

Compte rendu de l'atelier n° 3. Dépistage et diagnostic biologique de la maladie de Chagas

Report on round table discussions n° 3. Screening and biological diagnosis of Chagas disease

F. Gay Andrieu

© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2009

Introduction

L'objectif principal de l'atelier 3 était de faire le point sur le dépistage et le diagnostic de la maladie de Chagas en tenant compte de toutes les situations qui peuvent se présenter en zone non endémique : dépistage des donneurs de sang, diagnostic de sujets en phase chronique, dépistage des femmes enceintes, diagnostic de la maladie de Chagas congénitale et, plus rarement, diagnostic d'une forme aiguë ou d'une réactivation.

À l'issue de la phase préparatoire et après les conférences données dans la première partie de la journée, le groupe de travail a retenu plusieurs points à débattre au cours de l'atelier « biologie ». Le diagnostic de la maladie de Chagas congénitale n'a pas été rediscuté au sein de cet atelier, puisqu'un autre atelier était spécifiquement dédié à la maladie de Chagas congénitale.

Voici les questions retenues et la synthèse des discussions.

Dépistage chez les donneurs de sang

Faut-il envisager, à l'avenir, de baser le dépistage des donneurs sur un seul test au lieu de deux actuellement ?

Les participants à l'atelier rappellent, tout d'abord, les contraintes qui sont celles de l'EFS dans le cadre du dépistage sérologique des donneurs de sang : volume important des séries, nécessité d'une traçabilité optimale, obligation légale d'utiliser des tests ayant le marquage CE. Ces techniques sont donc forcément automatisées, et le choix des tests doit prendre en compte ces éléments. Il reste actuellement

difficile de cerner avec précision les performances des tests. Les participants insistent sur le fait que le marquage CE d'un test garantit la qualité de la fabrication du test, mais ne constitue pas une preuve de bonne performance. Il est rappelé aussi qu'un donneur potentiel de sang total et de composants sanguins est exclu de façon temporaire du don pendant quatre mois après avoir quitté une région endémique (paludisme et/ou maladie de Chagas) : par conséquent la nécessité d'avoir des tests dépistant les IgM est moins pertinente dans le cadre d'un dépistage de sujet asymptomatique, au regard de situations cliniques. Le choix d'un test unique paraît actuellement difficile, et il apparaît prématuré de passer dès maintenant à un dépistage reposant sur une seule technique.

Les participants de l'atelier rappellent que, pour une meilleure connaissance des tests, tous les laboratoires pratiquant le diagnostic sérologique doivent exiger du fabricant de connaître la composition antigénique du test, la ou les souches utilisées pour sa conception et les isotypes détectés.

La réalisation d'une évaluation des différents tests candidats a été envisagée. Cette approche, idéale sur le plan scientifique, se heurte à deux obstacles majeurs :

- il est techniquement difficile d'identifier et de faire venir en France suffisamment d'échantillons pour constituer un panel représentatif de la diversité des réactivités vis-à-vis des différentes souches appartenant aux deux haplotypes de *Trypanosoma cruzi* ;
- il n'existe actuellement pas de *gold standard* pour analyser les discordances des résultats entre les différents tests.

Si cette étude ne se fait pas (pour des raisons pratiques et/ou financières), il sera nécessaire de se baser sur des arguments bibliographiques et sur l'expérience des autres pays, en sachant que certains, notamment les États-Unis, ont publié des résultats concernant un très gros volume d'analyses (Bern C, *Curr Opin Infect Dis*, 2008).

F. Gay Andrieu (✉)
CHU de Nantes, 9, quai Moncousu,
F-44093 Nantes cedex 01, France
e-mail : francoise.gay-andrieu@chu-nantes.fr

Faut-il continuer à pratiquer un dépistage chez tous les voyageurs ayant séjourné en zone d'endémie ?

Ce point a été très discuté au sein de l'atelier.

Les arguments pour le maintien du dépistage des voyageurs sont les suivants :

- rapport de cas d'infection chez des voyageurs ayant séjourné peu de temps en zone d'endémie (séjours touristiques) ;
- volonté d'éviter le risque d'une transmission transfusionnelle avec des conséquences potentiellement graves pour le sujet receveur, surtout s'il s'agit d'un patient immunodéprimé alors que, techniquement et scientifiquement, ce dépistage peut être fait ;
- depuis la mise en place du dépistage systématique des donneurs de sang de retour de zone d'endémie, aucun cas n'a été détecté. Cependant, le recul en France métropolitaine peut être considéré comme insuffisant (20 mois de dépistage et 163 000 dons testés).

Les arguments qui posent question sont les suivants :

- l'argument précédent peut être repris avec l'interprétation inverse : sur 20 mois et 163 000 dons, pas un seul voyageur n'a été confirmé positif ; en revanche, 1 300 dons ont été exclus ;
- le risque, pour un voyageur, de contracter la maladie de Chagas serait très faible, de l'ordre d'un cas tous les sept ans.

La question fondamentale apparaît donc être la suivante : « Pour éviter le surcoût lié au dépistage des voyageurs, est-on prêt à accepter le risque d'une transmission transfusionnelle et quel est réellement ce risque ? ». Les données scientifiques manquent encore pour répondre à cette question.

Diagnostic des sujets en phase chronique

Quels tests sérologiques doivent être utilisés en première intention ?

Les participants rappellent que, selon les recommandations actuelles (OMS, 2002), le diagnostic doit utiliser deux tests de principes différents et de préparations antigéniques différentes. En tenant compte des impératifs que sont le marquage CE et la nécessité d'avoir un distributeur en France métropolitaine, le choix d'un test se résume à deux ELISA différents ou un ELISA et une immunofluorescence indirecte (IFI). Au cours de l'atelier, la discussion a principalement porté sur la place de l'IFI dont les contraintes sont bien connues des biologistes : technique non automatisable (donc difficulté, voire impossibilité de réaliser des grosses séries), lecture dépendante de

l'opérateur qui nécessite un niveau d'expertise qu'il n'est pas facile de maintenir quand, à l'inverse, le volume d'activité devient trop faible.

Comment gérer les discordances : quelle est la place de la PCR, quel pourrait être le troisième test sérologique ?

Tout algorithme diagnostique basé sur la mise en œuvre systématique de deux tests conduit à la survenue de discordances (Fig. 1). Tous les participants ont insisté sur l'importance, en cas de discordance, du dialogue entre le biologiste et le clinicien, chaque cas devant faire l'objet d'une discussion. Il a été souligné aussi la nécessité de répéter systématiquement les tests afin de vérifier la permanence dans le temps de la discordance.

En cas de discordance, le recours à une troisième technique sérologique s'avère nécessaire.

De même, la PCR peut être utilisée en cas de discordance et :

- si la PCR est positive, le sujet est considéré comme infecté ;
- si la PCR est négative, le problème reste entier et se pose alors la question de l'interprétation des trois tests sérologiques précédents.

Par ailleurs, la PCR pourrait, dans l'avenir, avoir une place dans le suivi clinique et postthérapeutique des patients, mais ces deux derniers points restent à évaluer et n'ont pas été détaillés au cours de cet atelier.

Les participants de l'atelier ont aussi insisté sur le fait que la PCR ne résout pas tous les problèmes. Les limites de la PCR ne sont d'ailleurs pas forcément techniques, mais liées à la physiopathologie de la maladie, compte tenu de la parasitémie faible et transitoire. L'opportunité de chercher des marqueurs sur des biopsies d'organe n'a pas été discutée lors de l'atelier.

En raison des contraintes déjà évoquées précédemment concernant les tests sérologiques (marquage CE, disponibilité, etc.), le choix du troisième test se limite actuellement à un autre test ELISA de composition antigénique différente ou des test(s) utilisé(s) en première intention.

Dans un avenir proche, un nouveau test pourrait apporter la solution : il s'agit du TESA Blot (*T. cruzi Excreted-Secreted Antigen*) en cours d'enregistrement au Brésil (Bio-Mérieux) et qui pourrait avoir le marquage CE dans le courant de l'année prochaine. Deux autres techniques revendiquent le statut de technique de référence : il s'agit d'un immunoblot recombinant (Innolia) et d'une technique de radio-immunoprécipitation (RIPA). Ces deux techniques ne sont pas commercialisées.

La place des tests de diagnostic rapide en tant que troisième technique a aussi été discutée, mais leurs performances

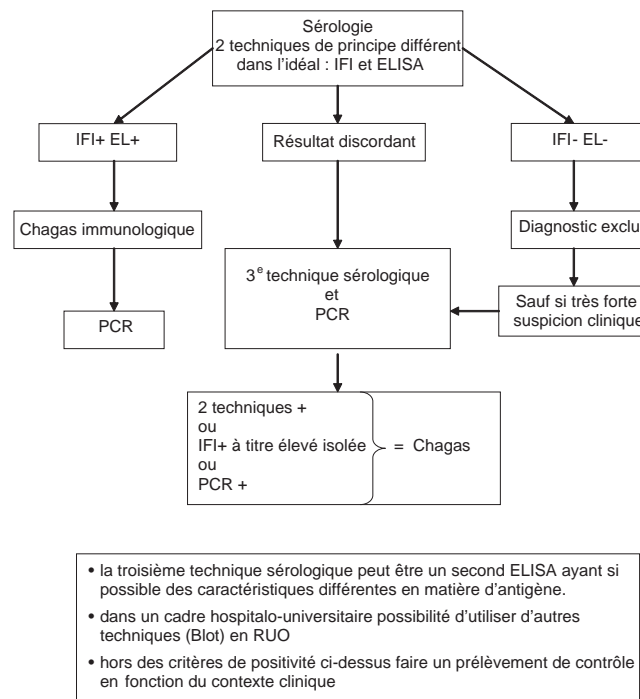


Fig. 1 Algorithme : diagnostic biologique de la maladie de Chagas en phase chronique hors zone d'endémie

Dans un contexte d'urgence (prélèvement avant don d'organe), on peut utiliser un test rapide pour faire un premier dépistage dont les résultats seront confirmés par l'algorithme suivant. Hors contexte d'urgence, application de cet algorithme

doivent encore être améliorées et mieux étudiées (voir plus loin – question spécifique sur les TDR).

Diagnostic des cas aigus et des réactivations : quelle est la place des tests parasitologiques (conventionnels et PCR) ?

La recherche directe de parasites dans le sang par des techniques parasitologiques conventionnelles reste une étape nécessaire, car leur positivité permet de faire la différence entre formes aiguës ou réactivation *versus* formes chroniques. Bien que long et fastidieux, le diagnostic parasitologique direct a un très bon rendement (> 95 %) dans les formes aiguës et dans les réactivations.

Étalement de sang frais, goutte épaisse ou frottis peuvent être réalisés (d'autant plus qu'une recherche de paludisme est associée dans certaines situations) : leur sensibilité est élevée si ces examens sont réalisés au moment du pic parasitémie.

Des techniques de concentration doivent systématiquement être associées avec, en fonction des habitudes et/ou de l'équipement du laboratoire : QBC, microhématocrite (Woo TK et al., *Canadian Journal of Zoology*, 1969 ; Freilij H et al., *J Clin Microbiol*, 1983), méthode de Strout (= double centrifugation) (Strout RG, *J Parasitol*, 1962) ou triple centrifugation. Les biologistes ayant l'expérience de

cette dernière technique insistent sur la nécessité de ne pas utiliser de saponine et de centrifuger à petite vitesse (1 500 tr/min) pour ne pas lyser les parasites. Il est proposé de mettre à la disposition des laboratoires de parasitologie de France métropolitaine des modes opératoires pour optimiser cette étape de diagnostic direct.

La culture, malgré le délai de rendu du résultat, peut avoir un intérêt notamment pour confirmer le diagnostic dans certaines situations complexes (présence de signes cliniques, pathologies associées, etc.).

Les techniques parasitologiques conventionnelles restent donc indispensables au diagnostic des formes aiguës et des réactivations. La PCR peut avoir un intérêt en complément des techniques conventionnelles, mais il faut qu'elle puisse être réalisée « au coup par coup » avec un résultat rendu dans les 24 heures suivant la réception de l'échantillon. Ces demandes doivent bien évidemment être justifiées et argumentées de la part des cliniciens. Actuellement, deux laboratoires en France métropolitaine sont en mesure d'assurer ce diagnostic moléculaire : le laboratoire de parasitologie de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière à Paris et le laboratoire de l'EFS à Tours. Il faut ajouter à ces laboratoires de métropole, le laboratoire de parasitologie de l'hôpital de Cayenne.

Étant donné le nombre actuel de demandes, il semble préférable de rester limité, pour l'instant, à ces quelques laboratoires référents et conseiller aux autres laboratoires français d'envoyer leurs demandes. Comme pour les tests

conventionnels, des modes opératoires pour le traitement préanalytique des échantillons pourront être mis à disposition des laboratoires de parasitologie afin de garantir un transport dans les conditions optimales de conservation de l'ADN.

Quelle est la place des tests de diagnostic de rapide (TDR) ?

Il existe actuellement neuf TDR. Certains ont le marquage CE, mais aucun n'a d'importateur en France pour l'instant.

Parmi ces tests, seul le Stat-Pak est validé. Il s'agit d'un test immunochromatographique, utilisant des antigènes recombinants et permettant de détecter des IgG. Il est utilisable sur sérum et sang complet. Ce test a fait la preuve d'une sensibilité autour de 94 % et d'une spécificité de 99 % (Roddy P et al., *J Clin Microbiol*, 2008 ; Sosa-Estani et al., *Am J Trop Med Hyg*, 2008 ; Chippaux JP et al., *Trop Med Int Health*, 2009) et peut donc être utilisé en dépistage, en

sachant que l'on risque d'avoir des faux-négatifs ; en revanche, la sensibilité actuelle n'apparaît pas suffisante pour un test de diagnostic.

Cependant, après amélioration, ces TDR pourraient trouver leur place dans différentes situations de dépistage et/ou de diagnostic.

Actuellement, des discussions sont en cours au sein de l'Afssaps pour envisager l'utilisation des TDR dans le dépistage des donneurs d'organes. Les participants à l'atelier ont cité aussi d'autres utilisations potentielles de ces TDR, notamment une aide au diagnostic des formes aiguës et le dépistage au moment de l'accouchement de femmes issues des populations à risque et qui n'auraient pas été dépistées au cours de la grossesse. Enfin, sous réserve de performances suffisantes, les TDR pourraient aussi constituer la troisième technique sérologique.

Déclaration de conflit d'intérêt : L'auteur déclare ne pas avoir de conflit d'intérêt.



springer.com

Springer Open Choice™

Springer offers the option to have articles made available with open access – in established, reputable journals – free online to anyone, any time, anywhere

- ▶ Barrier-free access with unrestricted re-use of published articles, while copyright remains with the author
- ▶ Increased availability, distribution and impact
- ▶ All articles are peer-reviewed and receive high-quality editorial treatment
- ▶ Get the best of both worlds: publish with Open Access AND in established, reputable journals



More information on this publication model ▶ springer.com/openchoice

013058x