



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

**AVIS SUR LES ACTES**

# **DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA LEPTOSPIROSE**

**Classement NABM : sous-chapitre 7-04 et non classés – code : 1245 et non codés**

**Juin 2011**

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

**Haute Autorité de Santé**  
Service communication  
2, avenue du Stade de France – 93218 Saint-Denis La Plaine CEDEX  
Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

Ce document a été validé par le Collège de la Haute Autorité de Santé en **juin 2011**.

© Haute Autorité de Santé – **2011**.

## EQUIPE

---

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

M<sup>me</sup> le P<sup>r</sup> Marie-Christine BENE, membre de la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé, a été le membre référent de cette évaluation.

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

---

Pour tout contact au sujet de ce rapport :

Tél. : 01 55 93 71 12

Fax : 01 55 93 74 35

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

## TABLE DES MATIÈRES

---

L'ÉQUIPE.....	3
PRÉAMBULE.....	6
TEXTE COURT DU RAPPORT D'ÉVALUATION : « DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA LEPTOSPIROSE » .....	7
I. CONTEXTE.....	7
II. MÉTHODE D'ÉVALUATION .....	8
III. RÉSULTAT DE L'ÉVALUATION .....	9
III.1 Performances des tests de diagnostic biologique spécifique de la leptospirose .....	9
III.2 Stratégie diagnostique de leptospirose.....	11
IV. CONCLUSION .....	12
IV.1 Pour les techniques de biologie moléculaire avec amplification .....	12
IV.2 Pour la technique sérologique ELISA IgM.....	12
IV.3 Pour la technique sérologique des tests unitaires à lecture visuelle .....	13
IV.4 Pour la technique sérologique de macro-agglutination avec antigène thermorésistant (TR).....	13
CONCLUSION SUR LE SA ET L'ASA.....	15
AVIS DE LA HAUTE AUTORITE DE SANTE .....	16

---

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

---

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

## PRÉAMBULE

---

Dans le cadre de ses missions, la Haute Autorité de Santé (HAS) évalue le service attendu (SA) des actes professionnels, puis rend un avis quant à leur inscription, à la modification de leur condition d'inscription ou à leur radiation de la liste prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale (CSS), c'est-à-dire la liste des actes pris en charge par l'Assurance maladie. L'avis de la HAS est notamment transmis à l'Union nationale des caisses d'assurance maladie (UNCAM) qui prend la décision d'inscrire, de modifier les conditions d'inscription ou de radier les actes.

L'évaluation du SA prend en compte l'intérêt diagnostique ou thérapeutique et l'intérêt de santé publique. Dans l'appréciation de l'intérêt diagnostique ou thérapeutique, sont considérées l'efficacité, la sécurité et la place de l'acte dans la stratégie diagnostique ou thérapeutique. L'intérêt de santé publique est évalué en termes d'impact sur la santé de la population (mortalité, morbidité, qualité de vie, besoin thérapeutique non couvert eu égard à la gravité de la pathologie), d'impact sur le système de soins et d'impact sur les programmes et politiques de santé publique. Ces différents critères d'évaluation du SA sont définis dans l'article R. 162-52-1 du CSS.

Cet article précise également que doit être appréciée l'amélioration du SA (ASA), c'est-à-dire le bénéfice supplémentaire apporté par l'acte évalué par rapport aux techniques alternatives déjà existantes.

Ce document contient les avis de la HAS relatifs au SA et à l'ASA des actes ci dessous et à leur inscription à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du CSS :

- « Test de dépistage par macro-agglutination avec antigène thermorésistant TR » (code : 1245) ;
- « PCR en temps réel pour détection de l'ADN des leptospires » (non codé) ;
- « Test sérologique ELISA IgM » (non codé).

La technique de référence de diagnostic biologique de la leptospirose, la micro-agglutination MAT est inscrite à la NABM (code 1312).

Ces avis s'appuient sur l'argumentaire et les conclusions du rapport d'évaluation technologique « Diagnostic biologique de la leptospirose » (juin 2011) de la HAS dont le texte court figure ci-après. Ce rapport est disponible sur le site de la HAS.

## TEXTE COURT DU RAPPORT D'ÉVALUATION : « DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA LEPTOSPIROSE »

---

### I. CONTEXTE

La leptospirose est une zoonose causée par une bactérie du genre *Leptospira* de l'ordre *Spirochaetales*. C'est une infection de répartition mondiale prédominante dans des zones chaudes et humides. Les leptospires sont les bactéries susceptibles d'infecter un grand nombre de mammifères sauvages (rongeurs, ruminants, etc.) et domestiques (bovins, ovins, caprins, porcs, chiens) qui les excrètent dans leur urine. Les bactéries peuvent survivre plusieurs mois dans un milieu humide et chaud. Tous les sérovars pathogènes pour les animaux peuvent être également pathogènes pour l'homme.

La présentation clinique de la leptospirose est extrêmement polymorphe, allant d'un syndrome pseudo-grippal bénin à une atteinte hépatorénale potentiellement létale. Compte tenu du polymorphisme sémiologique, l'établissement du diagnostic de leptospirose repose sur la conjonction d'arguments cliniques, biologiques et épidémiologiques. Le traitement étiologique de la leptospirose repose sur l'antibiothérapie, qui est d'autant plus efficace qu'elle est instaurée tôt. Le nombre de cas de leptospirose confirmés chaque année est de 300 à 400 en France métropolitaine, avec l'équivalent pour les DOM.

La confirmation biologique de la leptospirose, selon l'OMS, repose sur l'isolement de la bactérie ou l'identification de ses acides nucléiques dans les échantillons biologiques, ou encore sur une sérologie positive dans un contexte clinique et épidémiologique évocateur. La sérologie est l'examen le plus utilisé pour poser le diagnostic de leptospirose. Il n'existe pas d'antigène standardisé ni au plan national, ni au plan international pour la détection des anticorps dirigés contre les leptospires.

De nombreux tests de détection de la leptospirose sont proposés ; ils peuvent être regroupés en deux types : les tests de détection directe (identification de la bactérie ou de molécules bactériennes) et les tests détectant la réponse humorale du patient (tests sérologiques). Cette évaluation a porté sur cinq de ces tests, présentés ci-dessous. Il s'agit de trois tests de détection des anticorps antileptospires (test de macro-agglutination avec un antigène thermorésistant, détection des IgM par ELISA, tests unitaires sur bandelette) et de deux techniques de détection directe de l'ADN des Leptospires (PCR et PCR en temps réel).

Le test de micro-agglutination (MAT) est la technique sérologique de référence pour la confirmation de la leptospirose. Le principe de cette technique consiste à incuber des dilutions sériées du sérum du patient avec différentes souches de leptospires. L'agglutination est visualisée au microscope à fond noir. Ce test présente une spécificité diagnostique élevée, permet de déterminer le titre des anticorps agglutinants et le séovar de la souche infectieuse responsable de la formation des anticorps. En revanche, il s'agit d'une technique lourde, qui nécessite l'utilisation d'une vingtaine de souches de référence, maintenues en cultures fraîches. Elle est réalisée par un nombre restreint de laboratoires spécialisés. Dans cette évaluation, le test MAT est considéré comme le test de référence.

Le test sérologique ELISA est utilisé pour détecter des anticorps de classe IgM, et emploie une préparation antigénique de *L. biflexa* souche *Patoc* (saprophyte) réagissant avec plusieurs leptospires responsables de pathologies humaines.

Les tests sérologiques, unitaires à lecture visuelle, sont basés sur le même principe général que l'ELISA, si ce n'est que le complexe antigénique est fixé sur une bandelette et non au fond d'une cupule.

Le test sérologique de macro-agglutination, sur lame avec antigène thermorésistant (TR), consiste en une lecture, sur visionneuse à fond noir, à éclairage indirect, de l'agglutination éventuelle d'un mélange d'antigène et du sérum à tester déposé sur une lame de verre.

La détection directe des leptospires par visualisation au microscope à fond noir n'est pas utilisée en pratique clinique.

L'usage de la culture bactérienne est très limité en raison de ses difficultés de réalisation et du temps nécessaire pour la croissance des bactéries.

Les techniques de biologie moléculaire avec amplification se sont développées pour la détection de l'ADN des leptospires dans les échantillons cliniques. La PCR permet d'amplifier les fragments d'ADN des leptospires, s'ils sont présents dans l'échantillon. La technique de PCR, en temps réel, est basée sur la détection d'un signal fluorescent permettant de mesurer, en continu, la quantité d'ADN synthétisé au cours de la phase exponentielle d'amplification.

Deux techniques de diagnostic biologique spécifique de la leptospirose sont inscrites à la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM). La première est le test de dépistage par macro-agglutination avec antigène thermorésistant TR (code 1245) et la seconde est la technique de référence, la micro-agglutination MAT, effectuée pour confirmation en cas de test TR positif (code 1312).

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

Le nombre de dosages remboursés par le Régime général de l'assurance maladie, en 2008, était de 2 069 pour la MAT, et 417 pour le test TR. Le nombre d'échantillons testés suite à une suspicion de leptospirose par le laboratoire de l'Institut Pasteur en Nouvelle-Calédonie en 2008 était de 2 823.

Cette évaluation a été réalisée suite à une demande du Centre National de Référence des Leptospires. La principale motivation du demandeur était un doute sur les performances diagnostiques du test macro-agglutination sur lame avec antigène thermorésistant inscrit à la NABM.

## **II. MÉTHODE D'ÉVALUATION**

La méthode utilisée, pour ce rapport d'évaluation, s'est appuyée sur l'analyse critique des données de la littérature scientifique et sur la position d'un groupe de travail interrogé à distance, composé de professionnels de santé concernés par la pathologie.

L'analyse critique de la littérature a été réalisée à partir d'une recherche documentaire en langue française et anglaise, effectuée par interrogation systématique des bases de données bibliographiques médicales et scientifiques (période de recherche : 2000 – juin 2010).

Cette recherche a permis d'identifier des documents généraux sur la leptospirose, des études cliniques, ainsi que des documents synthétiques traitant du diagnostic biologique spécifique de la leptospirose humaine par des techniques de biologie moléculaire avec amplification, ELISA, TR ou tests unitaires à lecture visuelle.

Lors d'une première sélection, en analysant les résumés des documents identifiés, les études cliniques présentant les caractéristiques suivantes ont été exclues : documents traitant de la recherche fondamentale en vue de l'amélioration des connaissances sur les leptospires, de l'élaboration de nouveaux tests, de l'immunité antileptospires, de la vaccination, de la chimio-prophylaxie de la leptospirose. Les documents traitant des tests de diagnostic de la leptospirose animale et les documents traitant des

manifestations cliniques de la leptospirose ainsi que de ses différentes formes cliniques ont été également écartés.

Lors d'une deuxième sélection, analysant des documents dans leur intégralité, les études cliniques présentant les caractéristiques suivantes, ont été exclues : études ayant inclus moins de 30 patients au total (y compris les témoins), études ne permettant pas d'obtenir les performances diagnostiques (sensibilité et spécificité) des tests diagnostiques considérés, études où le test de référence n'était pas le test MAT ou la culture, définition de positivité (ou titre de positivité en fonction de la zone d'endémie) du test de référence ne correspondant pas à la définition de l'OMS. Compte tenu du faible nombre d'études, identifiées sur la technique de détection directe de l'ADN des leptospires par biologie moléculaire avec amplification, les critères de la deuxième sélection cités ci-dessus n'ont pas été appliqués à cette technique.

Répondant à ces critères, 38 documents ont été retenus pour l'analyse parmi lesquels 2 sont des recommandations sur la stratégie du diagnostic de la leptospirose, 11 portent sur le test ELISA IgM, 4 portent sur le test de macro-agglutination avec antigène thermorésistant, 7 portent sur les tests unitaires à lecture visuelle pour détecter des anticorps antileptospires et 13 portent sur les techniques de biologie moléculaire, avec amplification pour la détection de l'ADN des leptospires. Un article traitant des performances diagnostiques de la PCR en temps réel a été identifié par un expert du groupe de travail et ajouté dans l'analyse secondairement.

Le type de test diagnostic de référence utilisé est variable selon les études : test MAT seul, hémoculture seule ou l'un de ces deux tests. Les études comportent des limites méthodologiques : le manque de précision, sur les symptômes et les formes cliniques des patients inclus, ne permet pas d'exclure le biais de spectre, l'inclusion des patients n'est ni consécutive ni au hasard dans plusieurs d'entre elles, l'hétérogénéité des groupes « contrôle », ayant inclus des patients atteints d'autres maladies infectieuses, des patients suspectés de leptospirose non confirmée ou des individus en bonne santé. Les recommandations comportent des limites méthodologiques : la méthode d'élaboration n'a pas été indiquée précisément, les critères de sélection des études qui ont servi à élaborer ces recommandations n'ont pas été explicités, le processus de recueil de la position d'experts n'a pas été précisé.

Le groupe de travail, interrogé à distance, était composé de 4 biologistes, 2 médecins généralistes, 7 médecins de pathologie infectieuse et tropicale. Deux personnes qui avaient accepté de participer (un biologiste et un médecin infectiologue) n'ont jamais répondu. La position du groupe a été recueillie par questionnaire (questions ouvertes et réponse cotée à des propositions). Les réponses au questionnaire ont été synthétisées et cette synthèse a ensuite été validée par le groupe.

### III. RÉSULTAT DE L'ÉVALUATION

#### III.1 Performances des tests de diagnostic biologique spécifique de la leptospirose

Neuf articles traitant des performances analytiques et diagnostiques de tests PCR pour la détection de l'ADN de leptospires ont été sélectionnés et analysés. Les études présentées dans ces articles ont inclus au total 1 087 dosages. Quatre articles traitant des performances analytiques et diagnostiques de tests PCR en temps réel pour la détection de l'ADN des leptospires dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés. Ils ont inclus au total 634 dosages.

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

1. *pour le test PCR* : la sensibilité et la spécificité diagnostiques sur échantillon sanguin sont variables et faibles – de 9 à 73 % et de 52 à 100 % respectivement (3 études, 414 patients), la sensibilité et la spécificité diagnostiques sur échantillon d'urine sont élevées avec 100 % pour les deux, mais reposent sur une seule étude portant sur 27 patients. La sensibilité analytique est de 10 à 50 leptospires/mL de sang.

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

Selon le groupe de travail, le test PCR (non en temps réel) n'a pas d'intérêt dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose. Le niveau méthodologique des études identifiées n'est pas suffisant pour conclure de façon fiable sur la performance diagnostique du test PCR en cas de suspicion de leptospirose. Le test est difficile à réaliser et n'est pas accessible à tous les laboratoires. De plus, ce test, qui était une des étapes d'évolution technologique, est aujourd'hui remplacé par la PCR en temps réel.

Malgré le peu de données publiées, mais en se fondant sur la maîtrise technique déjà acquise par plusieurs laboratoires et la rapidité de rendu du résultat, le groupe de travail estime que la technique de PCR en temps réel est actuellement la plus intéressante pour le diagnostic biologique spécifique précoce de la leptospirose. Elle doit être réservée aux 8 premiers jours après l'apparition de fièvre, réalisée sur un échantillon de sang prélevé, de préférence avant la mise en œuvre de l'antibiothérapie. Du fait de la faible concentration habituelle des leptospires dans le sang, toute PCR en temps réel négative doit donner lieu à une exploration sérologique. Le groupe de travail souhaite que d'autres expériences soient publiées pour confirmer les résultats d'études concernant les performances diagnostiques du test PCR en temps réel, notamment dans différentes zones géographiques. Une expérience notable d'utilisation de la technologie de PCR en temps réel a été accumulée en outre-mer.

Onze articles traitant de la performance de la technique ELISA de détection des IgM antileptospires dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose ont été sélectionnés et analysés. Ils ont inclus au total 2 665 dosages. La sensibilité des différents dosages des IgM par la méthode ELISA pour le diagnostic de la leptospirose est extrêmement variable dans les onze études sélectionnées (de 4 à 100 %), mais si on se limite aux études avec un dosage réalisé lors de la phase de réponse humorale (environ après 7 jours de maladie), la sensibilité est comprise entre 75 et 100 %. La spécificité de ce dosage est moins variable et se situe entre 78 et 98 %. Les valeurs de sensibilité et de spécificité ne semblent pas être très différentes ni en fonction du pays où le test a été réalisé, ni en fonction du kit utilisé pour le dosage.

La plupart des membres du groupe de travail estiment que les performances du test ELISA IgM sont non optimales, mais considèrent que ce test peut faire partie des éléments permettant au clinicien d'étayer sa décision de prise en charge d'un patient en phase immune de la maladie (au-delà du 7<sup>e</sup> jour). En effet, en attendant le résultat du test de référence (le test MAT), plus performant mais plus difficile à réaliser, le test ELISA IgM peut conforter les données cliniques et épidémiologiques. Les experts précisent également que tout résultat positif ou négatif doit être confirmé par le test de référence MAT, compte tenu des limites de l'ELISA IgM. Ce test présente les avantages d'une lecture standardisée et d'une exécution facilitée par l'existence de kits

commerciaux. Il est réalisable par un laboratoire peu équipé et dans un délai court, ce qui est important pour une maladie potentiellement grave comme la leptospirose.

Sept articles traitant de la performance des tests unitaires à lecture visuelle, dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose, ont été sélectionnés et analysés. Ils ont inclus au total 1 831 dosages. La sensibilité des tests unitaires à lecture visuelle pour le diagnostic de la leptospirose est très variable (de 22 à 99 %) dans les 7 études analysées, mais semble plus élevée lorsque ce dosage est réalisé pendant la phase immune de la maladie (78 à 86 %). La spécificité de ce dosage est hétérogène et varie de 66 à 100 %. Les résultats sont valides pour les zones endémiques de leptospirose où toutes les études analysées ont été menées. Aucun résultat n'est disponible pour les zones non endémiques de leptospirose comme la France métropolitaine.

Selon le groupe de travail, l'intérêt potentiel des tests unitaires à lecture visuelle est leur utilisation en phase immune de la maladie, dans les zones éloignées d'outre-mer où la réalisation des autres tests tels que la PCR ou l'ELISA n'est pas possible. La sensibilité et la spécificité sont considérées par le groupe de travail comme médiocres, par comparaison à celles de l'ELISA IgM. La confirmation par MAT de tout résultat est indispensable. Les performances de ces tests n'ont pas été évaluées en zones non endémiques. Les tests unitaires à lecture visuelle sont peu utilisés en France. Aucun des membres du groupe de travail n'avait d'expérience de réalisation de ces tests.

Quatre articles, traitant de la performance de la technique de macro-agglutination avec antigène thermorésistant dans le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose, ont été sélectionnés et analysés. Ces études ont inclus au total 2 789 dosages. La sensibilité de la technique de macro-agglutination, avec antigène thermorésistant pour le diagnostic de la leptospirose est variable : de 45 à 100 % dans les 4 études analysées. La spécificité de cette méthode est également hétérogène (de 57 à 97 %). Aucune étude analysée ne montre de valeurs élevées concomitantes de sensibilité et de spécificité. Les tests, pratiqués en France, ont une sensibilité de 45 à 63 % et une spécificité de 84 à 88 % et présentent en plus, selon une étude, des défauts de détection de sérovars répandus en France, comme Grippotyphosa ou Australis.

La majorité des experts du groupe de travail sont opposés à l'utilisation du test TR en pratique clinique. En effet, de nombreux défauts du test TR ont été pointés, à savoir des performances diagnostiques insuffisantes, des défauts de détection de sérovars répandus en France ainsi que la survenue de problèmes de stabilité de réactifs et de rupture de stocks des réactifs.

### III.2 Stratégie diagnostique de leptospirose

Une recommandation britannique et une recommandation française ont été identifiées et analysées. L'une concerne la stratégie diagnostique chez des patients de retour d'un voyage et suspectés de leptospirose, et l'autre concerne tous les patients suspectés de leptospirose. Ce sont des recommandations sur les aspects cliniques pratiques.

La recommandation française « Rémic » 2010 préconise, pour les cas de suspicion clinique de leptospirose, la prise en compte de la présence de la bactérie dans les différents compartiments de l'organisme pour le choix de la technique (sang 0-10 jours, LCR 5-15 jours, urine 15-25 jours après le début de la maladie), l'utilisation des techniques sérologiques dans la phase immune de la maladie (à partir du 6<sup>e</sup> jour pour les IgM en ELISA, à partir du 8<sup>e</sup> jour pour le test MAT). Deux prélèvements consécutifs sont nécessaires. Le développement de la technique PCR (sans plus de précision) est préconisé en première intention pour les prélèvements précoces. Enfin, il est fortement suggéré d'abandonner la technique de macro-agglutination avec l'antigène thermorésistant (TR). Cette recommandation cite d'autres techniques (culture, tests

ELISA, MAT), décline leurs avantages et leurs inconvénients, mais ne prend pas de position à leur égard.

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

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

## **IV. CONCLUSION**

### **IV.1 Pour les techniques de biologie moléculaire avec amplification**

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

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

### **IV.2 Pour la technique sérologique ELISA IgM**

- Onze articles, traitant de la performance diagnostique du test ELISA IgM pour le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose, ont montré que la sensibilité et la spécificité n'étaient pas élevées et variables. Le groupe de travail considère que, malgré ses performances non optimales, ce test a sa place dans le panel des

données permettant au clinicien d'étayer sa décision de prise en charge d'un patient, suspecté de leptospirose en phase immune de la maladie. En effet, ce test a l'avantage de disposer de kits commerciaux, et est réalisable par un laboratoire peu équipé dans un délai court. Compte tenu des limites de ce test, il doit être confirmé par le test de référence MAT.

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

#### **IV.3 Pour la technique sérologique des tests unitaires à lecture visuelle**

- Sept articles, traitant de la performance diagnostique des tests unitaires à lecture visuelle pour le diagnostic biologique spécifique de la leptospirose, ont montré que leur sensibilité et leur spécificité sont médiocres et variables. Le groupe de travail considère que les performances diagnostiques de ces tests sont comparables à celles du test ELISA IgM. Ces tests ont l'avantage de pouvoir être réalisés par un laboratoire peu équipé, dans un délai court et « au coup par coup », mais la transcription des résultats et la traçabilité ne sont pas toujours satisfaisantes. Tout résultat de ces tests doit être confirmé par le test de référence, compte tenu de leurs performances médiocres.
- En France, les tests unitaires à lecture visuelle semblent très peu connus. En particulier, aucun membre du groupe de travail n'avait l'expérience de leur utilisation.

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

#### **IV.4 Pour la technique sérologique de macro-agglutination avec antigène thermorésistant (TR)**

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

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

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

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

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

- la PCR en temps réel, pour la première semaine de la maladie. La technique présente une excellente spécificité, son résultat est rapide ce qui est très important pour une maladie comme la leptospirose. C'est le seul test biologique utilisable en pratique clinique pendant la première semaine de la maladie, la culture bactérienne

n'étant pas adaptée en raison de son délai de réalisation trop long. Plusieurs laboratoires ont déjà l'expérience de son utilisation ;

- l'ELISA IgM en phase immune de la maladie. Ce test est accessible à tout laboratoire, rapide à réaliser et permet au clinicien d'étayer sa décision pour la prise en charge d'un patient suspecté de leptospirose. Il doit être confirmé par la MAT, car ses performances diagnostiques ne sont pas optimales.

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

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

- la PCR (non en temps réel), qui est une étape de développement technologique aujourd'hui dépassée avec la mise au point de la PCR en temps réel ;
- les tests unitaires à lecture visuelle potentiellement utilisables dans les situations sans autre alternatives, mais pour lesquels il ne semble pas y avoir d'expertise en France et qui peuvent être remplacés par le test ELISA IgM ;
- le test TR, qui présente des performances diagnostiques insuffisantes ; de plus, l'utilisation de ce test a été marquée par une instabilité de certains réactifs et un retrait de lots à l'origine d'une rupture de stocks.

## CONCLUSION SUR LE SA ET L'ASA

---

Compte tenu de l'argumentaire et de la conclusion du rapport d'évaluation « Diagnostic biologique de la leptospirose » (juin 2011) de la HAS dont le texte court figure ci-avant, la HAS a estimé que :

- le **SA** de la PCR, en temps réel pour la détection de l'ADN des leptospires dans le sang, est considéré **suffisant** dans la suspicion de la leptospirose durant la première semaine de la maladie ;
- le **SA** du test sérologique l'ELISA IgM est considéré **suffisant** dans la suspicion de la leptospirose à partir de la deuxième semaine de la maladie ;
- le **SA** du test de dépistage par macro-agglutination avec antigène thermorésistant TR (code 1245), celui de la PCR et celui des tests unitaires à lecture visuelle sont considérés **insuffisants**.

L'ASA de la PCR, en temps réel pour la détection de l'ADN des leptospires, est estimée importante (II) par rapport au test sérologique par macro-agglutination avec antigène thermorésistant TR, du fait de sa grande spécificité et de la rapidité de ses résultats permettant un diagnostic différentiel rapide de la maladie potentiellement grave. Cependant, sa sensibilité est variable et ceci justifie la poursuite des investigations en cas de résultat négatif.

L'ASA du test sérologique l'ELISA IgM est estimée mineure (IV) par rapport à la technique de macro-agglutination avec antigène thermorésistant TR, compte tenu des éléments suivants : performances diagnostiques non optimales, mais une grande accessibilité, de sa réalisation facile, de l'obtention rapide du résultat.

## AVIS DE LA HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

---

*Libellé proposé par la HAS :* PCR en temps réel pour la détection de l'ADN des leptospires dans le sang.

*Classement NABM :* non classé Code : non codé

*Date de l'avis :* 22 juin 2011

Le **service attendu** de la PCR, en temps réel pour la détection de l'ADN des leptospires, est considéré **suffisant**. Par conséquent, l'**avis de la HAS** sur l'inscription de l'acte à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale est **favorable** avec les précisions suivantes :

**1. Indications principales**

Suspicion de la leptospirose lors de la première semaine de la maladie approximativement.

**2. Gravité de la pathologie**

La leptospirose est une pathologie potentiellement grave (défaillance multiviscérale, voire décès), dont le pronostic est amélioré par un traitement précoce par antibiotiques.

**3. Caractère préventif, curatif ou symptomatique de la technique**

Diagnostic biologique.

**4. Place dans la stratégie diagnostique**

Examen de première intention, lors de la première semaine approximativement de la maladie.

**5. Amélioration du service attendu**

Importante (II).

**6. Population cible**

2 000-3 000 de réalisation de la sérologie de leptospirose en France métropolitaine par an, il y aurait autant en outre-mer.

**7. Modalités de mise en œuvre**

En cas de résultat négatif du test PCR, en temps réel dans le contexte de suspicion clinique de leptospirose, il convient d'entreprendre l'exploration sérologique.

**8. Exigences de qualité et de sécurité**

Contrôles d'usage de la biologie moléculaire avec amplification (présence des inhibiteurs, amplification, témoin négatif, personnel qualifié, etc.).

**9. Objectifs des études complémentaires et recueils correspondants d'informations**

Sans objet.

**10. Réalisation de l'acte soumise à l'accord préalable du service médical en application des dispositions prévues par l'art. L. 315-2.**

La HAS ne se prononce pas sur ce point pour cet acte.

**11. Remarque**

Sans objet.

## AVIS DE LA HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

---

*Libellé proposé par la HAS :* Sérologie bactérienne par technique ELISA IgM (*Leptospira*).

*Classement NABM :* non classé Code : non codé

*Date de l'avis :* 22 juin 2011

Le **service attendu** du test sérologique ELISA IgM est considéré **suffisant**. Par conséquent, **l'avis de la HAS** sur l'inscription de l'acte à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale est **favorable** avec les précisions suivantes :

**1. Indications principales**

Suspicion de la leptospirose à partir de la deuxième semaine approximativement de la maladie.

**2. Gravité de la pathologie**

La leptospirose est une pathologie potentiellement grave (défaillance multiviscérale, voire décès), dont le pronostic est amélioré par un traitement précoce par antibiotiques.

**3. Caractère préventif, curatif ou symptomatique de la technique**

Diagnostic biologique.

**4. Place dans la stratégie thérapeutique**

L'examen, permettant la décision de la prise en charge du patient suspecté de leptospirose en cas de PCR en temps réel non disponible, négatif ou non adapté à la période de la maladie.

**5. Amélioration du service attendu**

Mineure (IV)

**6. Population cible**

2000-3000 de réalisation de la sérologie de leptospirose en France métropolitaine par an, il y aurait autant en outre-mer.

**7. Modalités de mise en œuvre**

Modalités habituelles des techniques sérologiques.

**8. Exigences de qualité et de sécurité**

Selon le guide de bon usage des analyses médicales.

**9. Objectifs des études complémentaires et recueils correspondants d'informations**

Sans objet.

**10. Réalisation de l'acte soumise à l'accord préalable du service médical en application des dispositions prévues par l'art. L. 315-2.**

La HAS ne se prononce pas sur ce point pour cet acte.

**11. Remarque**

Sans objet.

---

## AVIS DE LA HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

---

*Libellé transmis pour évaluation :* Test de dépistage par macro-agglutination avec antigène thermorésistant TR.

*Classement NABM :* 7-04 Code : 1245

*Date de l'avis :* 22 juin 2011

Le **service attendu** du test de dépistage par macro-agglutination avec antigène thermorésistant TR est considéré **insuffisant**. Par conséquent, **l'avis de la HAS** sur l'inscription de l'acte à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale est **défavorable**.

---

## AVIS DE LA HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

---

*Libellé :* PCR (autre qu'en temps réel) pour la détection de l'ADN des leptospires dans le sang.

*Classement NABM :* non classé      Code : non codé

*Date de l'avis :* 22 juin 2011

Le **service attendu** du test PCR (autre qu'en temps réel) pour la détection de l'ADN des leptospires dans le sang est considéré **insuffisant**. Par conséquent, **l'avis de la HAS** sur l'inscription de l'acte à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale est **défavorable**.

---

## AVIS DE LA HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

---

*Libellé :* Sérologie bactérienne par des tests unitaires à lecture visuelle.

*Classement NABM :* non classé      Code : non codé

*Date de l'avis :* 22 juin 2011

Le **service attendu** des tests sérologiques unitaires à lecture visuelle est considéré **insuffisant**. Par conséquent, **l'avis de la HAS** sur l'inscription de l'acte à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale est **défavorable**.



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