toute suspicion de leishmaniose (viscérale, cutanée ou cutanéomuqueuse) et indique qu'il s'agit de la méthode diagnostique disponible la plus sensible.

En ce qui concerne le **suivi du traitement** anti-leishmaniose, seul celui des formes viscérales après la fin du traitement anti-leishmaniose chez les patients immunodéprimés nécessite un suivi par PCR selon l'ensemble des parties prenantes. Son but est l'identification précoce d'une « rechute ». Les conditions de ce suivi sont précisées par deux d'entre elles. La fréquence indiquée est trimestrielle au cours de l'immunodépression profonde. Le résultat n'est pas nécessairement quantitatif, selon le CNR, la détection seule du parasite doit faire envisager la reprise d'un traitement « curatif ou prophylactique secondaire ».

Les cibles de l'amplification génique mentionnées par les parties prenantes sont :

- l'ADN ribosomique ;
- le mini-cercle de l'ADN kinétoplastique ;
- la région 1265 pbs du gène de la RNA polymérase II.

L'ensemble des parties prenantes indique que l'interprétation des résultats doit tenir compte de la clinique. Ce point est justifié selon elles par des rares cas de porteur asymptomatique de *Leishmania* qui ont été rapportés.

► **Sérologie (recherche des AC sériques)**

L'ensemble des parties prenantes indiquent que la sérologie est à réserver au diagnostic des formes viscérales et cutanéomuqueuses.

Les techniques mentionnées par l'ensemble des parties prenantes sont l'EIA (ELISA) ou l'IFI pour la première ligne (recherche initiale). L'IE (Western-blot) est la technique utilisée pour réaliser le test de confirmation (en seconde ligne), pour lever tout doute d'une réaction croisée avec un autre parasite. Toutes confirment l'obsolescence des techniques d'agglutination qui ont vocation à être supprimées.

Toutes indiquent que la sérologie n'a pas d'utilité dans le suivi des patients.

Les recommandations de l'IDSA (14), entérinées par le CNR, indiquent que la sérologie est à réserver aux cas de suspicion de forme viscérale lorsqu'une autre technique diagnostique (examen direct, culture, recherche d'ADN) ne peut être réalisée ou que les résultats sont négatifs. L'IDSA indique que la sérologie :

- n'a pas d'utilité dans le suivi du traitement (évaluation de la réponse au traitement) ;
- ne doit pas être utilisée seule chez les personnes immunodéprimées ;
- ne doit pas être utilisée dans les formes cutanées.

Ni la place de la sérologie, ni son apport dans le diagnostic ne sont clairement définis par les parties prenantes. La réalisation de ces deux examens semble être concomitante.

Une des parties prenantes rappelle la possibilité d'un portage asymptomatique ou d'une infection ancienne rendant difficile l'interprétation des résultats de la sérologie sans contexte clinique et n'apporte pas d'autres précisions.

► **Conclusion des points de vue des professionnels**

Quatre des cinq parties prenantes sollicitées ont répondu et sont toutes favorables aux modifications proposées :

- l'introduction de la recherche d'ADN *Leishmania* (PCR) ;
- le maintien de la recherche des Ac sériques (avec une technique EIA ou IFI) ;
- le maintien de la confirmation de la sérologie par IE ;
- la suppression de la technique d'agglutination ;
- la suppression du suivi par sérologie.

La recherche d'ADN *Leishmania* (par PCR) est indiquée :

- **dans le diagnostic de toute suspicion de leishmanioses (cutanée, cutanéomuqueuse et viscérale) ;**
- **dans le suivi de la forme viscérale des patients immunodéprimés.**

Elle s'effectue sur prélèvement sanguin ou de moelle osseuse pour les cas de suspicion de forme viscérale et sur prélèvement de lésions, obtenu par biopsie, ponction, grattage, écouvillonnage... pour les formes cutanées ou cutanéomuqueuses. Le résultat est quantitatif sur prélèvement sanguin et qualitatif pour tous les autres prélèvements. Le suivi par PCR pour les formes viscérales peut intervenir tous les trois mois chez les patients immunodéprimés.

La recherche d'anticorps sériques est indiquée dans le diagnostic des formes viscérales ou cutanéomuqueuses.

Les techniques sont l'EIA ou l'IFI pour la recherche initiale d'Ac sériques, et l'IE pour la confirmation.

La sérologie n'a pas été citée comme examen pour le suivi.

La séquence de la recherche des Ac sériques et de l'amplification génique n'a pas été clairement établie par les parties prenantes pour les formes où ces deux examens sont retenus par elles : forme viscérale et forme cutanéomuqueuse ; leurs réponses semblent néanmoins indiquer qu'ils sont réalisés concomitamment.

Conclusion

Dans le cadre de l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale, la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) a sollicité, en septembre 2015, l'avis de la HAS sur la révision de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) concernant les actes relatifs au diagnostic biologique de plus de 20 infections en parasitologie et en mycologie. Le présent travail traite des actes liés au diagnostic et à la prise en charge de la leishmaniose.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la pertinence de ces propositions et de recenser les indications des actes pour lesquelles sont proposées des modifications.

Les conclusions de la HAS sont présentées dans l'encadré ci-dessous et se fondent sur :

- l'enquête réalisée auprès de 15 laboratoires de biologie médicale (CHU) en France ;
- l'analyse critique de la littérature synthétique (deux méta-analyses récentes) ;
- la position argumentée de quatre organismes professionnels ayant répondu à la sollicitation de la HAS.

Au final, la HAS estime que :

La recherche d'ADN *Leishmania* par amplification génique (PCR) est indiquée :

- **devant toute suspicion de leishmanioses (cutanée, cutanéomuqueuse et viscérale) afin de poser le diagnostic ;**
- **dans le suivi des patients immunodéprimés ayant été atteints d'une forme viscérale.**

Elle s'effectue sur prélèvement sanguin ou de moelle osseuse pour les cas de suspicion de forme viscérale et sur prélèvement de lésions des formes cutanées ou cutanéomuqueuses (biopsie, ponction, grattage, écouvillonnage...). Le résultat est quantitatif sur prélèvement sanguin et qualitatif pour tous les autres prélèvements. Le suivi des formes viscérales intervient environ tous les trois mois chez les patients immunodéprimés. La sérologie n'a pas d'utilité dans le suivi.

La recherche des anticorps sériques anti-*Leishmania* est indiquée dans le diagnostic des formes viscérales ou cutanéomuqueuses de leishmaniose.

Les techniques sont l'immunofluorescence (IFI) ou la technique immunoenzymatique (EIA - « ELISA ») pour la recherche initiale, suivie en cas de résultat positif d'une confirmation par immunoempreinte (Western-blot). La technique d'agglutination (AGG) n'est plus à utiliser en première ligne. La recherche des anticorps sériques n'a pas d'utilité dans le suivi.

La séquence de la recherche des anticorps sériques et de l'ADN n'est pas clairement établie pour les formes où ces deux examens sont retenus : forme viscérale et forme cutanéomuqueuse ; ils semblent néanmoins être réalisés concomitamment. Ces deux viennent en complément de l'examen microscopique.

Annexe 1. Recherche documentaire

Bases de données bibliographiques

Medline, Embase, Biosis Previews, Gale Group Health Periodicals Database

Type d'étude / Sujet Termes utilisés		Période de recherche	Nombre de références trouvées
Recommandations, conférences de consensus		01/2011 - 02/2017	37
Etape 1	(Leishmania OR Leishmaniasis OR Phlebotomus)/de OR (leishmaniose* OR Leishmaniasis OR Leishmaniasis OR Leishmania OR Phlebotome* OR Phlebotomus OR Phlebotomi)/ti,ab OR leishmaniose OR leishmanioses OR Leishmaniasis OR Leishmaniasis OR Leishmania OR phlébotome OR phlébotomes OR phlebotomus OR phlebotomi		
AND			
Etape 2	(guidance OR guideline*)/ti OR guideline/type OR health planning guidelines/de OR practice guideline/type OR (Consensus Development Conference, NIH OR Consensus Development Conference)/type OR (consensus OR position paper OR recommendation* OR statement*)/ti		
Meta-analyses, revues systématiques		01/2011 - 02/2017	70
Etape 1			
AND			
Etape 3	(meta analys* OR metaanalys* OR meta-analys*)/ti,ab OR meta-analysis/type OR (systematic literature review* OR systematic literature search* OR systematic overview* OR systematic review* OR systematical literature review* OR systematical overview* OR systematical review* OR OR systematically review* OR systematically search* OR systematically research*)/ti,ab OR cochrane database syst rev/revue OR Health Technol Assess/revue		
Épidémiologie		01/2011 - 02/2017	37
Etape 1			
AND			
Etape 4	epidemiolog*/ti,ab OR (prevalence OR incidence)/ti,ab OR (Prevalence OR Incidence OR Mortality OR Morbidity OR Epidemiology OR Health Surveys OR Health Survey OR Health Care Surveys OR Health Care Survey OR Data Collection OR Information Processing)/de		
AND			
Etape 5	(french* OR francais*)/ti,ab OR France/ti,ab OR France/de OR France/localisation OR (Guadeloupe OR French West Indies OR Guyane OR French Guiana OR Martinique OR La Reunion OR Mayotte OR Nouvelle Calédonie OR New Caledonia OR Polynésie Françaises OR French Polynesia OR Saint Barthélemy OR Saint Martin OR Wallis et Futuna OR Saint Pierre et Miquelon)/ti,ab OR (Guadeloupe OR French Guiana OR Martinique OR Reunion OR New Caledonia OR Guadeloupe OR French Guiana OR Martinique OR Mayotte OR French Polynesian OR French Polynesia OR Saint Barthelemy OR New Caledonian OR New Caledonia OR Saint Martin (French) OR Wallis and Futuna OR Saint Pierre and Miquelon)/de		

Liste des sites internet consultés

- Agence de la biomédecine
- Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)
- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES)
- Annales de biologie clinique
- Association française des enseignants de parasitologie et mycologie médicale (ANOFEL)
- Assurance maladie
- Bibliothèque médicale Lemanissier
- Catalogue et index des sites médicaux francophones (CISMeF)
- Centre national de référence des leishmanioses
- Comité d'évaluation et de diffusion des innovations technologiques (CEDIT)
- Conseil national du sida et des hépatites virales (CNS)
- Diffusion des recommandations francophones en consultation de médecine générale (DReFC)
- Direction de la recherche, des études, de l'évaluation et des statistiques (DREES)
- Evaluation des technologies de santé pour l'aide à la décision (Base ETSAD)
- Haut comité santé publique (HCSP)
- Haute Autorité de santé (HAS)
- Institut de recherche en santé publique (IRESP)
- Institut de recherche et documentation en économie de la santé (IRDES)
- Institut national de la santé et de la recherche médicale expertise collective (INSERM)
- Institut Pasteur
- Libre accès aux rapports scientifiques et techniques. Base LARA
- Ministère de la santé
- Santé publique france
- Société de pathologie exotique (SPE)
- Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF)
- Société française de biologie clinique (SFBC)
- Société française de médecine générale (SFMG)
- Société française de parasitologie (SFP)
- Vidal recos

- *Adelaide Health Technology Assessment*
- Agence santé publique Canada
- *Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias Sanitarias de Andalucía*
- *Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya*
- *Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ)*
- *Agenzia nazionale per i servizi sanitari regionali (age.na.s)*
- *American Society for Blood and Marrow Transplantation (ASBMT)*
- *American Society for Microbiology (ASM)*
- *American Society of Parasitologists*
- *American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH)*
- *Asia-Pacific Society of Clinical Microbiology and Infection (APSCMI)*
- Association canadienne de protection médicale (ACPM)
- *Australasian College of Tropical Medicine (ACTM)*
- *Australasian Society for Infectious Diseases (ASID)*
- *Australian and New Zealand Horizon Scanning Network (ANZHSN)*
- *Australian Clinical Practice Guidelines Portal*
- *Australian Council on Healthcare Standards*
- *Australian Safety and Efficacy Register of New Interventional Procedures - Surgical (ASERNIP)*
- *Australian Society for Parasitology*
- *Axencia de Avaliación de Tecnoloxías Sanitarias de Galicia*

- *Blue Cross Blue Shield Association (BCBS)*
- *BMJ Clinical Evidence*
- *British HIV Association (BHIVA)*
- *British Infection Association (BIA)*
- *British Society for Parasitology*
- *British Transplantation Society (BTS)*
- *California Technology Assessment Forum (CTAF)*
- *Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH)*
- *Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (CACMID)*
- *Canadian Foundation for Infectious Diseases (CFID)*
- *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*
- *Centre fédéral d'expertise des soins de santé (KCE)*
- *Centre for Clinical Effectiveness*
- *Centre for Reviews and Dissemination (CRD)*
- *Cochrane Library*
- *College of Physicians and Surgeons of Alberta*
- *College voor Zorgverzekeringen*
- *CPG Infobase (Canadian Medical Association)*
- *Department of Health (DoH)*
- *Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI)*
- *Euroleish*
- *European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)*
- *European Commission Community Research and Development Information Service*
- *European Commission Joint Research Centre European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID)*
- *European network for Health Technology Assessment (EUnetHTA)*
- *Evidence Search*
- *Finnish Office for Health Technology Assessment (FinOHTA)*
- *Forum on Microbial Threats*
- *Guidelines and Protocols Advisory Committee British Columbia*
- *Guidelines International Network (GIN)*
- *Health and Safety Executive Horizon Scanning (HSE)*
- *Health Information and Quality Authority (HIQA)*
- *Health Protection Agency (HPA)*
- *Health Quality Ontario*
- *Health Services Assessment Collaboration (HSAC)*
- *Infectious Diseases Society of America (IDSA)*
- *Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG)*
- *Institut national de santé publique du Québec (INSPQ)*
- *Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS)*
- *Institute for Clinical Systems Improvement (ICSI)*
- *Instituto de Salud Carlos III Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias*
- *International Federation for Tropical Medicine*
- *International Society for Infectious Diseases (ISID)*
- *Kaiser Permanente*
- *Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)*
- *Ludwig Boltzmann Institut*
- *Medical Services Advisory Committee (MSAC)*
- *Michigan Quality Improvement Consortium*
- *Ministry of Health Malaysia, Health Technology Assessment Section (MaHTAS)*
- *National Electronic Library on Infection (NELI)*
- *National Health and Medical Research Council (NHMRC)*

- *National Institute for Health and Care Excellence (NICE)*
- *National Institute for Health Research (NIHR)*
- *National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)*
- *National Institutes of Health (NIH)*
- *NCBI Bookshelf*
- *New Zealand Guidelines group*
- *New Zealand Health technology Assessment*
- *Norwegian Knowledge Centre for the Health Services*
- *Office fédéral de la santé publique (OFSP)*
- *Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN)*
- *Organisation mondiale de la santé (OMS)*
- *Portail Canadien des pratiques exemplaires*
- *Public Health England (PHE)*
- *Royal Australian College of General Practitioners (RACGP)*
- *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (RSTMH)*
- *Santé Canada*
- *Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN)*
- *Servicio Vasco de Salud Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias*
- *Singapore Ministry of Health*
- *Sistema Nazionale Linee Guida*
- *Swedish Council on Technology Assessment in Health Care*
- *Swiss Medical Board*
- *The Health Council of the Netherlands*
- *The Netherlands Organisation for Health Research and Development*
- *Toward Optimized Practice Alberta Doctors Alberta Medical Association*
- *Trip Database*
- *US Department of Veterans Affairs*

Annexe 2. Liste des tableaux et figures

Tableau 1. Liste des actes évalués, ou en lien avec l'évaluation ; libellés actuels et propositions de modification ; nombre de réalisations en France en 2014 et 2015.	6
Tableau 2. Stratégie de recherche bibliographique.....	11
Tableau 3. Principales conclusions des méta-analyses.....	17
Figure 1. Diagramme de sélection des références bibliographiques.	13

Annexe 3. Grille AMSTAR

	Questions	Réponses
1	A-t-on fourni un plan « a priori » ? La question à l'étude et les critères d'inclusion devraient être établis avant l'exécution de l'examen systématique.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet
2	Existait-il un double moyen de choisir le sujet d'analyse et d'extraire les données ? Il devrait exister au moins deux extracteurs de données indépendants et un mécanisme pour arriver à un consensus dans les cas de divergences.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet
3	A-t-on effectué une recherche complète dans la littérature ? La recherche devrait porter sur au moins deux sources électroniques. Le rapport doit inclure les années et les bases de données utilisées (exemple : <i>Central</i> , <i>Embase</i> et <i>Medline</i>). Les auteurs doivent fournir les mots clés et/ou les termes de la chaîne utilisés et, lorsque cela est possible, la stratégie de recherche. Toutes les recherches doivent être complétées par une consultation des contenus courants, des revues, des manuels, des registres spécialisés ou de spécialistes du domaine d'étude, et par une revue des références contenues dans les études.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet
4	La nature d'une publication (exemple : littérature grise) a-t-elle servi de critère d'inclusion ? Les auteurs devraient déclarer qu'ils ont cherché des rapports d'études sans égard pour le type de publication. Ils devraient aussi dire s'ils ont exclu des rapports à cause de la nature de la publication, de sa langue, etc.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet
5	Les auteurs devraient-ils fournir la liste des études incluses et des études exclues ? Les auteurs devraient fournir la liste des études incluses et des études exclues.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet
6	Les auteurs ont-ils fourni une description des caractéristiques des études incluses ? Présentées sous une forme condensée comme un tableau, les données de l'étude originale devraient inclure les participants, les interventions et les résultats. L'étude devrait rendre compte des différentes caractéristiques de toutes les études analysées (exemple : âge, race, sexe, données socio-économiques pertinentes, état de la maladie, durée, sévérité ou autres maladies).	Oui Non Ne peut répondre Sans objet
7	La qualité scientifique des études incluses dans l'examen a-t-elle été analysée et documentée ? Les méthodes d'évaluation <i>a priori</i> devraient être fournies (pour les études d'efficacité si l'auteur a choisi de n'inclure que les études aléatoires, les essais à double insu, les essais comparatifs avec placebo, ou l'allocation dissimulée utilisée comme critère d'inclusion) ; pour d'autres types d'études, des éléments différents pourront être pertinents.	Oui Non Ne peut répondre Sans objet

	Questions	Réponses
8	<p>La qualité scientifique des études incluses a-t-elle été utilisée de façon appropriée dans la formulation des conclusions ?</p> <p>Les résultats au chapitre de la rigueur méthodologique et de la qualité scientifique devraient être pris en compte dans l'analyse et les conclusions de l'examen systématique, et devraient être mentionnés explicitement dans la formulation des recommandations.</p>	<p>Oui Non Ne peut répondre Sans objet</p>
9	<p>Les méthodes de groupement des résultats des études étaient-elles appropriées ?</p> <p>Lorsqu'on regroupe des résultats, on devrait d'abord vérifier si les études sont combinables en appliquant un test d'homogénéité (par exemple, le test I^2 qui détermine l'homogénéité des données). S'il existe de l'hétérogénéité, on devrait utiliser un modèle d'analyse des effets aléatoires et/ou considérer la pertinence de regrouper les résultats des études (est-il approprié de les regrouper ?).</p>	<p>Oui Non Ne peut répondre Sans objet</p>
10	<p>A-t-on analysé la possibilité d'un biais de publication ?</p> <p>L'analyse d'un biais de publication devrait inclure des représentations graphiques (par exemple, graphique en entonnoir ou autres tests disponibles) et/ou des analyses statistiques (par exemple : le test de régression d'Egger).</p>	<p>Oui Non Ne peut répondre Sans objet</p>
11	<p>A-t-on déclaré les conflits d'intérêts ?</p> <p>Les sources potentielles de soutien devraient être clairement reconnues dans les examens systématiques et dans les études incluses dans ces examens.</p>	<p>Oui Non Ne peut répondre Sans objet</p>

D'après Shea et al., 2007 (13)

Annexe 4. Analyse critique des méta-analyses et revues systématique avec la grille AMSTAR

Références	1*	2*	3*	4*	5*	6*	7*	8*	9*	10*	11*	Qualité méthodologique globale
De Ruitter <i>et al.</i> , 2014 (11)	Oui	Oui	Oui	Ne peut répondre	Oui pour les études incluses. Non pour les études exclues.	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui aucun lien déclaré	Qualité méthodologique d'élaboration moyenne, avec études incluses de faible niveau de preuve et à haut risque de biais, méta-analyse des données d'études prospectives (séries consécutives de patients regroupées avec des séries de cas). L'hétérogénéité vient notamment des types d'échantillons biologiques (sang, moelle osseuse...), des techniques de biologie moléculaire utilisées, du gène cible et du type d'étude (série de cas et séries consécutives). 36 études incluses au total.
Martins Gomes <i>et al.</i> , 2015 (12)	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui pour les études incluses. Non pour les études exclues.	Oui	Oui	Non	Oui	Non	Ne peut répondre	Qualité méthodologique d'élaboration moyenne, avec études incluses de faible niveau de preuve. 14 études de séries de cas ou étude de cohortes. L'hétérogénéité vient notamment du test de référence composite, des types d'échantillons biologiques (sang, biopsie...), des techniques de biologie moléculaire utilisées et du type d'étude (série de cas et séries consécutives). Les gènes cibles ne sont pas clairement renseignés.

* Les colonnes notées de 1 à 11 correspondent aux questions de la grille AMSTAR présentée en Annexe 3.

Annexe 5. Réponses *in extenso* des parties prenantes

Réponses du Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière



QUESTIONNAIRE ET RELECTURE DU DOCUMENT PROVISOIRE ET CONFIDENTIEL

ACTUALISATION DES ACTES DE BIOLOGIE MÉDICALE RELATIFS AU DIAGNOSTIC DE LA LEISHMANIOSE

MAI 2017

L'objectif de ce questionnaire est de recueillir la position de votre organisme professionnel ou du Centre national de référence quant à l'utilité, les indications et les conditions de réalisation des actes de biologie médicale permettant le diagnostic et le suivi de la leishmaniose, en vue de modifier la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM). Il n'a pas pour but d'évaluer le traitement ou la prise en charge globale de cette maladie.

Nous nous permettons d'attirer votre attention sur la nécessité d'argumenter vos réponses et de citer chaque fois que possible les documents sources qui répondent aux critères de sélection énoncés dans l'argumentaire (partie 2.1) et de les joindre aux réponses du questionnaire.

Le sujet sur lequel la HAS vous interroge est l'évolution des actes de la NABM concernant le diagnostic et le suivi de la leishmaniose.

Veuillez noter que l'ensemble des parties prenantes interrogées a reçu ce même questionnaire, votre organisme peut donc ne pas être concerné par certaines questions et ne pas y répondre. La liste des organismes consultés se trouve page 15 du rapport.

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

Nos contraintes calendaires d'évaluation nécessitent que vous nous retourniez votre réponse par voie électronique avant le **lundi 29 mai 2017** (has.seap.secretariat@has-sante.fr). Au-delà de cette échéance, nous estimerons que vous n'avez pas d'observations.

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



A – Actes de biologie médicale pour le diagnostic et le suivi de la leishmaniose

De l'argumentaire ci-joint, il ressort les éléments suivants qui sont résumés ci-après dans le tableau :

Libellé <u>actuel</u> de l'acte à la NABM (avril 2016)	Propositions de <u>modifications</u> émises par la CNAMTS	Synthèse de l'analyse de la littérature
Sérologie parasitaire – Leishmaniose		
Dépistage par au moins 2 techniques parmi les suivantes : EIA - IFI – AGG (code 4344)	Modification Pour les leishmanioses viscérales ou cutanéomuqueuses, recherche d'anticorps par une des techniques suivantes : EIA, IFI.	Les techniques retenues EIA (« ELISA » et IFI ne sont pas explicitement mentionnées dans la méta-analyse sélectionnée). La sérologie (sans autres précisions) fait partie, avec la clinique et l'observation microscopique, des techniques diagnostiques de la leishmaniose viscérale dans le test de référence des méta-analyses. Les référentiels français (ANOFEL, REMIC et PILLY) retiennent ces techniques pour la recherche des Ac sériques, et la limitent aux formes viscérales.
Test de confirmation par IE (<i>Western-blot</i>)	Maintien (aucune modification envisagée)	Il est mentionné dans les référentiels français (ANOFEL, REMIC et PILLY).
Suivi avec examen itératif du sérum ayant servi au sérodiagnostic de dépistage par une des techniques mises en œuvre pour ce dépistage	Suppression	N'est mentionné par aucun document. Les recommandations de bonne pratique françaises préconisent un suivi par PCR des personnes vivant avec le VIH immunodéprimées.
Parasitologie		
na	Création d'un acte Recherche de l'ADN de <i>Leishmania</i> dans un prélèvement sanguin ou tissulaire par amplification génique avec estimation quantitative.	Les deux méta-analyses présentent des valeurs de performances diagnostiques pour la PCR mais les études incluses présentent un risque de biais élevé. Elle est mentionnée par les référentiels français (ANOFEL, REMIC et PILLY). Elle utilisée en France par le CNR et 11 autres laboratoires ¹ . La séquence des examens n'est pas clairement établie. La pertinence clinique d'un suivi après traitement n'est pas explicite. L'utilité clinique de la sérologie en complément de la PCR n'est pas explicite.

¹ La HAS avec le CNR a identifié 15 laboratoires susceptibles d'utiliser en routine la PCR Leishmaniose. À ce jour, 11 des 15 laboratoires ont confirmé cette pratique en précisant le volume de réalisation de cet acte.



Avez-vous des commentaires à faire ou des éléments supplémentaires à apporter par rapport à l'analyse de la littérature pour chacun des actes énoncés dans le tableau ci-dessus ?

Quelle est votre position par rapport aux modifications proposées sur chacun de ces actes ?

A1

(Veuillez argumenter vos réponses et citer chaque fois que possible les documents sources, ou mentionner explicitement l'absence de données publiées).

Réponse :

Les modifications et le maintien du sérodiagnostic ainsi que la création de l'acte « Recherche de l'ADN de Leishmania » comme proposées dans le présent rapport sont conformes à nos attentes et répondent à une pratique clinico-biologique efficiente.



B – Précisions des indications et populations cibles

Veuillez argumenter vos réponses et citer chaque fois que possible les documents sources, ou mentionner explicitement l'absence de données publiées.

Recherche de l'ADN *Leishmania* (PCR)

Pour rappel, la demande propose la recherche de leishmanie par PCR devant toute suspicion de leishmaniose.

Dans quelles situations cliniques (populations cibles) la PCR *Leishmania* (recherche de l'ADN) est-elle indiquée ? Est-elle indiquée devant toutes suspicions de leishmaniose ? Est-elle indiquée devant toutes les formes de leishmaniose (LV, LCM, LC) ?

Réponse :

*Le diagnostic moléculaire, appliqué aussi bien à la leishmaniose viscérale qu'aux formes cutanée ou muqueuse, est plus sensible que les méthodes classiques. De plus, la très bonne spécificité et la rapidité de rendu de résultat par rapport à la culture le placent comme un élément indispensable du diagnostic biologique et du suivi thérapeutique. Il permet aussi de détecter l'ADN parasite dans des échantillons ou des cultures contaminées par des bactéries ou des champignons, et de réaliser, sur le même échantillon, une identification de l'espèce de *Leishmania* en cause.*

B1

->Les indications sont (i) tous les cas de forte suspicion de leishmaniose quelle que soit la forme, notamment quand l'examen direct est négatif ; (ii) le suivi thérapeutique des cas de leishmaniose viscérale

*Ref : Mary C, et al. Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity. J Clin Microbiol 2004 ; 42 : 5249-55.*

Pour chacune des indications mentionnées en B1, sur quel type d'échantillon est réalisée la PCR (sang, moelle osseuse, fragment cutané...) ? Quelle est la nature du résultat (qualitatif, quantitatif) ?

B2

Réponse : Tous les types d'échantillons (fonction de la forme clinique incluant les écouvillonnages appuyés) sont acceptables

Cf. rapport du CNR <http://www.parasitologie.univ-montp1.fr/cnrl.htm>

Quelle est le gène cible de l'amplification génique ?

Réponse :

- ADN ribosomal

- Mini-cercle ADNk

- Analyse du polymorphisme nucléotidique d'une région de 1265 pbs du gène de la RNA polymérase II

B3



B4 Quelles situations cliniques précises imposent un suivi par PCR ?

Réponse :
Patients traités pour leishmaniose viscérale

B5 Pour chacune de ces situations énoncées en B4, dans quelles conditions le suivi est-il réalisé (type d'échantillons, fréquence des recherches, durée du suivi...) ?

Réponse :
La PCR est faite sur un prélèvement de sang périphérique

B6 Quelle est la nature du résultat pour le suivi (qualitatif, quantitatif) ?
Quelles sont les conséquences du résultat sur la prise en charge du patient ?

Réponse : Pour le suivi, le résultat est qualitatif

Sérologie (recherche des Ac sériques)

Pour rappel, la demande propose de ne réserver la sérologie qu'aux formes viscérales ou cutanéomuqueuses en complément de la recherche par PCR.

B7 Dans quelles situations cliniques (populations cibles) la sérologie (recherche d'Ac sérique anti-*Leishmania*) est-elle indiquée ?

Réponse : LV, LCM

B8 Quelles sont les techniques à utiliser (ELISA, IFI) ? La technique AGG ne figure ni dans les référentiels, ni dans la littérature analysée, est-elle obsolète ?

Réponse : ELISA, IF confirmation par WBlot

B9 Quelle est l'utilité de la confirmation par IE « western-blot » ? Est-elle nécessaire ?

Réponse :
Utilité majeure du fait de la grande spécificité du WB
Cf. Le Fichoux et al, Poster, WorldLeish 2, 2001, Hersonissos, Greece

Séquence des examens

La littérature mentionnée dans l'argumentaire (référentiels français, recommandations, méta-analyses) ne permet pas d'identifier une séquence de réalisation claire des examens suivants : examen microscopique, PCR et sérologie.

B5 Quelle est la séquence de réalisation de ces trois examens pour chacune des situations cliniques (LV, LC, LCM) ? Pouvez-vous proposer un algorithme de diagnostic pour chacune des situations cliniques ? Sur quels arguments ?

Réponse : voir ci-dessous



- 1) LC – LCM : Sérologie avec WB + PCR -> si Neg alors Stop
-> si Pos alors ED et refaire à distance si 1^{ère} PCR neg
- 2) LV : en parallèle Sérologie + ED+ PCR

B6

Qu'apporte la sérologie en plus de PCR dans les formes viscérales ? La PCR seule n'est-elle pas suffisante ?

Réponse :

Voir plus loin



REMARQUES LIBRES

Les recommandations françaises et européennes mentionnées dans l'argumentaire ne traitent pas du diagnostic de la leishmaniose.

Avez-vous connaissance de recommandations de bonne pratique traitant du diagnostic de la leishmaniose (abordant la PCR et la sérologie) dont les préconisations sont applicables et adaptées à la pratique française ?

Si oui, quelles sont ces recommandations de bonne pratique ? Le cas échéant, quelles préconisations de ces recommandations entérinez-vous pour la pratique française ?

R1 Réponse :

PCR sur biopsie cutanée beaucoup plus souvent positive que toutes les autres techniques conventionnelles (Selon expériences locales de différents CHU, augmentation de 1 à 10 diagnostics positifs grâce à l'envoi au CNR de lésions cutanées systématiquement biopsiées)

Western blot : certaines Leishmanioses cutanées de l'ancien monde (autre LCM) ont une sérologie positive par la technique de WB développée à Nice alors que les techniques de 1ère intention conventionnelle sont négatives. Avis favorable pour passer le WB en 1ère intention comme technique complémentaire en cas de forte suspicion clinique de leishmaniose

Avez-vous des informations complémentaires à apporter ?

R2 Réponse : non

Avez-vous des observations sur la version intermédiaire de l'argumentaire de la HAS fourni (contexte et analyse de la littérature) avec ce questionnaire (lisibilité, omissions, erreur, points à ajouter, autre...) ?

R3 Réponse :

Pas de recommandations de WB dans les leishmanioses cutanées c'est dommage mais c'est dû à un manque de données bibliographiques, à voir avec le CNR s'il y a des données nationales complémentaires non publiées

PCR sur biopsie cutanée à conseiller systématiquement en cas de forte suspicion clinique de leishmaniose (LC)

La HAS vous remercie pour le temps que vous avez consacré à répondre à ce questionnaire et à relire son document d'évaluation.

Réponses de la Société de pathologie exotique



Avez-vous des commentaires à faire ou des éléments supplémentaires à apporter par rapport à l'analyse de la littérature pour chacun des actes énoncés dans le tableau ci-dessus ?

Quelle est votre position par rapport aux modifications proposées sur chacun de ces actes ?

(Veuillez argumenter vos réponses et citer chaque fois que possible les documents sources, ou mentionner explicitement l'absence de données publiées).

A1

Réponse : Concernant la modification du code 4344, on peut proposer d'ajouter comme technique pour la recherche d'anticorps en plus de l'EIA et de l'IFI le test de diagnostic rapide (TDR) IT Leish distribué par Biorad en France. Ce test très sensible et très spécifique (très utilisé hors de France) détecte des anticorps dirigés contre l'antigène rK39 spécifique de Leishmania. Il présente l'intérêt de donner le résultat en moins d'une heure de temps et ne nécessite pas de matériel sophistiqué (Marty et al, Med Trop, 2007, 67, 79-85).

L'IE (Western-Blot) en raison de sa plus grande sensibilité peut rendre service en première ligne pour le diagnostic des leishmanioses tégumentaires en orientant le diagnostic avant de pratiquer un prélèvement plus invasif (Pomares et al, Tr Roy Soc Trop Med Hyg, 2012, 106, 452-454).

Toutes les autres propositions de modification, de maintien, de suppression ou de création d'actes sont recevables tant pour la sérologie parasitaire que pour la parasitologie.



B – Précisions des indications et populations cibles

Veillez argumenter vos réponses et citer chaque fois que possible les documents sources, ou mentionner explicitement l'absence de données publiées.

Recherche de l'ADN *Leishmania* (PCR)

Pour rappel, la demande propose la recherche de leishmanie par PCR devant toute suspicion de leishmaniose.

B1 Dans quelles situations cliniques (populations cibles) la PCR *Leishmania* (recherche de l'ADN) est-elle indiquée ? Est-elle indiquée devant toutes suspicions de leishmaniose ? Est-elle indiquée devant toutes les formes de leishmaniose (LV, LCM, LC) ?

Réponse : La PCR Leishmania est indiquée dans le sang et la moelle osseuse pour le diagnostic de LV et sur biopsie, ponction, aspiration, grattage de peau et de muqueuse pour le diagnostic de LC ou de LCM.

B2 Pour chacune des indications mentionnées en B1, sur quel type d'échantillon est réalisée la PCR (sang, moelle osseuse, fragment cutané...) ? Quelle est la nature du résultat (qualitatif, quantitatif) ?

Réponse : le résultat de la PCR doit être quantitatif pour le sang et qualitatif pour les autres échantillons.

B3 Quelle est le gène cible de l'amplification génique ?

Réponse : ADN kinétoplastique.

B4 Quelles situations cliniques précises imposent un suivi par PCR ?

Réponse : Tous les patients présentant une LV.

B5 Pour chacune de ces situations énoncées en B4, dans quelles conditions le suivi est-il réalisé (type d'échantillons, fréquence des recherches, durée du suivi...) ?

Réponse : Prélèvements sanguins (5 à 10 ml sur tube EDTA) à 1 mois, 3 mois, 6 mois et un an après la fin du traitement.

B6 Quelle est la nature du résultat pour le suivi (qualitatif, quantitatif) ?
Quelles sont les conséquences du résultat sur la prise en charge du patient ?



Réponse : si diminution de la charge parasitaire dans le suivi : évolution favorable, si augmentation de la charge parasitaire dans le suivi restaurer l'immunité et modifier la thérapeutique.

Le suivi par PCR permet de dépister les rechutes.

Sérologie (recherche des Ac sériques)

Pour rappel, la demande propose de ne réserver la sérologie qu'aux formes viscérales ou cutanéomuqueuses en complément de la recherche par PCR.

B7 Dans quelles situations cliniques (populations cibles) la sérologie (recherche d'Ac sérique anti-*Leishmania*) est-elle indiquée ?

Réponse : La sérologie est un outil de première ligne : EIA, IFI ou TDR pour la LV ; western blot peut être proposé en première ligne pour les LC et LCM.

B8 Quelles sont les techniques à utiliser (ELISA, IFI) ? La technique AGG ne figure ni dans les référentiels, ni dans la littérature analysée, est-elle obsolète ?

Réponse : La technique AGG est obsolète, elle doit être remplacée par le TDR (cf supra).

B9 Quelle est l'utilité de la confirmation par IE « western-blot » ? Est-elle nécessaire ?

Réponse : l'IE western blot est une excellente technique en raison de sa grande sensibilité chez les patients immunodéprimés et dans les leishmanioses tégumentaires où elle pourrait être réalisée en première ligne.

Séquence des examens

La littérature mentionnée dans l'argumentaire (référentiels français, recommandations, méta-analyses) ne permet pas d'identifier une séquence de réalisation claire des examens suivants : examen microscopique, PCR et sérologie.

B5 Quelle est la séquence de réalisation de ces trois examens pour chacune des situations cliniques (LV, LC, LCM) ? Pouvez-vous proposer un algorithme de diagnostic pour chacune des situations cliniques ? Sur quels arguments ?

Réponse : Pour la LV, sérologie en TDR et IE, si négativité des 2 tests stop ; si positivité d'un des 2 tests PCR dans le sang ; pour les LCM et LC, sérologie en IE, si négativité stop, si positivité PCR sur échantillon muqueux ou cutané.

B6 Qu'apporte la sérologie en plus de PCR dans les formes viscérales ? La PCR seule n'est-elle pas suffisante ?



Réponse : La sérologie doit être faite en première ligne pour le diagnostic, elle n'est pas nécessaire pour le suivi. Une technique sérologique comme le TDR permettra, en cas de sa positivité, la mise en route très rapide du traitement sans attendre la positivité de la PCR. Sa réalisation qui prendra plus de temps confirmera le diagnostic de LV. La PCR seule suffira pour le suivi.



REMARQUES LIBRES

Les recommandations françaises et européennes mentionnées dans l'argumentaire ne traitent pas du diagnostic de la leishmaniose.

Avez-vous connaissance de recommandations de bonne pratique traitant du diagnostic de la leishmaniose (abordant la PCR et la sérologie) dont les préconisations sont applicables et adaptées à la pratique française ?

Si oui, quelles sont ces recommandations de bonne pratique ? Le cas échéant, quelles préconisations de ces recommandations entérinez-vous pour la pratique française ?

R1

Réponse :

A ma connaissance, il n'y a pas de recommandation officielle ni européenne ni mondiale. Toutefois, l'OMS préconise pour les zones de forte endémie qui sont pour la plupart des pays en développement des tests simples et peu coûteux pour le terrain (La lutte contre les leishmanioses, Rapport de la réunion d'experts de la lutte contre les leishmanioses, Genève, 22-26 mars, 2010, OMS, série de rapports techniques, 949). Les TDR rK39 sont très utilisés dans ce contexte avec une très bonne sensibilité et d'excellentes valeurs prédictives positives et négatives. De plus, ces TDR ne nécessitent aucun matériel sophistiqué et le résultat est donné en moins d'une heure. Nous disposons en France d'un TDR commercialisé et il est regrettable qu'il ne soit pas proposé en première ligne car il est au moins aussi sensible que l'IFI ou l'EIA.

R2

Avez-vous des informations complémentaires à apporter ?

Réponse : Chez les patients peu immunodéprimés, le TDR présente un rapport coût efficacité bien supérieur à la PCR.

R3

Avez-vous des observations sur la version intermédiaire de l'argumentaire de la HAS fourni (contexte et analyse de la littérature) avec ce questionnaire (lisibilité, omissions, erreur, points à ajouter, autre...) ?

Réponse : cf supra

La HAS vous remercie pour le temps que vous avez consacré à répondre à ce questionnaire et à relire son document d'évaluation.

Réponses du Service de santé des armées



Avez-vous des commentaires à faire ou des éléments supplémentaires à apporter par rapport à l'analyse de la littérature pour chacun des actes énoncés dans le tableau ci-dessus ?

Quelle est votre position par rapport aux modifications proposées sur chacun de ces actes ?

(Veuillez argumenter vos réponses et citer chaque fois que possible les documents sources, ou mentionner explicitement l'absence de données publiées).

Réponse :

Position par rapport aux modifications des actes :

A1

Les techniques de dépistage doivent se limiter à l'ELISA et l'IFI avec des sensibilités et spécificités comparables (Maia). Les techniques d'agglutination ne sont plus pratiquées.

La technique de western blot doit être maintenue en méthode de confirmation même si son intérêt mérite d'être confirmé.

Le suivi sérologique sous traitement n'a jamais été établi et doit être remplacé par les techniques de biologie moléculaire.

Le diagnostic biologique de la leishmaniose est souvent difficile. Chez les sujets immunodéprimés, les sérologies manquent de sensibilité. L'utilisation de la biologie moléculaire pour le diagnostic positif devient un outil indispensable.

L'utilisation de la PCR quantitative pourrait permettre un suivi sous traitement dans cette même population où la clairance parasitaire est difficile à obtenir.

Maia Z, Lírio M, Mistro S, Mendes CM, Mehta SR, Badaro R. Comparative study of rK39 Leishmania antigen for serodiagnosis of visceral leishmaniasis: systematic review with meta-analysis. Maia Z, Lírio M, Mistro S, Mendes CM, Mehta SR, Badaro R. PLoS Negl Trop Dis. 2012 Jan;6(1):e1484. Review



B – Précisions des indications et populations cibles

Veillez argumenter vos réponses et citer chaque fois que possible les documents sources, ou mentionner explicitement l'absence de données publiées.

Recherche de l'ADN *Leishmania* (PCR)

Pour rappel, la demande propose la recherche de leishmanie par PCR devant toute suspicion de leishmaniose.

Dans quelles situations cliniques (populations cibles) la PCR *Leishmania* (recherche de l'ADN) est-elle indiquée ? Est-elle indiquée devant toutes suspicions de leishmaniose ? Est-elle indiquée devant toutes les formes de leishmaniose (LV, LCM, LC) ?

Réponse :

B1

Devant la faible sensibilité de l'examen microscopique et les sensibilités et spécificités faibles de la sérologie, la PCR doit être une des techniques de première intention quelle que soit la forme clinique. Dans les LV, elle permet le diagnostic positif. Dans les LC, la PCR spécifique *L. braziliensis* permet une prise en charge thérapeutique orientée. La réalisation de la PCR ne doit pas exclure l'examen microscopique qui lorsqu'il est positif apporte seul un diagnostic de certitude. Des PCR positives sont rapportées chez des porteurs asymptomatiques. Enfin la culture, même si elle est contraignante (délai, conditions de sécurité), permet d'apporter le diagnostic dans certains cas et de typer les souches.

Pour chacune des indications mentionnées en B1, sur quel type d'échantillon est réalisée la PCR (sang, moelle osseuse, fragment cutané...) ? Quelle est la nature du résultat (qualitatif, quantitatif) ?

Réponse : Les échantillons utilisés pour réaliser la PCR sont :

B2

LC : grattage de la lésion, mais avec une plus grande sensibilité, la biopsie cutanée
 LV : sang périphérique et ponction de moelle osseuse, plus rarement ponction ou biopsie ganglionnaire. Les recherches de parasites dans le sang périphérique et dans la moelle osseuse présentent les mêmes sensibilités mais les LV s'accompagnent de cytopénies dont l'exploration nécessitera un myélogramme.
 En l'absence de standardisation de la technique de PCR, un diagnostic qualitatif est suffisant pour un diagnostic positif.

Quelle est le gène cible de l'amplification génique ?

B3

Réponse : Les deux cibles les plus couramment utilisées sont l'ADN ribosomal 18S et l'ADN du kinétoplaste avec des sensibilités équivalentes (11).

Quelles situations cliniques précises imposent un suivi par PCR ?

B4

Réponse :

Le suivi par PCR n'a vraiment d'intérêt que dans les LV et notamment chez les sujets



immunodéprimés, principalement chez les sujets infectés par le VIH. Sa place chez le sujet immunocompétent doit être mieux évaluée afin de prédire les rares rechutes (Pourabbas).

Bahman Pourabbas, Abdolkarim Ghadimi Moghadam, Gholamreza Pouladfar, Zahra Rezaee, Abdolvahab Alborzi. Quantification of *Leishmania infantum* Kinetoplast DNA for Monitoring the Response to Meglumine Antimoniate Therapy in Visceral Leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg. 2013 May 1; 88(5): 868–871.

B5 Pour chacune de ces situations énoncées en B4, dans quelles conditions le suivi est-il réalisé (type d'échantillons, fréquence des recherches, durée du suivi...) ?
Réponse :

B6 Quelle est la nature du résultat pour le suivi (qualitatif, quantitatif) ?
Quelles sont les conséquences du résultat sur la prise en charge du patient ?
Réponse :

Sérologie (recherche des Ac sériques)

Pour rappel, la demande propose de ne réserver la sérologie qu'aux formes viscérales ou cutanéomuqueuses en complément de la recherche par PCR.

B7 Dans quelles situations cliniques (populations cibles) la sérologie (recherche d'Ac sérique anti-*Leishmania*) est-elle indiquée ?
Réponse : *Etant donné la nature de la réponse immunitaire en fonction de la forme clinique, la sérologie n'a sa place que dans les LV et LCM.*

B8 Quelles sont les techniques à utiliser (ELISA, IFI) ? La technique AGG ne figure ni dans les référentiels, ni dans la littérature analysée, est-elle obsolète ?
Réponse : *Les techniques ELISA et IFI sont les seules d'intérêt. La nature de l'Ag utilisé dans les techniques ELISA conditionne la valeur des tests (Maia et al.). Les rares trousse diagnostiques commercialisées doivent être évaluées. Les techniques d'agglutination doivent être remplacées par les techniques d'immunochromatographie utilisant l'Ag rk39 : ces TDR peuvent être facilement mises en œuvre dans les zones démunies.*

B9 Quelle est l'utilité de la confirmation par IE « western-blot » ? Est-elle nécessaire ?
Réponse : *Même si les techniques de dépistage présentent des réactions croisées que les WB peuvent éliminer, la difficulté d'interprétation des sérologies de dépistage (ELISA et IFI) est due en grande partie au portage asymptomatique de leishmanies,*



aux infections anciennes et non au manque de spécificité.

Séquence des examens

La littérature mentionnée dans l'argumentaire (référentiels français, recommandations, méta-analyses) ne permet pas d'identifier une séquence de réalisation claire des examens suivants : examen microscopique, PCR et sérologie.

Quelle est la séquence de réalisation de ces trois examens pour chacune des situations cliniques (LV, LC, LCM) ? Pouvez-vous proposer un algorithme de diagnostic pour chacune des situations cliniques ? Sur quels arguments ?

B5

Réponse : L'examen microscopique, réalisé sur les mêmes prélèvements que la PCR, manque de sensibilité mais reste très rapide et le plus spécifique. Il ne peut être effectué que par des équipes entraînées. En cas de positivité, le diagnostic positif est posé. En cas de négativité, la PCR apporte sa grande sensibilité et la possibilité d'un suivi sous traitement dans les LV.

*Dans tous les cas de LC, une PCR spécifique *L. braziliensis* est réalisée de manière à orienter le traitement.*

La sérologie n'est effectuée que dans le cadre des LV et son interprétation doit être prudente (portage asymptomatique, faux négatifs en cas d'immunodépression).

En pratique :

LV : PCR sur sang et moelle osseuse, examen microscopique sur moelle et sérologie

*LC : examen microscopique et PCR (*L. braziliensis*) sur prélèvement cutané.*

Qu'apporte la sérologie en plus de PCR dans les formes viscérales ? La PCR seule n'est-elle pas suffisante ?

B6

Réponse : La sérologie fait partie d'un faisceau d'arguments au même titre que le contexte épidémiologique et les signes cliniques. Elle sera utile en cas de présence d'inhibiteurs fréquents sur les matrices utilisées pour le diagnostic (sang, moelle).



REMARQUES LIBRES

Les recommandations françaises et européennes mentionnées dans l'argumentaire ne traitent pas du diagnostic de la leishmaniose.

- R1** Avez-vous connaissance de recommandations de bonne pratique traitant du diagnostic de la leishmaniose (abordant la PCR et la sérologie) dont les préconisations sont applicables et adaptées à la pratique française ?
Si oui, quelles sont ces recommandations de bonne pratique ? Le cas échéant, quelles préconisations de ces recommandations entérinez-vous pour la pratique française ?

Réponse :

Avez-vous des informations complémentaires à apporter ?

- R2** Réponse : *La PCR devient un outil incontournable. Les rares laboratoires la pratiquant utilisent des techniques « maison ». A l'instar de nombreuses infections parasitaires, une standardisation de cette technique serait souhaitable et deviendra obligatoire dans le contexte de l'accréditation des laboratoires.*

- R3** Avez-vous des observations sur la version intermédiaire de l'argumentaire de la HAS fourni (contexte et analyse de la littérature) avec ce questionnaire (lisibilité, omissions, erreur, points à ajouter, autre...) ?

Réponse :

La HAS vous remercie pour le temps que vous avez consacré à répondre à ce questionnaire et à relire son document d'évaluation.

Réponses du Centre national de référence des leishmanioses



Avez-vous des commentaires à faire ou des éléments supplémentaires à apporter par rapport à l'analyse de la littérature pour chacun des actes énoncés dans le tableau ci-dessus ?

Quelle est votre position par rapport aux modifications proposées sur chacun de ces actes ?

(Veuillez argumenter vos réponses et citer chaque fois que possible les documents sources, ou mentionner explicitement l'absence de données publiées).

A1

Réponse : L'utilité de la PCR est démontrée par plusieurs études sérieuses depuis le début des années 2000, tout d'abord pour le diagnostic des leishmanioses viscérales (LV), puis pour les formes cutanées et cutanéomuqueuses (LC ou LCM). Comme souligné dans l'argumentaire, le problème est la qualité extrêmement variable du test PCR selon les innombrables groupes/auteurs, ce qui interdit de se faire une idée précise de "la PCR-Leishmania" au sens général, ou même de considérer cette méthode comme une méthode unique et cohérente.

La sérologie présente un intérêt dans le diagnostic initial des LV et LCM en complément de la PCR afin de pallier aux rares faux négatifs de la PCR. Par contre le suivi sérologique comme marqueur de guérison ou de rechute ne présente pas d'intérêt (données du congrès WorldLeish 2017).

Les autres sujets sont détaillés dans ce document.

A noter qu'une enquête diligentée par l'association ANOFEL a identifié en 2016 14 CHU réalisant la PCR-Leishmania. A la connaissance du CNR, il existe un grand laboratoire privé réalisant ce diagnostic (Biomnis), mais l'examen est retransmis vers un CHU.



B – Précisions des indications et populations cibles

Veillez argumenter vos réponses et citer chaque fois que possible les documents sources, ou mentionner explicitement l'absence de données publiées.

Recherche de l'ADN *Leishmania* (PCR)

Pour rappel, la demande propose la recherche de leishmanie par PCR devant toute suspicion de leishmaniose.

Dans quelles situations cliniques (populations cibles) la PCR *Leishmania* (recherche de l'ADN) est-elle indiquée ? Est-elle indiquée devant toutes suspicions de leishmaniose ? Est-elle indiquée devant toutes les formes de leishmaniose (LV, LCM, LC) ?

B1

Réponse : La PCR est l'examen initial de toutes les formes cliniques de leishmaniose. Son intérêt dans la LV a été démontré par notre équipe dès 2000 (Lachaud et al. 2000) et confirmé par de nombreuses autres équipes (Mary et al. 2004, 2006, Antinori et al. 2007....). Elle est utilisée au CNR depuis plus de 15 ans en première intention et son évaluation au sein du laboratoire sur l'ensemble de la période prouve son efficacité par rapport à la culture et l'examen direct. Elle présente aussi l'avantage d'un rendu de résultat beaucoup plus rapide que la culture (24 à 48h versus 1 à 5 semaines). Elle est réalisable sur un simple prélèvement de sang, ce qui peut permettre d'éviter un prélèvement invasif de moelle osseuse. Enfin, elle est indispensable dans le suivi des LV chez le patient immuno-déprimé.

Pour les LC et LCM, il s'agit dans >95% des cas de maladies d'importation, pour lesquelles le diagnostic d'espèce conditionne la prise en charge thérapeutique. Outre sa meilleure sensibilité dans ce contexte, elle présente l'avantage d'un rendu d'identification d'espèce couplé à la détection de l'ADN du parasite (ce qui n'est pas possible sur le seul examen direct).

L'IDSA et l'ASTMH (Aronson et al. 2016 et 2017) recommandent une approche diagnostique multiple avec la PCR. L'OMS préconise que la PCR soit effectuée chaque fois que possible (Manuel pour la prise en charge de la leishmaniose cutanée dans la Région OMS de la Méditerranée orientale, 2014).

Pour chacune des indications mentionnées en B1, sur quel type d'échantillon est réalisée la PCR (sang, moelle osseuse, fragment cutané...) ? Quelle est la nature du résultat (qualitatif, quantitatif) ?

B2

Réponse :

LV : moelle osseuse et sang, mais tout type d'échantillon lors de formes particulières (ex. ganglionnaire, pulmonaire, hépatique...). La moelle osseuse est le prélèvement de prédilection pour la recherche de leishmanies; l'aspect quantitatif sur cet échantillon n'est pas nécessaire. La détection de *Leishmanies* dans le sang se fera simultanément et sera quantitative. Ceci permet d'estimer la parasitémie et d'assurer un suivi thérapeutique, en particulier chez les patients immunodéprimés à risque de rechutes.

Pour les LC ou LCM, les prélèvements sont locaux et peuvent être des grattages cutanés ou des biopsies ou des prélèvements à la seringue (injection-aspiration).



Quelle est le gène cible de l'amplification génique ?

B3

Réponse : plusieurs séquences cibles ont été décrites. Les deux cibles les plus utilisées sont l'ADN ribosomique et le mini-cercle de l'ADN kinétoplastique (ADNk).

En raison du caractère extrêmement répété de la séquence de l'ADNk, cette dernière permet d'atteindre des sensibilités extrêmement élevées.

L'utilisation de la cible ADNk est (pour la même raison) susceptible de provoquer un taux important de contaminations aéroportées, donc des résultats faux positifs, ce qui implique que les locaux et les conditions de travail pour la réalisation de PCR soient extrêmement bien étudiés pour éviter ces contaminations.

Quelles situations cliniques précises imposent un suivi par PCR ?

B4

Réponse : Les LV du sujet immunodéprimé (risques de rechutes cliniques à moyen ou long terme).

Le suivi post-thérapeutique n'est pas essentiel car (i) l'efficacité du traitement est avant tout évaluée sur des critères cliniques, et (ii) la PCR quantitative est encore moins standardisée que la PCR qualitative.

Pour chacune de ces situations énoncées en B4, dans quelles conditions le suivi est-il réalisé (type d'échantillons, fréquence des recherches, durée du suivi...) ?

B5

Réponse : Suivi à partir des échantillons de sang. Durée du suivi le temps de l'immunodépression profonde, environ tous les 3 mois, et adaptée aux critères de suivi clinique.

Quelle est la nature du résultat pour le suivi (qualitatif, quantitatif) ?

Quelles sont les conséquences du résultat sur la prise en charge du patient ?

B6

Réponse : de préférence qualitatif, la quantification doit être interprétée avec prudence. Le suivi des patients immuno-déprimés demeure indispensable. En effet, la persistance d'une PCR positive quelle que soit la parasitémie doit faire discuter la nécessité de la reprise d'un traitement curatif ou du maintien de la prophylaxie secondaire.

Sérologie (recherche des Ac sériques)

Pour rappel, la demande propose de ne réserver la sérologie qu'aux formes viscérales ou cutanéomuqueuses en complément de la recherche par PCR.

B7

Dans quelles situations cliniques (populations cibles) la sérologie (recherche d'Ac sérique anti-*Leishmania*) est-elle indiquée ?

Réponse : suspicion de LV et de LCM (Aronson et al., CID 2016)



B8 Quelles sont les techniques à utiliser (ELISA, IFI) ? La technique AGG ne figure ni dans les référentiels, ni dans la littérature analysée, est-elle obsolète ?

Réponse : Les techniques sont susceptibles d'évoluer et, selon les fournisseurs, les performances sont variables pour une même technique (par ex. ELISA). A l'heure actuelle, les techniques ELISA et IFI sont les plus couramment utilisées; l'AGG n'est pas obsolète mais il est difficile en dehors des méthodes ELISA d'être sûr du maintien de la commercialisation des autres techniques par les fournisseurs.

B9 Quelle est l'utilité de la confirmation par IE « western-blot » ? Est-elle nécessaire ?

Réponse : Oui, indispensable, du fait de sa très grande spécificité : ceci permet d'éviter les faux positifs

Séquence des examens

La littérature mentionnée dans l'argumentaire (référentiels français, recommandations, méta-analyses) ne permet pas d'identifier une séquence de réalisation claire des examens suivants : examen microscopique, PCR et sérologie.

Quelle est la séquence de réalisation de ces trois examens pour chacune des situations cliniques (LV, LC, LCM) ? Pouvez-vous proposer un algorithme de diagnostic pour chacune des situations cliniques ? Sur quels arguments ?

B5 *Réponse :*
- LV : examen direct + PCR + sérologie lors du primodiagnostic (cf Aronson, 2016); pour le suivi uniquement PCR sur le sang
- LC : examen direct + PCR (pas de suivi systématique, il se fera uniquement en fonction de la clinique)
- LCM : examen direct + PCR + éventuellement sérologie si doute diagnostique. Suivi en fonction de la clinique (PCR et sérologie éventuellement). Il s'agit de formes très rares (moins de 10 par an en France) avec une prise en charge compliquée et une surveillance accrue.

Qu'apporte la sérologie en plus de PCR dans les formes viscérales ? La PCR seule n'est-elle pas suffisante ?

B6 *Réponse :*
L'apport de la sérologie est en effet faible : rares formes PCR neg, sérologie pos; attention, cela dépend aussi des performances du test PCR utilisé.
Néanmoins, il s'agit d'une pathologie relativement rare (moins de 50 cas par an en France) avec un pronostic vital engagé : il est donc important de mettre en œuvre tous les moyens diagnostiques possibles. Il s'agit aussi des recommandations de l'IDSA en 2016.



REMARQUES LIBRES

Les recommandations françaises et européennes mentionnées dans l'argumentaire ne traitent pas du diagnostic de la leishmaniose.

Avez-vous connaissance de recommandations de bonne pratique traitant du diagnostic de la leishmaniose (abordant la PCR et la sérologie) dont les préconisations sont applicables et adaptées à la pratique française ?

R1

Si oui, quelles sont ces recommandations de bonne pratique ? Le cas échéant, quelles préconisations de ces recommandations entérinez-vous pour la pratique française ?

Réponse : IDSA (Aronson et al., CID 2016, AJTMH 2017) ; recommandations de l'OMS 2014.

Les bonnes pratiques recommandées par le CNR concernant la PCR sont celles applicables à tout diagnostic moléculaire d'une maladie infectieuse où la charge en pathogènes est potentiellement peu abondante, donc nécessitant une sensibilité très élevée. Elles concernent le confinement drastique des locaux, le sens du flux pour le personnel, les témoins négatifs et positifs (incl. témoins positifs internes à la recherche d'inhibitions de la PCR)...

Avez-vous des informations complémentaires à apporter ?

R2

Réponse : La culture in vitro n'est pas même mentionnée. Cette méthode n'est plus utilisée pour le diagnostic. Néanmoins, elle présente un intérêt d'une part pour un typage d'espèce a posteriori (en cas de matériel insuffisant pour le typage directement sur le prélèvement), d'autre part pour l'isolement des souches en vue d'études ultérieures (en particulier chimiorésistances). Cette méthode est bien entendu réservée à des centres spécialisés (certains CHU).

Avez-vous des observations sur la version intermédiaire de l'argumentaire de la HAS fourni (contexte et analyse de la littérature) ou avec ce questionnaire (lisibilité, omissions, erreur, points à ajouter, autre...) ?

R3

Réponse :

Argumentaire : Nombreuses études omises : le nombre d'études sur le sujet doit s'élever à plusieurs dizaines, voire centaines. Il ne paraît pas suffisant de se limiter à 8 publications, fussent-elles des méta-analyses.

Questionnaire : L'avis des spécialistes pourrait apparaître biaisé : il serait très intéressant de demander leur avis aux infectiologues les plus aux prises avec ce diagnostic. Leur avis serait certainement aussi clairement que celui du CNR en faveur de l'utilisation des méthodes moléculaires (PCR, ou LAMP dans l'avenir).

La HAS vous remercie pour le temps que vous avez consacré à répondre à ce questionnaire et à relire son document d'évaluation.

Références

1. Haute Autorité de Santé. Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic de la leishmaniose. Feuille de route. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2017.
2. Association française des enseignants de parasitologie et mycologie. Leishmanioses. Dans: Association française des enseignants de parasitologie et mycologie, ed. Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson; 2016. p. 95-107.
3. Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales, Rapp C, Pulcini C, Tattevin P. Leishmanioses. Dans: Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales, Rapp C, Pulcini C, Tattevin P, ed. E. Pilly 2016. Maladies infectieuses et tropicales. 25^e ed. Paris: Alinéa Plus; 2016. p. 463-4.
4. Société française de microbiologie, Société française de mycologie médicale, Société française de parasitologie. Leishmaniose. Dans: Société française de microbiologie, Société française de mycologie médicale, Société française de parasitologie, ed. Rémic 5.2. Référentiel en microbiologie médicale. Paris: SFM; 2015. p. 799-802.
5. Organisation mondiale de la santé. Leishmaniose. Aide-mémoire n°375 [En ligne] 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/fr/>
6. Centre national de référence des leishmanioses, Centre hospitalier universitaire de Montpellier, Université de Montpellier. Centre national de référence des leishmanioses. Rapport annuel d'activité 2015. Année d'exercice 2014. Montpellier: CNR; 2015. http://www.parasitologie.univ-montp1.fr/doc/Rapp_Act_2014_persp-2015_CNR-Leishmanioses.pdf
7. Lachaud L, Dedet JP, Marty P, Faraut F, Buffet P, Gangneux JP, *et al.* Surveillance of Leishmaniasis in France, 1999 to 2012. Euro Surveill 2013;18(29):20534.
8. Blum J, Buffet P, Visser L, Harms G, Bailey MS, Caumes E, *et al.* LeishMan recommendations for treatment of cutaneous and mucosal Leishmaniasis in travelers, 2014. J Travel Med 2014;21(2):116-29.
9. Buffet PA, Rosenthal E, Gangneux JP, Lightburne E, Coupié P, Morizot G, *et al.* Traitement des leishmanioses en France : proposition d'un référentiel consensuel. Presse Méd 2011;40(2):173-84.
10. Centre national de référence des leishmanioses. Centre national de référence des leishmanioses. Annexes au rapport annuel d'activité 2014. Année d'exercice 2013. Montpellier: CNR; 2014. http://www.parasitologie.univ-montp1.fr/doc/Activit%E92013_ANNEXES.pdf
11. De Ruiter CM, van der Veer C, Leeflang MMG, Deborggraeve S, Lucas C, Adams ER. Molecular tools for diagnosis of visceral Leishmaniasis: systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. J Clin Microbiol 2014;52(9):3147-55.
12. Martins Gomes C, Cristina Mazin S, Raphael dos Santos E, Vicente Cesetti M, Albergaria Brízida Bächtold G, de Freitas Cordeiro JH, *et al.* Accuracy of mucocutaneous Leishmaniasis diagnosis using polymerase chain reaction: systematic literature review and meta-analysis. Mem Inst Oswaldo Cruz 2015;110(2):157-65.
13. Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, *et al.* Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Med Res Methodol 2007;7:10.
14. Infectious Diseases Society of America, American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Aronson N, Herwaldt BL, Libman M, Pearson R, *et al.* Diagnosis and treatment of Leishmaniasis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). Clin Infect Dis 2016;63(12):e202-e64.

Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Évaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Juillet 2017
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur www.has-sante.fr
Objectif(s)	Évaluation des techniques et des indications des tests de biologie médicale utilisés dans le diagnostic et le suivi de la leishmaniose
Professionnel(s) concerné(s)	Cf. chapitre 2.3.1
Demandeur	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS)
Promoteur	Haute Autorité de Santé (HAS), Service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Jean-Charles LAFARGE, chef de projet, SEAP (chef de service : Cédric CARBONNEIL, adjoint au chef de service : Denis-Jean DAVID) Secrétariat : Suzie DALOUR, assistante, SEAP
Participants	Expertise externe à la HAS : CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière ; Service de santé des armées ; Société de pathologie exotique, CNR leishmanioses. Cf. Chapitre 2.3.1
Recherche documentaire	De février 2017 à avril 2017 (stratégie de recherche documentaire décrite en Annexe 1) Réalisée par Mireille CECCHIN, documentaliste, avec l'aide de Sylvie LASCOLS, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGES, chef du service documentation - veille, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Jean-Charles LAFARGE, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Collège de la HAS : juillet 2017
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr
Documents d'accompagnement	Avis HAS (juillet 2017) disponible sur www.has-sante.fr

~



Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur
www.has-sante.fr