



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ARGUMENTAIRE

Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic des échinococcoses larvaires

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

Les échinococcoses sont des zoonoses causées par des larves de ténias du genre *Echinococcus*. L'objectif de ce travail était de préciser les techniques de recherche d'anticorps anti-*Echinococcus* validées pour la recherche initiale, la confirmation et le suivi des patients traités. Ce travail répond à une demande de l'Assurance maladie relative à l'actualisation de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) qu'elle rembourse. La demande prévoyait de limiter les techniques de recherche initiale à la technique immunoenzymatique (EIA/ELISA) et à l'hémagglutination indirecte (HAI), celles de la confirmation à l'immunoempreinte (*Western-blot*) et enfin de préciser dans le libellé du suivi que la technique à utiliser doit être quantitative.

Méthode

Elle a d'abord consisté en une analyse critique de la littérature synthétique identifiée par une recherche documentaire systématique portant sur la période 2009-2017. Aucun rapport d'évaluation technologique, méta-analyse ou revue systématique n'ont été identifiés au terme de cette recherche documentaire. La littérature analysée a consisté en un consensus d'experts de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), un rapport de l'OMS, neuf revues générales, une fiche technique, un document pédagogique d'enseignement et un rapport d'activités.

Ont ensuite été prises en compte les données de la pratique française, connues par les bases de remboursement de l'Assurance maladie.

Enfin, la position argumentée des professionnels de santé concernés par cette infection a été recueillie *via* un questionnaire adressé aux biologistes médicaux¹ et au Centre national de référence des échinococcoses (CNR-E)².

Conclusion

Les données ainsi recueillies et analysées permettent de conclure que :

- il est indiqué de réaliser simultanément deux techniques de recherche des anticorps sériques ; les deux techniques sérologiques de référence sont l'ELISA (EIA) et l'HAI ;
- en cas de résultat positif obtenu avec au moins une de ces deux techniques, une confirmation est nécessaire ;
- en cas de résultats négatifs avec les deux techniques, mais en présence d'un tableau clinique et de données d'imagerie très en faveur d'une échinococcose, une confirmation est également nécessaire ;
- dans ces deux cas, la technique sérologique de référence pour la confirmation est l'immunoempreinte (*Western blot*) ;
- l'IE est réalisée sur le même échantillon que la recherche initiale et il n'est pas nécessaire de d'effectuer un nouveau prélèvement ;
- le suivi des patients est à réaliser en même temps qu'un examen itératif du sérum ayant servi à la recherche initiale, par une technique EIA, associée ou non à une technique d'HAI en fonction des patients et des traitements ;
- le suivi sérologique est réalisé chez tous les patients une à deux fois par an.

Le projet d'actualisation de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), remboursés par l'Assurance maladie, tel que proposé, apparaît donc pertinent et approprié.

¹ *via* le Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière.

² Centre national de référence des échinococcoses (CNR-E) - Laboratoire de parasitologie et mycologie, CHRU de Besançon.

Sommaire

Résumé	3
Abréviations et acronymes	5
Introduction	6
1. Contexte	7
1.1 Source d'information.....	7
1.2 Les échinococcoses	7
1.3 Les traitements	9
1.4 Diagnostic des échinococcoses	10
1.5 Recherche des anticorps sériques anti- <i>Echinococcus</i>	11
1.6 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie	13
2. Champ et méthode d'évaluation	14
2.1 Champ d'évaluation	14
2.2 Méthode d'évaluation	14
2.3 Recherche documentaire	15
2.4 Sélection des documents identifiés.....	15
2.5 Recueil de la position des professionnels	18
3. Résultats de l'évaluation	19
3.1 Analyse de la littérature	19
3.2 Analyse des données de pratique en France	26
3.3 Synthèse de la position des professionnels	29
Conclusion	33
Annexe 1. Recherche documentaire.....	35
Annexe 2. Analyse des documents citant les tests sérologiques préconisés pour la détection et/ou la confirmation des échinococcoses larvaires	38
Annexe 3. Réponses <i>in extenso</i> des parties prenantes	43
Annexe 4. Liste des tableaux et figures	59
Références	60
Fiche descriptive	62

Abréviations et acronymes

Ac	anticorps
Ag	antigène
AL	agglutination au latex
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
cf.	<i>confer</i>
CHAP	Commission de hiérarchisation des actes et des prestations
CNAMTS	Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés
COES	coélectrosynérèse
EA	échinococcose alvéolaire
ECP	<i>Eosinophil Cationic Protein</i> (protéine cationique des éosinophiles)
EIA	technique immunoenzymatique
EK	échinococcose kystique
ELS	électrosynérèse
Fig.	figure
HAGG	hémagglutination sensibilisée
HAI	hémagglutination indirecte
IDD	immunodiffusion double
IE	immunoempreinte
IELP	immunoélectrophorèse
IFI	immunofluorescence
IgE	immunoglobuline E
IWGE	<i>Informal Working Group on Echinococcosis</i>
NABM	nomenclature des actes de biologie médicale
OIE	Office international des épizooties, dont le nom a changé en Organisation mondiale de la santé animale (<i>World Organisation for Animal Health</i>)
OMS	Organisation mondiale de la santé
PCR	réaction en chaîne par polymérase (de l'anglais <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
WHO	<i>World Health Organization</i>
WOAH	<i>World Organization for Animal Health</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 vingt infections en parasitologie et en mycologie. Parmi les actes concernés par cette révision figurent ceux de la sérologie des échinococcoses larvaires, qui font l'objet du présent argumentaire.

Le diagnostic des échinococcoses repose essentiellement sur une combinaison de symptômes cliniques, d'imagerie et d'examens de biologie médicale. L'échographie est souvent effectuée en première intention ; elle est généralement complétée ou validée par un scanner et/ou par l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Le diagnostic sérologique indirect reste essentiel ; il consiste à dépister et à confirmer la présence d'anticorps sériques anti-*Echinococcus*.

Dans la version actuelle de la NABM, pour les deux formes de cette parasitose, l'échinococcose kystique (EK) et l'échinococcose alvéolaire (EA), la recherche des anticorps sériques (sérologie) consiste en :

- un premier examen appelé « dépistage » (recherche initiale), devant être réalisé par au moins deux techniques parmi les suivantes : électrosynérèse (ELS), hémagglutination sensibilisée (HAGG), technique immunoenzymatique (EIA/ELISA), immunofluorescence indirecte (IFI) ou immunodiffusion double (IDD) ;
- un deuxième examen de confirmation des résultats positifs de la recherche initiale, devant être réalisé par coélectrosynérèse (COES), immunoélectrophorèse (IELP) ou immunoempreinte/*Western Blot* (IE) ;
- et un examen de suivi, devant être réalisé par une des techniques mises en œuvre pour le dépistage (recherche initiale).

Le demandeur propose de modifier la NABM en supprimant les techniques estimées, selon lui, aujourd'hui « obsolètes ». Pour le dépistage (recherche initiale), la proposition de modification porte sur la suppression des quatre techniques suivantes : ELS, HAGG, IDD et IFI, ainsi que sur l'introduction d'une nouvelle technique : l'hémagglutination indirecte (HAI).

Pour la confirmation du diagnostic, le demandeur propose de supprimer la COES et l'IELP, pour ne garder que l'IE.

Pour le suivi, la modification du libellé consiste à préciser que la technique à utiliser devra être quantitative.

Conformément à la feuille de route publiée sur ce sujet (1), l'objectif de ce travail est de renseigner les techniques de sérodiagnostic actuellement pertinentes pour la recherche d'anticorps anti-*Echinococcus* pour la recherche initiale, la confirmation et le suivi.

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 des revues générales, des rapports institutionnels et des ouvrages didactiques.

1.2 Les échinococcoses

► Définition

Les échinococcoses sont des zoonoses causées par des larves de ténias du genre *Echinococcus*, appartenant à la famille des *Taenidés* (vers plats) (2-4). Il existe plusieurs espèces d'*Echinococcus*, dont les deux plus fréquentes chez l'homme sont *E. multilocularis* et *E. granulosus*, responsables respectivement de l'échinococcose alvéolaire (EA) et de l'échinococcose kystique (EK), appelée aussi hydatidose ou kyste hydatique. Au sein d'*Echinococcus granulosus sensu lato*, on distingue cinq espèces³ : *E. granulosus sensu stricto*, *E. canadensis*, *E. ortleppi*, *E. equinus*, et *E. felidis*. La sensibilité et la spécificité des tests sérologiques peuvent varier en fonction de l'espèce.

E. multilocularis et *E. granulosus* sont différentes dans leurs distributions géographiques, les animaux hôtes qu'elles impliquent et leurs présentations cliniques (2).

► Épidémiologie

L'échinococcose alvéolaire (EA) due à *E. multilocularis* est retrouvée dans les zones froides de l'hémisphère nord ; il s'agit d'une maladie majoritairement rurale. En Europe, les principales régions d'endémie sont situées en Allemagne, en Suisse et en Autriche, ainsi que dans les pays baltes et la Pologne, où des incidences élevées ont été rapportées. Des cas ont par ailleurs été observés dans la plupart des pays d'Europe⁴.

En France, cette parasitose est observée essentiellement en Franche-Comté, en Lorraine, en Rhône-Alpes et en Auvergne (5) ; l'incidence annuelle moyenne enregistrée entre 2006 et 2015 est de 19,2 cas par an, soit une incidence de **0,032/100 000 habitants** (6). Depuis 2003, la surveillance de l'EA est assurée en France via le réseau **FrancEchino** qui fonctionne depuis 2012 sous l'égide du **Centre national de référence de l'échinococcose alvéolaire** (CNR-EA) au CHRU de Besançon. Le périmètre du CNR a été étendu aux deux types d'échinococcoses pour le mandat 2017-2021, il devient désormais **Centre national de référence échinococcoses** (CNR-E).

L'échinococcose kystique (EK) due à *E. granulosus* se rencontre pratiquement dans le monde entier, le plus fréquemment dans les zones rurales d'élevage de moutons (7). Elle est endémique en Europe du Sud et en Europe Centrale. En France, des foyers existent toujours dans le Sud-Ouest (Landes et Pays basque), le Sud-Est, en Corse et en Provence (8). Selon le rapport de surveillance de l'*European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) de 2012 (9), l'EK est devenue rare. En 2010, l'incidence de l'échinococcose dans l'Union européenne (UE) était de 0,18 cas pour 100 000 habitants, la Bulgarie ayant enregistré le nombre de cas le plus élevé (3,85/100 000 habitants). En France, la prévalence était de **0,42/100 000 habitants** en 2016 (10).

► Cycle évolutif du parasite

Le cycle évolutif du parasite comprend plusieurs étapes (cf. Figure 1) (11).

^{3,4} Précisions apportées par le CNR-Échinococcoses lors de l'étape d'interrogation des parties prenantes.

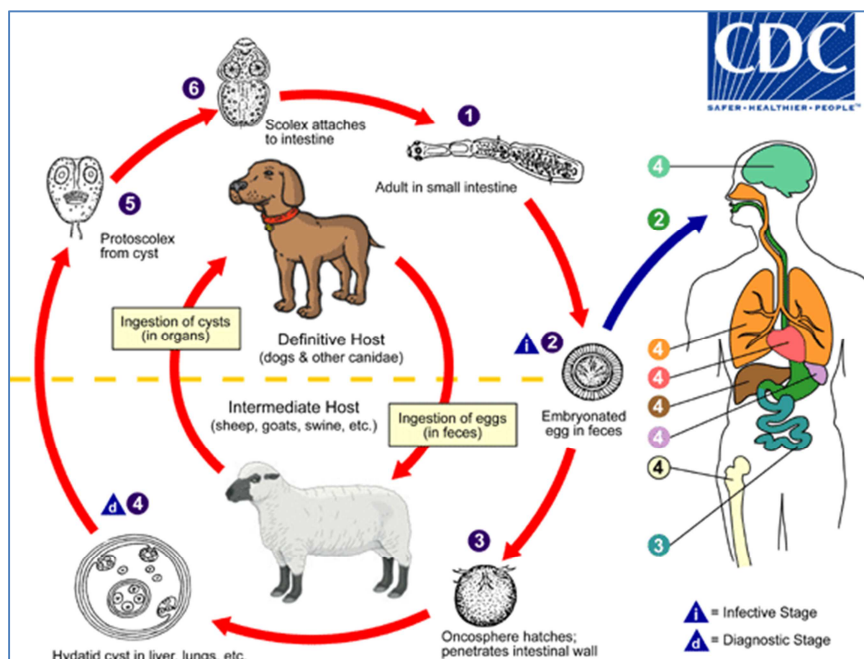


Figure 1. Cycle évolutif d'*Echinococcus granulosus* d'après les Centers for Disease Control and Prevention, 2013 (11).

- Étape 1** L'*E. granulosus* adulte mesure 3 à 6 mm de long et réside dans l'intestin grêle des hôtes définitifs que sont le chien ou tous les canidés. Dans un premier temps, les proglottis⁵ (anneaux) gravides libèrent les œufs qui passent dans les selles.
- Étapes 2 et 3** Après ingestion par un **hôte intermédiaire** (moutons, chèvres, porcs, bovins, chevaux, chameaux et tous les mammifères y compris l'homme), l'œuf éclot dans l'intestin grêle et libère une oncosphère⁶, celle-ci pénètre dans la paroi intestinale et migre à travers le système circulatoire vers divers organes, en particulier le foie et les poumons.
- Étape 4** Dans ces organes, l'oncosphère se développe en un kyste entouré d'une coque fibreuse, très peu cellulaire, qui croît progressivement et peut renfermer des centaines de milliers d'éléments infestant appelés protoscolex⁷. L'hôte définitif est infecté par l'ingestion des organes contenant le kyste de l'hôte intermédiaire infecté.
- Étapes 5 et 6** Après ingestion par l'**hôte définitif** (le chien), les protoscolex se dévaginrent et donnent chacun naissance, par bourgeonnement, à un *E. granulosus* adulte (l'évolution vers les stades adultes se fait en 32 à 80 jours).

Concernant *E. multilocularis* (1,2 à 3,7 mm), le cycle de vie est similaire à celui d'*E. granulosus*, avec néanmoins les principales différences suivantes (11) :

- l'hôte définitif est le renard et, dans une moindre mesure, les chiens, les chats, les coyotes et les loups ;
- l'hôte intermédiaire sont les petits rongeurs ;

⁵ Le proglottis désigne chacun des anneaux d'un cestode, c'est-à-dire le segment d'un ver annélide qui contient les organes de reproduction mâles et femelles <https://www.aquaportail.com>.

⁶ L'oncosphère est l'embryon mobile et cilié de certains ténias <http://www.universalis.fr/encyclopedie/cestodes/>.

⁷ Protoscolex : élément résultant du bourgeonnement de la membrane des capsules prolifères d'un kyste hydatique. Mesurant 120 µm environ, les protoscolex contiennent un scolex invaginé portant les 4 ventouses et les 36 à 42 crochets du futur cestode adulte <http://dictionnaire.academie-medecine.fr>.

- la croissance larvaire (dans le foie) reste indéfiniment en phase proliférative, entraînant une invasion des tissus environnants (11) et s'accompagne d'une importante réaction immunitaire de l'hôte, sous forme de granulome périparasitaire⁸.

► Transmission chez l'homme

Pour les deux types d'échinococcoses, la contamination humaine est accidentelle ; elle se fait principalement par ingestion d'œufs microscopiques présents sur des végétaux (baies, pissenlits, champignons...) souillés par les fèces d'animaux (renard, chien, chat) infestés ou par contacts directs répétés avec les animaux du fait de la présence des œufs des parasites sur leur pelage (12). L'homme constitue une impasse pour le parasite qui reste séquestré dans les tissus hôtes humains (3).

► Présentation clinique

Les manifestations pathologiques des infections humaines à *E. multilocularis* et *E. granulosus* sont en général très tardives et n'apparaissent que des années après l'infestation. Bien que les deux formes d'échinocoques soient très semblables, les deux maladies sont extrêmement différentes en matière de présentations cliniques, d'évolutivité et de pronostic (2, 5, 13).

Échinococcose alvéolaire (EA)

Pour l'EA, le site principal du développement des larves est presque exclusivement le foie et la présentation clinique peut imiter celle du carcinome hépatocellulaire. Les manifestations cliniques les plus fréquentes sont le malaise, la perte de poids et l'inconfort du quadrant supérieur droit en raison d'une hépatomégalie. L'ictère cholestatique, la cholangite, l'hypertension portale et le syndrome de Budd-Chiari peuvent également se produire (3, 4).

La maladie primitive extrahépatique est très rare (1 % des cas) ; des localisations métastatiques dues à une infection secondaire peuvent se produire dans une variété d'organes adjacents ou distants (poumon, cerveau, os). En l'absence de traitement, l'échinococcose alvéolaire est fatale (3, 4, 13).

Échinococcose kystique/hydatidose (EK)

L'EK évoque une pathologie tumorale dont les symptômes sont dus au développement des kystes, structures remplies de liquide qui contiennent les larves. La nature et l'ampleur des symptômes cliniques dépendent principalement du site des kystes, de leur taille et de leur évolution. La localisation hépatique est la plus fréquente (70 %), elle est suivie par la localisation pulmonaire (20 à 30 %), puis plus rarement par d'autres localisations (os, cœur, reins, rate, muscles, système nerveux central et yeux) (2, 3, 5, 13). À l'instar d'une pathologie tumorale, la croissance des kystes peut déclencher des symptômes relatifs à un effet de masse dans les organes, à une obstruction du flux sanguin ou lymphatique, ou encore à des complications telles qu'une rupture des kystes avec les infections bactériennes secondaires qui peuvent en résulter. Chez l'homme, la maladie peut être sévère et occasionnellement mortelle (2, 13).

1.3 Les traitements

► Échinococcose alvéolaire (EA)

Les options de traitement pour l'EA incluent la chirurgie, la radiologie interventionnelle (drainages biliaires percutanés), l'endoscopie interventionnelle, la transplantation hépatique et le traitement médicamenteux antiparasitaire (albendazole) (5).

La résection chirurgicale de l'ensemble des lésions, généralement par excision de l'ensemble du lobe affecté du foie, est présentée comme le traitement curatif de choix de l'EA (5, 14, 15).

⁸ Précisions apportées par le CNR-Échinococcoses lors de l'étape d'interrogation des parties prenantes.

Actuellement, les diagnostics précoces et les progrès chirurgicaux réalisés permettent à plus de 50 % des patients d'être opérables, comparés aux 20 % d'avant (16).

Le traitement médicamenteux à l'albendazole est pris, quelle que soit l'option thérapeutique (5, 14, 15) :

- après une ablation chirurgicale limitée et *a priori* curative, il est maintenu au moins deux ans afin d'éviter la poursuite de la maladie parasitaire ;
- lorsque la lésion est inextricable, il est en principe poursuivi à vie (5).

Les procédures interventionnelles sont généralement préférées à la chirurgie palliative :

- la radiologie interventionnelle consiste principalement en des drainages biliaires percutanés (externe-interne), associés à une antibiothérapie ciblée (5) ; il s'agit d'un traitement palliatif de l'EA ;
- l'endoscopie interventionnelle s'adresse en particulier aux patients atteints de forme biliaire (5).

La transplantation hépatique est habituellement réservée aux formes biliaires d'EA très symptomatiques : angiocholites à répétition, chocs septiques, voire cirrhose biliaire secondaire compliquée et/ou l'obstruction chronique des veines sus-hépatiques. Un bilan d'extension poussé est réalisé pour s'assurer de l'absence de métastases pulmonaires et/ou cérébrales dont la croissance pourrait être facilitée par l'immunosuppression thérapeutique. Le traitement par albendazole accompagne donc la greffe (5).

► Échinococcose kystique/hydatidose (EK)

Les options de traitement pour l'EK incluent la chirurgie, le traitement intitulé PAIR pour « ponction, aspiration, injection et réaspiration », le traitement médicamenteux antiparasitaire (albendazole) et la surveillance. Une expérience clinique spécifique est nécessaire pour la réalisation des traitements, les patients sont référés à des centres reconnus, de référence nationale ou régionale (14, 15).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (4), seule la chirurgie a le potentiel d'enlever les kystes de *E. granulosus* et de mener à la guérison complète, le taux de succès étant de l'ordre de 90 %, si le kyste ne présente pas une localisation à risque ou si la maladie n'est pas trop avancée. Néanmoins, la chirurgie peut être impraticable chez les patients atteints de plusieurs kystes localisés dans plusieurs organes et chez les patients avec un risque chirurgical élevé. L'introduction du traitement médicamenteux et de la technique PAIR peut constituer une alternative pour ces patients (4).

Afin de faciliter la prise de décision thérapeutique, les experts du groupe de travail de l'OMS dédié aux échinococcoses (WHO-IWGE⁹) ont suggéré une approche spécifique pour l'EK non compliquée du foie. Celle-ci tient compte de plusieurs facteurs qui déterminent la modalité de prise en charge thérapeutique, notamment le type de kyste (selon la classification de l'OMS), sa taille, son emplacement ainsi que la présence ou l'absence de complications (15).

1.4 Diagnostic des échinococcoses

Le diagnostic de présomption des échinococcoses repose, dans un premier temps, sur les signes cliniques et sur les résultats de biologie standard telle l'hyperéosinophilie ou l'hyperleucocytose ; en cas de localisation hépatique, les signes biologiques de cholestase peuvent également être observés (13).

Le **diagnostic parasitologique**, par examen direct ou anatomopathologie, permettant de mettre en évidence la tête du ver adulte (ou scolex) ou encore les crochets de scolex sur les prélèvements peropératoires (biopsies, liquide hydatique ou vomique hydatique¹⁰), est présenté comme le seul diagnostic de certitude. Néanmoins, dans les deux situations cliniques (EA et EK), la ponction

⁹ World Health Organization-*Informal Working Group on Echinococcosis*.

¹⁰ Expectoration après rupture d'un kyste dans une bronche.

percutanée ou biopsie n'est qu'exceptionnellement réalisée, en raison du risque élevé de propagation secondaire de l'infection et d'anaphylaxie (7, 13, 14, 17).

Le **diagnostic** des échinococcoses **repose donc essentiellement sur une combinaison d'imagerie et d'examen de biologie médicale**. L'échographie est souvent effectuée en première intention ; elle est généralement complétée ou validée par un scanner et/ou par imagerie par résonance magnétique (IRM) (3, 13). Le **diagnostic biologique** qui consiste à rechercher puis confirmer la présence d'anticorps sériques anti-*Echinococcus* est essentiel (3, 4, 13).

1.5 Recherche des anticorps sériques anti-*Echinococcus*

Le diagnostic sérologique des échinococcoses associe une étape initiale de recherche (dépistage), faisant appel à des tests primaires ayant une sensibilité élevée, mais pouvant être moins spécifiques, à une étape de confirmation des résultats positifs par des tests secondaires avec une spécificité élevée, mais pouvant être moins sensibles (4, 5).

Les tests secondaires sont nécessaires pour exclure la réactivité croisée dans les sérums positifs, en particulier lorsque des antigènes (Ag) d'*E. granulosus* ou des antigènes bruts d'*E. multilocularis* (cf. plus bas) ont été utilisés pour le dépistage primaire d'anticorps (Ac) (4).

1.5.1 Antigènes utilisés pour détecter les Ac anti-*Echinococcus*

► Antigènes communs à *E. granulosus* et à *E. multilocularis*

En raison d'une forte homologie génétique entre ces deux espèces d'*Echinococcus*, les anticorps de la plupart des patients atteints d'EA ou d'EK peuvent être détectés par des tests sérologiques utilisant soit des Ag bruts d'*E. granulosus* (fluide hydatique ou ses dérivés antigéniques), soit d'*E. multilocularis* (extraits bruts de protoscolex). Néanmoins, un dépistage basé sur de tels Ag, appelés Ag hétérologues, est non spécifique et ne peut différencier entre les deux échinococcoses (11, 18, 19).

► Antigènes spécifiques d'*E. multilocularis*

Les antigènes spécifiques d'*E. multilocularis* permettent une discrimination entre EA et EK dans 80-95 % des cas (15). Il s'agit de¹¹ :

Ag d'*E. multilocularis* semi-purifiés

- Em2, antigène majoritairement polysaccharidique, issu de la membrane cuticulaire d'*E. multilocularis* ;
- Em18, antigène protéique, issu de la membrane germinative viable (donc mieux corrélé à la mort du parasite) ; Em18 est codé par une partie de la séquence du gène qui code EM10-EmII/3.

Ag d'*E. multilocularis* recombinants

- Em10 et EmII/3-10, ou Em2Plus qui est un mélange d'antigènes de métacestodes d'*E. multilocularis* purifiés par affinité (antigène Em2) et d'un antigène recombinant (EmII/3-10) ;
- EM10, EmII/3, et Em18 sont codés par le même gène. EM10 et EmII/3 sont identiques ; les noms sont différents parce qu'ils ont été découverts presque simultanément par une équipe suisse et une équipe allemande. Secondairement, Em18 a été décrit par une équipe japonaise, et il a pu être démontré que cette protéine correspondait au même gène (séquence plus courte) ;
- la composition actuelle du kit commercialisé est un mélange d'Ag Em2 purifié par affinité et d'Ag recombinant Em18.

¹¹ Précisions apportées par le CNR-Échinococcoses lors de l'étape d'interrogation des parties prenantes.

► Antigènes spécifiques d'*E. granulosus*

Différentes sources antigéniques ont été utilisées pour le développement de tests sérologiques de diagnostic de l'EK (20) :

- l'antigène B (AgB), partiellement purifié, est une lipoprotéine thermostable de 120-160 kDa composée de sous-unités de 8 kDa (21) ;
- l'antigène 5 (Ag5), partiellement purifié, est également l'une des parties les plus immunogènes et abondantes du fluide hydatique (FKH) ; il est constitué de composants de 57 et 67 kDa (20).

L'antigène B (AgB) et l'antigène 5 (Ag5) dérivés du fluide hydatique sont considérés comme plus spécifiques que le FKH pour le diagnostic d'*E. granulosus* (20, 22).

1.5.2 Description des techniques de détection des anticorps sériques proposées pour la version réactualisée de la NABM

La demande consiste en la modification de la liste actuelle des techniques de détection des anticorps sériques anti-*Echinococcus*, utilisées pour la recherche initiale (dépistage) et pour la confirmation du diagnostic. Les techniques proposées pour la version réactualisée de la NABM sont : pour le dépistage, l'hémagglutination indirecte (HAI) et la technique immunoenzymatique (EIA ou ELISA) et pour la confirmation, l'immunoempreinte IE (technique du *Western Blot*).

► Hémagglutination indirecte (HAI)

Le principe d'une réaction d'agglutination est de mettre des antigènes sur un élément figuré (cellules, érythrocytes, particules, bactéries) en présence d'un sérum contenant des anticorps spécifiques agglutinants¹². Les Ac agglutinants forment des ponts spécifiques avec les Ag particuliers et conduisent à la formation d'un réseau visible sous forme d'amas. Il s'agit d'une **technique semi-quantitative**¹³ dont le résultat est exprimé sous forme de « dilution » du sérum, à partir de laquelle un test positif est observé.

Dans le cas du diagnostic d'*Echinococcus*, l'HAI utilise des globules rouges sensibilisés par un mélange d'antigènes d'*E. granulosus* (liquide hydatique) (23).

► Technique immunoenzymatique (EIA ou ELISA)

La technique EIA ou ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) est une technique immunoenzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps¹⁴. Il s'agit d'une **technique quantitative**¹⁵ dont le résultat est exprimé sous forme de « densité optique » convertie en pourcentage de positivité par rapport à des sérums témoins positif et négatif utilisés comme contrôles.

► Immunoempreinte IE (technique du *Western Blot*)

L'immunoempreinte (IE), aussi appelée *Western Blot* (WB), immunoblot ou immunotransfert, est une technique employée pour visualiser les anticorps dirigés contre un mélange d'antigènes ; il s'agit d'une **méthode qualitative**.

Le mélange d'antigènes est soumis à une électrophorèse sur gel dans une matrice porteuse (SDS-PAGE, *Native PAGE*, focalisation isoélectrique, électrophorèse sur gel bidimensionnelle, etc.), afin de trier les protéines par taille, par charge, ou toute autre différence, par bandes individuelles de protéines. Les bandes de protéines séparées sont ensuite transférées vers une membrane porteuse (par ex., nitrocellulose, nylon ou polyfluorure de vinylidène (*PolyVinylidene Fluoride*-PVDF)).

¹² <http://www.imgt.org/IMGTeducation/Tutorials/methods/methods.html>.

^{13,15} Précisions apportées par le CNR-Échinococcoses lors de l'étape d'interrogation des parties prenantes.

¹⁴ <http://www.technobio.fr/article-18589062.html>.

Ce procédé porte le nom de **transfert**, les protéines adhèrent à la membrane de la même manière qu'elles ont été séparées, en raison des interactions entre les charges. Les protéines de cet **immunotransfert** peuvent ensuite être utilisées pour être liées aux anticorps en vue du diagnostic. Le résultat est exprimé¹⁶ sous forme de « bandes » désignées par leur poids moléculaire, en relation avec une échelle de référence ; une interprétation du test est proposée à partir de la combinaison des bandes positives observées.

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

Dans la version actuelle du sous-chapitre 7-05 de la NABM relatif à la sérologie parasitaire, figurent trois examens de sérologie pour les échinococcoses : le dépistage (recherche initiale), la confirmation et le suivi ; la NABM précise pour le dépistage et la confirmation les différentes techniques sérologiques.

Les volumes d'actes réalisés en 2014 et 2015 sont présentés dans le Tableau 1 ci-dessous. Il s'agit de chiffres extraits des bases de remboursement du Régime général incluant les sections locales mutualistes, la Métropole et les DOM.

Tableau 1. Codes NABM et cotations relatifs à la sérologie des échinococcoses

Code NABM	Intitulé	Nombre d'actes réalisés en 2014	Nombre d'actes réalisés en 2015
4328	Dépistage par au moins deux techniques parmi les suivantes : ELS - HAGG - EIA - IFI - IDD	5 735	5 631
4329	Test de confirmation en utilisant la technique COES	1	1
4330	Test de confirmation en utilisant la technique IELP	30	55
4331	Test de confirmation en utilisant la technique IE	727	836
6328	Suivi avec examen itératif du sérum ayant servi au sérodiagnostic de dépistage par une des techniques mises en œuvre pour ce dépistage	37	41

ELS : électrosynérèse (contre immunoélectrophorèse) ; HAGG : hémagglutination sensibilisée ; EIA : technique immunoenzymatique (y compris immunocapture) ; IFI : immunofluorescence ; IDD : immunodiffusion double (*Ouchterlony*) ; COES : coélectrosynérèse avec sérum de référence positif ; IE(L)P : immunoélectrophorèse ; IE : immunoempreinte (*Western Blot*).

¹⁶ Précisions apportées par le CNR-Échinococcoses lors de l'étape d'interrogation des parties prenantes.

2. Champ et méthode d'évaluation

2.1 Champ d'évaluation

Le demandeur propose de modifier la nomenclature relative au diagnostic sérologique des échinococcoses comme suit (cf. Tableau 2).

Tableau 2. Nomenclature relative au diagnostic sérologique des échinococcoses (modification proposée)

Code NABM	Intitulé
4328	Dépistage par au moins deux techniques parmi les suivantes : HAI - EIA
4331	Test de confirmation en utilisant la technique IE
6328	Suivi avec examen itératif du sérum ayant servi au dépistage par une technique quantitative

EIA : technique immunoenzymatique (y compris immunocapture) ; HAI : hémagglutination indirecte ; IE : immunoempreinte (*Western Blot*).

Pour le dépistage (recherche initiale), il s'agit de supprimer quatre techniques de recherche d'anticorps (ELS, HAGG, IDD et IFI) estimées aujourd'hui « obsolètes » selon le demandeur, de garder la technique d'EIA et d'introduire une nouvelle technique, l'hémagglutination indirecte (HAI). Par ailleurs, le demandeur prévoit toujours dans la nouvelle version, de réaliser l'examen de dépistage par deux techniques différentes : EIA et HAI.

Pour la confirmation du diagnostic, le demandeur propose de supprimer la COES et l'IELP pour ne garder que l'IE (*Western Blot*).

Pour le suivi, la modification du libellé consiste à préciser que la technique à utiliser devra être quantitative.

Cette évaluation a pour objectif de définir les techniques de recherche d'anticorps considérées aujourd'hui comme les plus appropriées au regard des dernières données de la littérature et de la pratique.

La mise en évidence sur les prélèvements peropératoires, par visualisation directe de l'agent pathogène (scolex ou crochets de scolex) ou par amplification génique (réaction en chaîne de la polymérase (PCR), utilisée pour détecter des acides nucléiques spécifiques d'*Echinococcus*) n'est pas dans le champ de la demande. La mise en évidence par visualisation directe est déjà inscrite à la NABM (code 0267) et la PCR n'est pas encore inscrite.

2.2 Méthode d'évaluation

La méthode d'évaluation utilisée dans ce rapport par la HAS est fondée, conformément à ce qui a été défini dans la feuille de route (1), sur :

- l'analyse critique de la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, méta-analyses, revues systématiques et revues générales), identifiés par une recherche documentaire systématique ; les revues générales, de même que des documents de natures diverses (rapport, fiches techniques, documents pédagogiques...) ont été recherchés compte tenu de l'absence d'identification d'une littérature synthétique de meilleure qualité méthodologique ;
- l'analyse des données de remboursement issues des bases de l'Assurance maladie ;
- le recueil de la position argumentée des professionnels, au moyen d'un questionnaire adressé aux organismes professionnels des praticiens concernés (Conseil national professionnel [CNP] de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière) et au Centre national de référence échinococcoses (CNR-E) ;

- la compilation de ces différents éléments dans un argumentaire, soumis directement au Collège pour validation.

2.3 Recherche documentaire

2.3.1 Bases automatisées de données bibliographiques

► Liste des bases interrogées

Les bases bibliographiques suivantes ont été interrogées :

- *Medline (National Library of Medicine, États-Unis)* ;
- *The Cochrane Library (Wiley Interscience, États-Unis)* ;
- BDSP - Banque de données en santé publique ;
- Science Direct (Elsevier) ;
- *National Guideline Clearinghouse (Agency for Healthcare Research and Quality, États-Unis)* ;
- *HTA Database (International Network of Agencies for Health Technology Assessment)*.

► Stratégie d'interrogation des bases et résultats

La recherche a porté sur la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, méta-analyses, revues systématiques et revues générales) publiée en langue anglaise et française. Le dernier consensus d'experts européens ayant été publié en 2010, la période de recherche a été fixée entre janvier 2009 et septembre 2017. Une veille a été réalisée jusqu'en juin 2017.

La stratégie de recherche dans les bases de données est détaillée dans le Tableau 7 en Annexe 1.

Le nombre total de références obtenues par la recherche dans les bases de données est de 201.

2.3.2 Sites Internet

Sont recherchés ici la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, méta-analyses, revues systématiques et revues générales) publiée par différents organismes (agences d'évaluation, sociétés savantes, institutions sanitaires, ministère de la santé ...), de même que divers documents décrivant de façon explicite le diagnostic sérologique des échinococcoses (rapports, fiches techniques, documents pédagogiques...).

La recherche sur les sites Internet a été faite en février 2017. Une veille documentaire a été réalisée jusqu'en juin 2017.

► Liste des sites consultés

La liste des sites consultés est présentée en Annexe 1.

► Recherche et résultats

Les sites Internet ont été interrogés en fonction des modalités de recherche propres à chacun : consultation de la liste des publications et/ou requête dans le moteur de recherche avec les mots-clés suivants : *echinococcosis*, *hydatidosis*, *echinococcus*, *diagnosis*, *serology*, *immunodiagnosis*, *serologic tests*.

Cette recherche a permis d'identifier 35 documents.

2.4 Sélection des documents identifiés

Une analyse sur titre et résumé a permis de réaliser une première sélection sur la base des critères d'exclusion suivants :

- articles hors sujet (autres parasitoses, articles de recherche fondamentale ou relatifs aux traitements, diagnostic par imagerie, revues épidémiologiques) ;
- articles doublons identifiés conjointement par les bases consultées et sur les sites Internet ;
- études sur l'animal ;
- études de cas ;
- notices de fabricants de kits ;
- articles qui comparent les performances d'un test donné en utilisant différents antigènes ;
- articles qui évaluent la performance diagnostique de tests autres que ceux faisant l'objet de ce travail.

Cette première sélection a permis d'exclure 201 documents.

Sur les 35 documents restants, aucun n'était une méta-analyse, une revue systématique ou un rapport d'évaluation des technologies de santé. Il s'agissait de :

- un consensus d'experts, groupe de travail informel de l'OMS sur l'échinococcose (WHO-IWGE¹⁷), réalisé sous l'égide de l'OMS et publié en 2010 ;
- trente revues générales qui décrivent les aspects de diagnostic sérologique des échinococcoses ;
- une fiche technique publiée par les *Centers for Disease Control and Prevention* (centres pour le contrôle et la prévention des maladies)¹⁸ ;
- un document pédagogique portant sur les échinococcoses, publié par l'Association française des enseignants de parasitologie et mycologie (ANOFEL) ;
- le rapport d'activité 2015 sur l'année d'exercice 2014 du CNR-EA.

Une analyse sur les documents *in extenso* a été réalisée dans un deuxième temps.

À la lecture du document de consensus d'experts du WHO-IWGE de 2010 (15), il est apparu que ses auteurs se sont essentiellement appuyés sur les données de diagnostic sérologique de leur précédent rapport de 2001 (4). Pour cette raison, il a été décidé d'inclure également dans l'analyse des données ce précédent rapport de 2001 de l'OMS.

Par ailleurs, l'absence de littérature récente de haut niveau de preuve et l'ancienneté des deux documents réalisés sous l'égide de l'OMS par le WHO-IWGE (rapport OMS de 2001 et consensus d'experts de 2010), ont amené à sélectionner tous les documents, quelle que soit leur nature, susceptibles de décrire de façon claire et/ou de préconiser les techniques sérologiques actuellement admises dans la pratique. Concernant les revues générales, il a cependant été décidé de ne sélectionner que les plus récentes : publiées sur les quatre dernières années, 2013-2016. Ceci a conduit à sélectionner neuf revues générales.

Quatorze documents ont ainsi été sélectionnés (cf. Figure 2).

De plus, lors de la consultation des parties prenantes, le CNR-E a proposé une liste de références bibliographiques. Parmi ces références, seuls ont été retenus les articles les plus récents (publiés en 2017), décrivant spécifiquement les techniques utilisées en routine pour le diagnostic sérologique des échinococcoses. Les articles décrivant des techniques ou des tests relevant du domaine de la recherche n'ont pas été retenus. Une revue générale a ainsi été rajoutée à la liste de ceux sélectionnés à l'issue de la recherche documentaire.

Au total, quinze documents ont été sélectionnés et analysés (cf. Figure 2).

¹⁷ World Health Organization-*Informal Working Group on Echinococcosis* (WHO-IWGE).

¹⁸ Principale agence gouvernementale nord-américaine de protection de la santé publique et de sécurité publique. L'équivalent européen est l'*European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC).

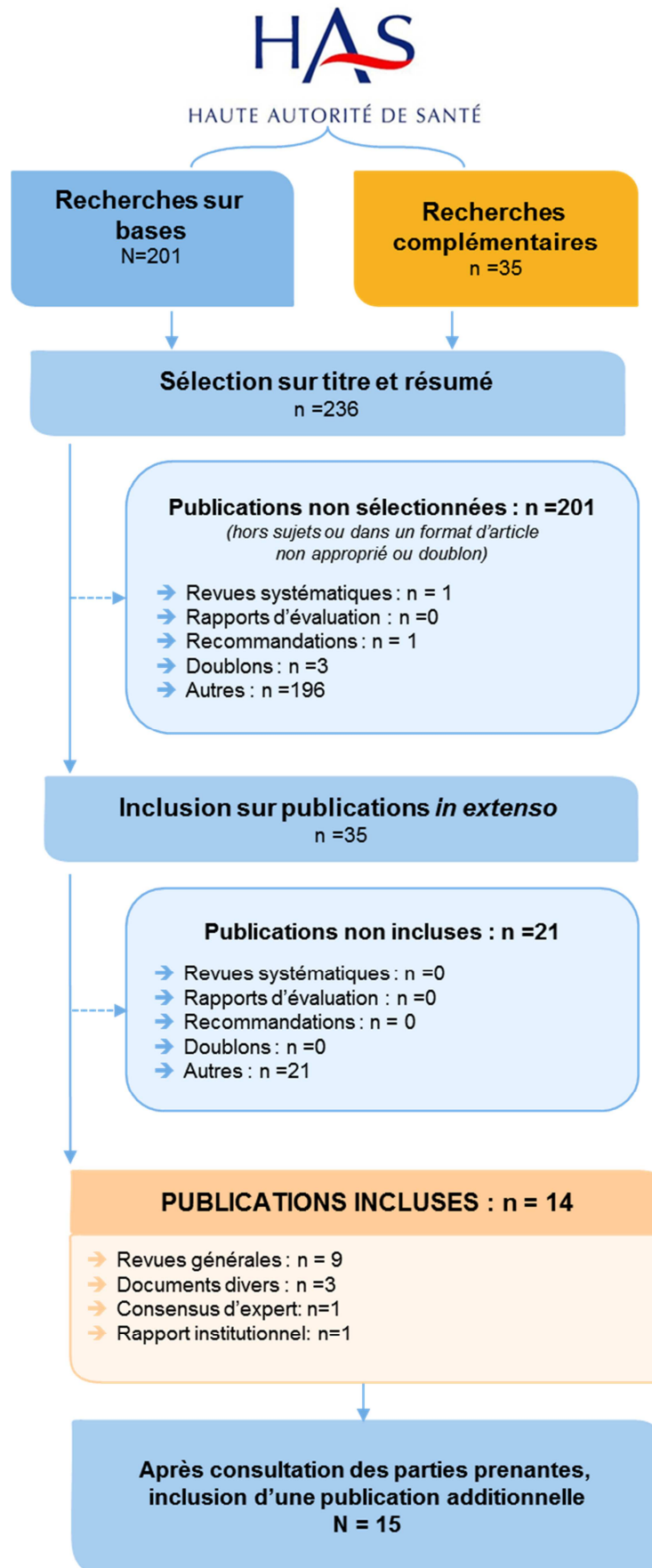


Figure 2. Diagramme de sélection des références bibliographiques identifiées

2.5 Recueil de la position des professionnels

2.5.1 Organismes professionnels consultés

Les organismes contactés pour les consultations et leur répartition par type de discipline sont présentés ci-dessous.

Tableau 3. Organismes consultés

Discipline	Organisme
Biologie médicale	Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNP-BAIHH)
	Centre national de référence des échinococcoses (CNR-E) - Laboratoire de parasitologie et mycologie, CHRU de Besançon

2.5.2 Méthode de consultation

Ces organismes ont été sollicités en tant que parties prenantes au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013¹⁹, 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 HAS²⁰.

En pratique, le président du CNP-BAIHH 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-E, le responsable a été destinataire de ces documents.

Cette sollicitation a été envoyée le 24 mai 2017. Les deux parties prenantes avaient jusqu'au 16 juin 2017 pour répondre au questionnaire. Les points de vue émis par les deux parties prenantes sont présentés *in extenso* en Annexe 3. Ces différents points de vue ont ensuite été synthétisés par la HAS dans la partie 3.3 de ce rapport.

¹⁹ 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>

²⁰ Procédure de consultation des parties prenantes de la HAS, juin 2014.

3. Résultats de l'évaluation

3.1 Analyse de la littérature

3.1.1 Présentation des documents analysés

L'ensemble des documents analysés sont présentés dans le Tableau 4.

Hormis, le document de consensus d'experts du WHO-IWGE de 2010, dont la méthodologie d'élaboration est décrite et analysée plus bas (cf. 3.1.3), la majorité des documents sélectionnés consistent en des revues générales qui ne décrivent pas leur méthodologie d'élaboration. Le niveau de qualité scientifique de tous ces documents est jugé faible.

En conséquence, toutes les préconisations et recommandations qui en sont issues n'ont dans cet argumentaire qu'une valeur purement descriptive.

Tableau 4. Présentation des documents analysés

Publication	Nature du document
<i>World Health Organization</i> , 2001 (4)	Rapport institutionnel
<i>WHO-Informal Working Group on Echinococcosis</i> , 2010 (15)	Consensus d'experts
<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> , 2013 (11)	Fiche technique publiée par les <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (Etats-Unis)
Vuitton <i>et al.</i> , 2010 (18)	Revue générale
Grenouillet <i>et al.</i> , 2013 (23)	Revue générale
Bresson-Hadni <i>et al.</i> , 2014 (5)	Revue générale
Agudelo Higueta <i>et al.</i> , 2016 (24)	Revue générale
Mihmanli <i>et al.</i> , 2016 (25)	Revue générale
Pakala <i>et al.</i> , 2016 (26)	Revue générale
Kahlfuß <i>et al.</i> , 2016 (27)	Revue générale
Schwarz <i>et al.</i> , 2017 (19)	Revue générale
Manzano-Roman <i>et al.</i> , 2015 (21)	Revue générale
Siles-Lucas <i>et al.</i> , 2017 (28)	Revue générale
Association française des enseignants de parasitologie et mycologie, 2016 (13)	Document pédagogique publié par l'Association française des enseignants de parasitologie et mycologie (ANOFEL)
Centre national de référence-échinococcose alvéolaire, 2015 (29)	Rapport d'activité du Centre national de référence-échinococcose alvéolaire (CNR-EA)

3.1.2 Rapport du WHO-IWGE de 2001

Le groupe de travail de l'OMS sur l'échinococcose (WHO-IWGE) a été créé en 1995 par l'OMS ; il regroupe plusieurs experts issus de différents pays. Son objectif est de mettre en place des réseaux internationaux de coopération qui permettent de répondre à des problèmes pertinents sur la base de normes internationales élevées et d'une technologie appropriée. Le WHO-IWGE a lancé plusieurs nouvelles activités dont la standardisation des tests immunodiagnostiques.

Dans son rapport de 2001 (4) qui a été rédigé par dix-sept experts du WHO-IWGE parmi lesquels un expert français du CNR-EA, les aspects cliniques, diagnostiques et thérapeutiques des échinococcoses humaines ont été traités dans le chapitre 2 du document.

L'OMS a néanmoins rappelé que ce document n'était pas une publication officielle de l'institution ; il s'agit d'opinions exprimées par les auteurs qui restent de leur seule responsabilité. Ainsi, la mention de fabricants spécifiques ou de produits spécifiques n'implique pas qu'ils soient approuvés ou recommandés par l'OMS par rapport à d'autres de nature similaire et qui n'auraient pas été mentionnés.

Les différents éléments concernant le diagnostic initial et le diagnostic de confirmation sont décrits ci-dessous pour les deux types d'échinococcoses.

► Échinococcose alvéolaire

Recherche initiale

En 2001, le WHO-IWGE considérait que la meilleure technique de détection des anticorps sériques (IgG) dans les cas d'EA était le **test ELISA** utilisant des antigènes purifiés d'*E. multilocularis*, tels que l'antigène Em2, l'antigène Em18, l'Em alkaline phosphatase, les antigènes recombinants II/3-10 et Em10 ou Em2Plus (mélange d'Em2 et d'EmII/3-10). Les tests utilisant ces antigènes présenteraient des sensibilités diagnostiques approchant les 90 à 100 % (cf. Tableau 5 ci-dessous) (4).

Tableau 5. Sensibilité de détection des anticorps anti-*E. multilocularis* en fonction de la nature des antigènes utilisés, d'après le rapport OMS, 2001 (4)

Antigène (<i>E. multilocularis</i>)	Test	% de sensibilité [nombre de cas testés]
CH-10 (brut)	ELISA	96 [140]
Em2 (partiellement purifié)	ELISA	89 [140]
Em18 (partiellement purifié)	ELISA	91 [79]
Em alkaline phosphatase (purifié)	ELISA	100 [37]
Em10 (recombinant)	ELISA	86 [140]
EmII/3-10 (recombinant)	ELISA	86 [140]
Em2Plus : mélange d'Em2 et d'EmII/3-10	ELISA	97 [140]

Confirmation

Le WHO-IWGE a indiqué que des tests de confirmation étaient nécessaires pour exclure la réactivité croisée au niveau des sérums positifs, en particulier lorsqu'ont été utilisés des antigènes bruts d'*E. granulosus* ou d'*E. multilocularis* pour le diagnostic initial. Les techniques de confirmation citées par le WHO-IWGE sont l'immunoempreinte (IE) ou l'ELISA utilisant l'antigène provenant du protoscolex d'*E. multilocularis* et détectant les anticorps IgG4 (4).

Suivi de traitement

L'utilisation des tests sérologiques pour l'évaluation de l'efficacité du traitement chirurgical et médicamenteux et la viabilité des métacestodes (forme larvaire d'*Echinococcus*) a une valeur limitée selon les experts du WHO-IWGE. Néanmoins, chez une partie des patients traités, en particulier ceux ayant une forme régressive d'EA, il a été démontré que les taux d'anticorps détectés par les tests ELISA (utilisant les Ag Em2 ou Em2Plus ou l'Em phosphatase alcaline) ou par immunoempreinte, avaient tendance à diminuer dans le temps, mais seulement après de longues périodes allant d'une à plusieurs années après intervention thérapeutique (4).

► Échinococcose cystique

Recherche initiale

En 2001, les experts du WHO-IWGE ont indiqué que les tests sérologiques de détection des anticorps (IgG) anti-*E. granulosus* les plus couramment utilisés étaient : l'IgG-ELISA, l'hémagglutination indirecte (HAI), le test d'agglutination au latex (LAT) et l'immunoélectrophorèse (IELP). La sensibilité de ces différents tests était néanmoins très variable et l'IgG-ELISA, au regard des données, paraissait être le test le plus sensible (cf. Tableau 6) (4).

Les experts du WHO-IWGE ont rappelé par ailleurs que plusieurs facteurs étaient susceptibles d'influencer les résultats des tests sérologiques : le type d'antigène utilisé, le site des kystes et leur nombre, la variabilité interindividuelle de la réponse immunologique, etc. (4).

En raison de la variabilité de sensibilité de ces différents tests (cf. Tableau 6), les auteurs ont rapporté que de nombreux laboratoires utilisaient au moins deux tests différents pour le diagnostic initial d'EK, ce qui permettait d'augmenter la sensibilité (4).

Tableau 6. Sensibilité de divers tests de détection d'anticorps chez des patients atteints d'EK confirmée, d'après le rapport OMS, 2001 (4)

Test immunodiagnostique	Sensibilité des différents tests immunodiagnostiques			
	Site des kystes et nombre de patients [N]			
	Foie [41]	Poumon [79]	Foie et poumons [49]	Autres organes [7]
Agglutination au latex (AL)	80	58	88	57
Hémagglutination indirecte (HAI)	80	61	90	57
Immunoélectrophorèse (IELP)	68	51	71	50
IgG-ELISA	93	83	96	93

Selon les experts du WHO-IWGE, il n'existerait pas de test sérologique standard à la fois hautement sensible et spécifique pour la détection des anticorps d'EK humaine. Les résultats sérologiques positifs doivent en conséquence être **nécessairement confirmés** par des tests plus spécifiques, à l'exception des cas où l'imagerie est clairement en faveur d'une EK (4).

Confirmation

Selon les experts du WHO-IWGE, l'**immunoempreinte (IE)** a une spécificité très élevée (95 à 100 %) pour la détection de la réactivité des anticorps avec les sous-unités antigéniques 39 kDa, 16 kDa et 12 kDa spécifiques d'*E. granulosus*. Elle permettrait ainsi d'exclure d'autres parasitoses (autres helminthiases, cysticercoses, schistosomiase, onchocercose et sujets sains). La réactivité croisée ne serait cependant pas complètement exclue, en particulier pour la sous-unité de 12 kDa d'*E. granulosus* qui a montré une réactivité croisée avec 40 % des sérums de patients porteurs d'EA et 5 % de patients atteints de cysticercose (4).

Suivi de traitement

L'analyse des sous-classes d'IgG permettrait de refléter les changements qualitatifs des paramètres sériques après traitement chirurgical ou médicamenteux. Néanmoins, selon les experts du WHO-IWGE, il n'existe pas de résultats concluants ou de tests reproductibles qui pourraient être recommandés pour le suivi des EK (4).

3.1.3 Consensus d'experts du WHO-IWGE de 2010

Ce consensus d'experts (15) a été organisé à l'initiative du WHO-IWGE sous l'égide de l'OMS. Il avait pour objectif de réactualiser les recommandations portant sur le diagnostic, le traitement et le suivi des échinococcoses alvéolaire et kystique, émises antérieurement par le même groupe en 1996²¹ et en 2001 (4).

► Méthode d'élaboration

Le projet a été initié par le WHO-IWGE et a été discuté à deux reprises à un an d'intervalle (mai 2006, puis mai 2007). Soixante experts issus des différents continents (Europe, Asie, Afrique, Amérique), dont dix-huit experts français, ont été sollicités pour examiner la littérature publiée en anglais entre 1980 et 2008 et discuter des données récentes relatives au diagnostic, au traitement et au suivi des échinococcoses alvéolaire et kystique. Pour les différentes sous-sections du document, des rapporteurs ont été désignés par l'OMS pour soutenir les groupes de rédaction.

Une réunion dont l'objectif était d'établir un consensus relatif à la prise en charge clinique des patients atteints d'EK et EA a été organisée en France avec les experts impliqués dans ce travail. Le consensus final n'a été obtenu qu'en février 2009 par courrier électronique.

Les niveaux de gradation des recommandations adoptés dans ce document suivent le Guide²² d'élaboration des recommandations de pratique, publié par l'*Infectious Diseases Society of America*.

Sur le plan méthodologique, la recherche documentaire a été restreinte aux publications en anglais identifiées sur la seule base *Medline* et les critères de sélection des articles n'ont pas été précisés par les auteurs.

Pour ce qui concerne la sous-section relative au diagnostic sérologique des EA et EK qui intéresse le présent travail, l'argumentaire scientifique semble, au regard des références citées, s'appuyer uniquement sur les précédentes recommandations de 1996 de l'OMS-IWGE, sur le rapport OMS/OIE²³ de 2001 (4) et sur quatre articles dont trois revues générales narratives (30-32) et une étude qui a évalué la performance diagnostique de l'IE chez des patients avec une hydatidose hépatique et pulmonaire (33). Aucune gradation n'a été émise par les auteurs pour les recommandations intéressant le diagnostic sérologique initial et de confirmation des EA et EK. Ceci pourrait

²¹ WHO-*Informal Working Group on Echinococcosis. Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. Bull World Health Organ* 1996;74(3):231-42.

²² *Infectious Diseases Society of America, Kish MA. Guide to development of practice guidelines. Clin Infect Dis* 2001;32(6):851-4.

²³ Office international des épizooties, dont le nom a changé en Organisation mondiale de la santé animale (*World Organisation for Animal Health*).

s'expliquer au regard du faible nombre des documents analysés et de leur nature qui ne peut préjuger d'un niveau de preuve élevé. Ces recommandations semblent être principalement fondées sur avis d'experts.

► Échinococcose alvéolaire

Concernant l'immunodiagnostic de l'EA, le document renvoie au rapport du WHO-IWGE de 2001 (4). Il cite la performance diagnostique élevée des antigènes Em2, Em2+ et Em18 (sensibilité de 90 à 100 % et spécificité de 95 à 100 %) mais ne précise pas la nature des techniques diagnostiques à utiliser pour l'étape de diagnostic initial.

Pour la confirmation du diagnostic, les auteurs recommandent l'**immunoempreinte** et ajoutent que cette technique peut être utilisée comme test de première ligne (diagnostic initial), si elle est facilement accessible.

► Échinococcose kystique

Recherche initiale

Les auteurs ont cité trois techniques de recherche initiale des anticorps sériques dirigés contre les antigènes du liquide des kystes hydatiques ; il s'agit de l'**hémagglutination indirecte**, de l'**ELISA** et de l'**agglutination au latex**. La sensibilité de ces trois techniques se situe entre 85 et 98 % pour les kystes hépatiques, 50-60 % pour les kystes pulmonaires et 90-100 % pour les kystes à organes multiples (15).

Le document a par ailleurs souligné que la spécificité de tous ces tests était limitée par les réactions croisées causées par d'autres infections à cestodes (*E. multilocularis* et *Taenia solium*), par certaines helminthiases²⁴, par les tumeurs malignes, par la cirrhose du foie et la présence d'anticorps anti-P1.

Confirmation

Pour confirmer le diagnostic des cas douteux, le document préconise les tests qui mettent en évidence la fraction antigénique 5 (arc 5) ou les sous-unités de l'antigène B 8 kDa/12 kDa révélés par immunoempreinte. Le document statue aussi que l'**immunoempreinte (Western Blot)** constitue le meilleur test pour le diagnostic différentiel et qu'il peut être utilisé en première ligne (15).

3.1.4 Synthèse descriptive de la littérature analysée

La synthèse descriptive des principaux éléments qui ressortent de l'ensemble des documents analysés est présentée ci-dessous. Elle regroupe les éléments issus des deux documents élaborés par le WHO-IWGE (cf. 3.1.2 & 3.1.3), ainsi que les conclusions et préconisations qui ressortent de dix revues générales (5, 18, 19, 21, 23-28), de la fiche technique publiée par les *Centers for Disease Control and Prevention* (11), du document pédagogique de l'Anofel (13) et du rapport d'activité du CNR-EA (29) (cf. Tableau 8 en Annexe 2).

► Échinococcose alvéolaire

Le diagnostic sérologique de l'EA associe une étape de diagnostic initial (dépistage) réalisée par des tests très sensibles, mais pouvant être non spécifiques de *E. multilocularis*, suivie d'une étape de confirmation réalisée avec des tests plus spécifiques (5, 13, 23).

Recherche initiale

D'après la majorité des documents consultés, les techniques sérologiques qui semblent être actuellement les plus utilisées pour le dépistage de l'EA sont l'**ELISA** et l'**HAI** (4, 5, 13, 15, 23, 28, 34).

²⁴ Maladies causées par les helminthes, vers parasites intestinaux.

L'HAI utilisant un antigène d'*E. granulosus*, est très sensible, si on fixe la positivité à 1/80, mais elle est par définition non spécifique d'*E. multilocularis* ; elle constitue donc un test d'orientation qui doit être complété par l'ELISA ou le Western Blot (34).

Les ELISAs basés sur des **antigènes hétérologues** (fluide hydatique, *E. granulosus*) peuvent, au regard de l'homologie génétique qui existe entre *E. granulosus* et *E. multilocularis*, contribuer à la détection des cas d'EA (5, 23), mais ce dépistage est non spécifique de l'EA, il est incapable de différencier entre les deux échinococcoses EA et EK (11, 18, 19).

L'utilisation des **ELISAs** basés sur les **antigènes purifiés d'*E. multilocularis***, tels que l'antigène Em2, l'antigène Em18, l'Em alkaline phosphatase, les antigènes recombinants II/3-10 et Em10 ou l'antigène purifié Em2-Plus, permet d'obtenir une **meilleure sensibilité** diagnostique avec plus de 95 % des cas d'EA qui peuvent être détectés (4, 11, 15, 28, 34). **L'ELISA Em2-plus** semble être le seul test **actuellement commercialisé** ; il associe l'antigène polysaccharidique Em2 (extrait de métacestodes d'*E. multilocularis*) à l'antigène recombinant Em18 (antigène voisin de EmII/3-10 et de Em10), sécrété par la membrane germinative et les protoscolex (23).

D'après les documents consultés, le meilleur diagnostic sérologique semble reposer sur la combinaison de deux techniques très sensibles. Celles qui sont généralement citées dans cette association sont l'ELISA et la HAI (11, 13, 23, 28, 29).

Confirmation

Tous les documents consultés préconisent l'utilisation de tests de confirmation, nécessaires pour exclure la réactivité croisée au niveau des sérums positifs, en particulier lorsqu'ont été utilisés des antigènes d'*E. granulosus* ou d'*E. multilocularis* bruts pour le diagnostic initial.

La seule technique de confirmation recommandée par la majorité des auteurs est l'**immunoempreinte (IE)** utilisant un antigène total (broyats de lésions) d'*E. multilocularis* ; elle permet de visualiser des bandes 16 kDa et 18 kDa spécifiques d'*E. multilocularis* (4, 5, 13, 15, 23, 28, 29).

Suivi

En 2001, les experts de l'OMS-IWGE avaient indiqué que l'utilisation des tests sérologiques pour l'évaluation de l'efficacité du traitement chirurgical et médicamenteux et la viabilité des métacestodes avait une valeur limitée (4). Ils avaient néanmoins rapporté que chez une partie des patients traités, en particulier ceux ayant une forme régressive d'EA, le taux d'anticorps détectés par les tests ELISA (utilisant les Ag Em2 ou Em2Plus ou l'Em phosphatase alcaline) ou par immunoempreinte avait tendance à diminuer dans le temps, mais seulement après de longues périodes allant d'une à plusieurs années après intervention thérapeutique (4).

Plus récemment, il a été rapporté que les ELISAs, basés sur l'antigène recombinant Em18, sont plus utiles pour le suivi des patients traités par albendazole au long cours, les anticorps anti-Em18 étant corrélés à l'activité et à la viabilité parasitaire (5, 23, 28). Par ailleurs, concernant l'IE, bien que le nombre et l'intensité des bandes aient tendance à diminuer chez les patients opérés et/ou traités par albendazole, l'IE ne serait pas utile pour le suivi (23).

Tests sérologiques obsolètes

Plusieurs auteurs indiquent que les techniques anciennes telles l'**IELP** ou l'**ELS**, trop peu sensibles, n'ont plus d'intérêt et ont été remplacées par l'HAI, les tests ELISA et l'immunoempreinte (5, 18, 19).

► Échinococcose kystique

Recherche initiale

Le diagnostic sérologique de l'EK est plus complexe et selon plusieurs auteurs moins fiable que celui de l'EA. Il est associé à un manque de standardisation des techniques, à un manque de sensibilité, ainsi qu'à une réactivité croisée avec des antigènes d'autres parasites ou avec des maladies non parasitaires telles que la malignité ou la cirrhose du foie (15, 19, 20, 22, 24-26).

Plusieurs techniques de dépistage des anticorps sériques dirigés contre les antigènes du liquide des kystes hydatiques ont été citées dans les documents consultés, notamment l'ELISA, l'HAI, l'agglutination au latex (AL) et l'immunoélectrophorèse (IEP) (4, 13, 15, 24, 27).

La sensibilité de ces différents tests sérologiques dépend de plusieurs facteurs. Ceux-ci pouvant être d'ordre technique comme la qualité de la préparation antigénique, ou inhérents au patient, tels que la variabilité interindividuelle de réponse immunologique ou le stade de développement des kystes, leur site, leur nombre etc. (4, 15, 21, 24, 25). Les tests qui semblent néanmoins être recommandés à l'heure actuelle au regard de leur sensibilité sont : l'ELISA et l'HAI (4, 11, 15, 21, 25-27).

L'IgG-ELISA qui présente des valeurs de sensibilité comprises entre 83 et 96 % selon les organes (4) est considéré comme l'un des tests les plus sensibles pour détecter les anticorps contre *E. granulosus* (4, 27).

L'hémagglutination indirecte (HAI), dont la sensibilité est comprise entre 57 et 90 % selon les organes (4), est moins spécifique et n'a de valeur qu'une fois associée à d'autres tests tels que l'ELISA ou l'IE (11, 25).

D'après les documents consultés, à l'heure actuelle, le meilleur diagnostic sérologique initial de l'EK semble reposer sur une **combinaison des tests EIA (ELISA) et HAI**. L'utilisation concomitante de ces deux techniques permettrait d'atteindre des taux de sensibilité diagnostique allant de 85 à 96 % (11, 25).

Confirmation

La spécificité des tests utilisés pour le dépistage initial de l'EK est limitée par les réactions croisées pouvant être causées par d'autres infections à cestodes (*E. multilocularis* et *Taenia solium*), par certaines helminthiases²⁵, par les tumeurs malignes, par la cirrhose du foie et par la présence d'anticorps anti-P1. Tous les documents consultés préconisent l'utilisation de tests de confirmation, nécessaires à l'exclusion de cette réactivité croisée au niveau des sérums positifs (4, 13, 15, 24, 26, 27).

La technique de confirmation recommandée par la majorité des auteurs est l'immunoempreinte (IE) (4, 13, 15, 21, 24-27).

En 2001, les experts du WHO-IWGE ont indiqué que l'IE, qui détectait la réactivité des anticorps avec les sous-unités antigéniques 38 kDa, 16 kDa et 12 kDa d'*E. granulosus*, présentait une spécificité très élevée (95 à 100 %) et permettrait d'exclure plusieurs parasitoses (autres helminthiases, cysticercoses, schistosomiase, onchocercose et sujets sains) (4).

Lors de la conférence de consensus de 2010, les experts du WHO-IWGE ont statué que l'IE qui révélait les deux sous-unités de l'antigène B de 8 et 12 kDa constituait le meilleur test pour le diagnostic différentiel (15).

Plus récemment, dans les articles publiés en 2015-2016, les auteurs recommandent également comme test secondaire de confirmation l'IE, utilisant des sous-unités d'Ag *E. granulosus* suscep-

²⁵ Maladies causées par les helminthes, vers parasites intestinaux.

tibles d'identifier les sous-classes d'IgG spécifiques (IgG1 et/ou IgG4), sans toutefois préciser la nature de ces sous-unités (21, 24-27).

Concernant le test d'IE actuellement commercialisé, il permettrait, selon les experts du CNR-E, d'identifier, pour chacune des deux espèces d'échinococcoses, des bandes spécifiques. Trois bandes de bas poids moléculaire (BPM) 7, 26 et 28 kDa sont communes à *E. granulosus* et *E. multilocularis*, deux bandes individualisées de 16 et 18 kDa spécifiques d'*E. multilocularis* et une bande de 17 kDa spécifique d'*E. granulosus* (5, 23).

Suivi

En 2001, les experts de l'OMS-IWGE ont indiqué que l'analyse des sous-classes d'IgG permettait de refléter les changements qualitatifs des paramètres sériques après chirurgie ou traitement médicamenteux (4). Néanmoins, il n'existe pas de résultats concluants ni de tests reproductibles qui pourraient être généralement recommandés.

Plus récemment, il a été rapporté que l'ELISA pourrait être approprié pour surveiller les progrès de la maladie, car les résultats semblent être corrélés à la taille des kystes hydatiques, déterminée par les méthodes d'imagerie conventionnelle (27).

Tests sérologiques obsolètes

À l'instar de l'EA, il a été rapporté dans une des revues générales sélectionnées et datant de 2017, que les techniques anciennes telles l'IELP ou l'ELS, trop peu sensibles, n'avaient actuellement plus d'intérêt et ont été remplacées par l'HAI, les tests ELISA et l'IE (19).

3.2 Analyse des données de pratique en France

Il s'agit du volume d'actes présentés au remboursement auprès de l'Assurance maladie.

Évolution du volume de réalisation de l'acte de recherche initiale (dépistage) entre 2012 et 2015

À noter que les données contenues dans les bases de remboursement ne permettent pas d'identifier la ou les techniques utilisées. Une progression de l'ordre de 12 % du volume d'actes réalisés pour le dépistage sérologique a néanmoins été observée entre 2012 et 2015 (cf. Figure 3). L'explication à cette augmentation pourrait être d'ordre épidémiologique, au regard de la progression du nombre d'actes de confirmation observée sur cette même période (cf. ci-dessous).

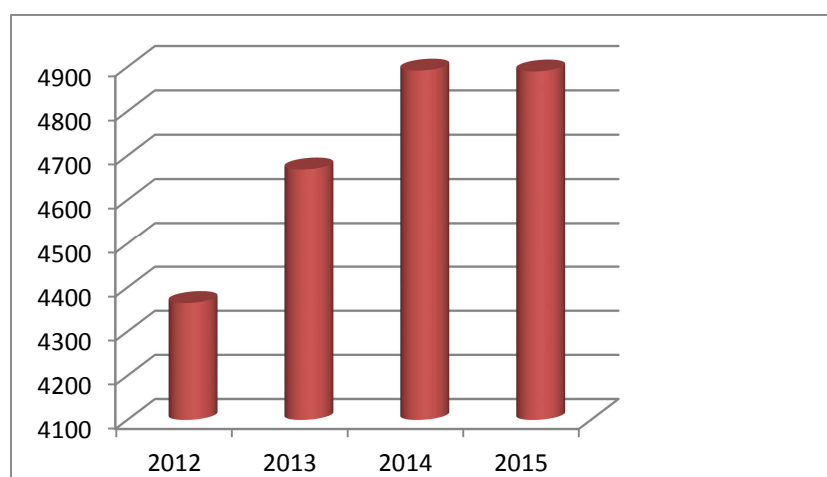


Figure 3. Évolution du volume des tests de recherche initiale (dépistage) réalisés entre 2012 et 2015

Évolution du volume des tests de confirmation réalisés entre 2012 et 2015

Les données fournies par le demandeur montrent, sur la période 2012-2015 (cf. Figure 4), une utilisation quasi-exclusive de la technique d'IE : immunoempreinte (*Western Blot*) comme technique de confirmation du diagnostic des échinococcoses, avec un volume d'actes qui a progressé de près de 42 % entre 2012 et 2015.

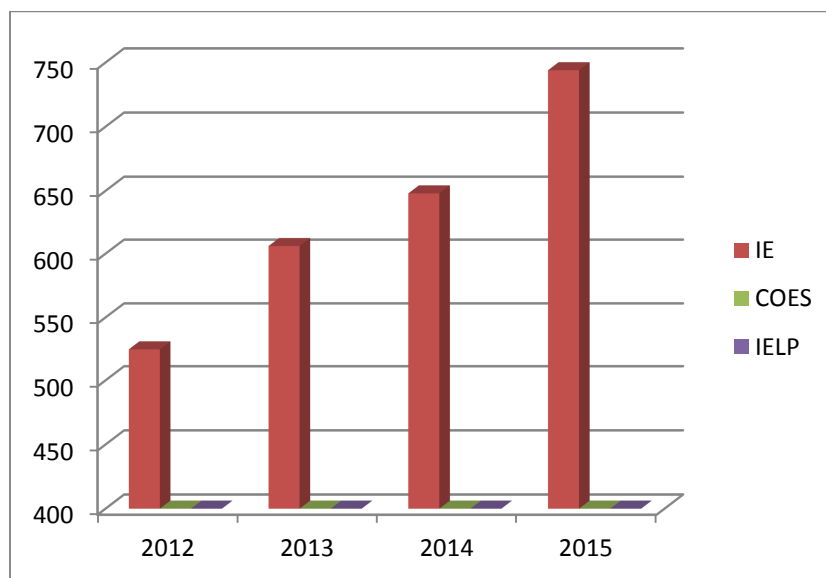


Figure 4. Nombre de tests de confirmation réalisés entre 2012 et 2015 par année et par type de technique

Synthèse des données de la littérature

La littérature identifiée et sélectionnée pour analyse est de très faible niveau de preuve.

Néanmoins, les données analysées sont convergentes avec la demande, notamment les techniques utilisées pour le dépistage et la confirmation du diagnostic.

Concernant la recherche initiale (pour EA et EK)

- les techniques sérologiques présentées comme les plus sensibles pour la recherche initiale (dépistage) de l'EA et de l'EK sont la technique immunoenzymatique (EIA/ELISA) et l'hémagglutination indirecte (HAI) ;
- la combinaison de deux tests EIA et HAI, pour la recherche des Ac sériques dans le cadre de la recherche initiale de l'EA et de l'EK, est préconisée dans la plupart des documents sélectionnés et analysés.

Concernant la confirmation (pour EA et EK)

Les documents analysés énoncent dans leur ensemble qu'une recherche initiale positive doit systématiquement être confirmée par immunoempreinte (IE/*Western Blot*) pour les deux échinococcoses EA et EK.

Concernant le suivi

Dans la nouvelle formulation de la nomenclature, il est indiqué que les tests à utiliser doivent être quantitatifs, mais les techniques ne sont pas précisées.

Si l'utilité de cet examen semble être discutée dans la littérature analysée, les techniques quantitatives qui sont néanmoins mentionnées sont les suivantes :

- pour l'EA : l'ELISA basé sur l'antigène recombinant Em18 serait plus utile pour le suivi des patients traités par albendazole au long cours car les anticorps anti-Em18 sont corrélés à l'activité et à la viabilité parasitaire ;
- pour l'EK : l'ELISA serait approprié pour surveiller les progrès de la maladie.

Concernant l'obsolescence des techniques

Plusieurs documents ont indiqué que l'immunoélectrophorèse (IELP), l'électrosynérèse (ELS) et la coélectrosynérèse (COES) sont trop peu sensibles et n'ont plus d'intérêts dans le diagnostic des deux échinococcoses EA et EK ; elles ont été remplacées par l'HAI, les tests ELISA et l'immunoempreinte.

Concernant les autres techniques proposées par le demandeur à la suppression, certaines ne sont quasiment pas ou très peu citées dans la littérature, il s'agit de :

- l'hémagglutination sensibilisée (HAGG) et immunodiffusion double (IDD) qui ne sont pas du tout citées dans les documents analysés ;
- l'immunofluorescence indirecte (IFI) qui a été citée uniquement dans deux documents.

Ces éléments sont en accord avec les nouvelles propositions de modification de la nomenclature.

Par ailleurs, l'analyse des **données de pratique en France** permet de conforter cette position, en particulier pour les tests de confirmation. Les chiffres montrent que, sur la période 2012-2015, l'IE a été utilisée de façon quasi-exclusive au dépend de la COES et de l'IELP dont les volumes enregistrés sont insignifiants.

En ce qui concerne les tests de recherche initiale (dépistage), les bases de remboursement ne permettent pas d'identifier les techniques utilisées.

3.3 Synthèse de la position des professionnels

Le CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière et le CNR échinococcoses ont été sollicités pour apporter leur position sur le diagnostic sérologique des échinococcoses larvaires. Une synthèse des principaux éléments de réponse apportés par ces deux organismes est présentée ci-dessous.

► Concernant l'examen de recherche initiale des anticorps sériques anti-*Echinococcus*

Le CNR échinococcoses a souhaité souligner en préambule l'ambiguïté relative au terme « dépistage », utilisé dans la NABM pour désigner l'examen de première intention. Ce terme, selon le CNR, devrait être réservé au dépistage des échinococcoses en population et il convient pour le diagnostic médical, d'utiliser le terme plus clair de « recherche initiale ».

Techniques utilisées actuellement pour la recherche initiale

Concernant les techniques sérologiques de recherche initiale des anticorps sériques anti-*Echinococcus*, les parties prenantes confirment que les techniques immunoenzymatique (EIA/ELISA) et d'hémagglutination indirecte (HAI) sont celles actuellement préconisées. Elles présentent une bonne sensibilité ou une bonne spécificité et leur utilisation combinée permet de dépister les différentes espèces d'échinocoques et d'augmenter la performance diagnostique.

L'HAI, technique semi-quantitative qui utilise un antigène hétérologue d'*E. granulosus*, permettrait, selon les parties prenantes, d'augmenter la sensibilité du diagnostic de dépistage en détectant les formes peu immunoréactives (en particulier les formes abortives d'EA) qui ne sont pas détectées par les techniques ELISA (quantitatives), en particulier lorsque les seuils fournisseurs sont strictement appliqués.

Les parties prenantes ont rappelé que des réactifs commerciaux basés sur ces deux techniques complémentaires étaient actuellement disponibles et standardisés.

La stratégie diagnostique adoptée actuellement par le CNR pour l'une et l'autre des deux échinococcoses est la suivante.

Pour l'échinococcose alvéolaire

En cas de suspicion d'EA sur les données d'imagerie, réaliser une recherche sérologique initiale avec une HAI utilisant un Ag d'*E. granulosus* et un ELISA utilisant un Ag d'*E. multilocularis* ; l'utilisation combinée de l'HAI et d'un ELISA avec un antigène *E. multilocularis* (ELISA Em2 PLUS ou L'ELISA Rec Em18) permet d'augmenter la sensibilité à 96 %.

Pour l'échinococcose kystique

Réaliser une recherche sérologique initiale avec l'HAI Ag *E. granulosus* et l'ELISA Ag *E. granulosus*.

La sensibilité de l'HAI pour l'EK est inférieure à celle de l'EA (80 % pour les localisations hépatiques, 50-60 % pour les localisations pulmonaires). La combinaison des deux techniques HAI et ELISA avec un Ag d'*E. granulosus* permet une augmentation de la sensibilité.

Autres techniques pouvant être utilisées pour la recherche initiale

En se référant au dernier consensus d'experts européen publié en 2010²⁶, le CNR-E considère que l'IE constitue également une technique très sensible pour la recherche initiale. Ce test, selon le

²⁶ WHO-*Informal Working Group on Echinococcosis*, Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop* 2010;114(1):1-16.

CNR-E est à réaliser si les données cliniques et radiologiques sont évocatrices et que les tests de dépistages habituels (HAI et ELISA) sont négatifs.

Techniques considérées comme obsolètes pour la recherche initiale

Les parties prenantes confirment que les autres techniques de recherche initiale, telles que l'IELP, l'ELS, la COES, l'HAGG, l'IFI et l'IDD-*Ouchterlony*, sont aujourd'hui des techniques obsolètes. Elles présentent des difficultés en termes de standardisation et de disponibilité de témoins positifs et d'antigènes et requièrent des temps techniques et des délais de rendu des résultats importants.

De plus, il n'existe pas de kits commercialisés ayant recours à ces techniques, alors que c'est le cas pour l'HAI, l'ELISA et l'IE. Leur utilisation imposerait aux laboratoires de fabriquer leurs propres antigènes et, à l'ère de l'accréditation en biologie médicale, ceci nécessiterait une plus lourde validation des méthodes selon la norme ISO 15189.

► En ce qui concerne l'examen de confirmation d'un résultat positif à la recherche initiale

Technique utilisée actuellement pour la confirmation du diagnostic

Les parties prenantes soulignent que les techniques de recherche initiale utilisant des Ag hétérologues offrent une bonne sensibilité, mais qu'une technique de confirmation est nécessaire pour attester de la spécificité du résultat. Des réactions croisées peuvent être causées par les syndromes dysimmunitaires, par d'autres helminthiases (fascioloses, cysticercose) et également entre EA et EK « réactivité croisée de genre ».

La positivité d'un test utilisant comme antigène une préparation à partir de l'autre espèce (par exemple, liquide hydatique d'*E. granulosus* pour un diagnostic d'EA), n'exclut non seulement pas le diagnostic, mais le rend extrêmement vraisemblable en raison de la communauté antigénique entre les différentes espèces d'*Echinococcus*.

Selon les parties prenantes, l'IE est très spécifique et permettrait un diagnostic différentiel entre EA et EK de l'ordre de 90 %.

Ainsi, pour les deux échinococcoses, les parties prenantes confirment bien la nécessité de réaliser l'IE dès que l'une des techniques utilisée pour la recherche initiale est positive.

L'IE est réalisée sur le même échantillon que la recherche initiale et il n'est pas nécessaire de réaliser un nouveau prélèvement.

Techniques considérées comme obsolètes pour la confirmation du diagnostic

Les parties prenantes confirment que l'IELP et la COES sont aujourd'hui des techniques obsolètes pour la confirmation du diagnostic des échinococcoses. La difficulté à produire des antigènes standardisés, le temps technique, les délais nécessaires pour le rendu des résultats, la sensibilité médiocre et enfin l'absence de kits commercialisés, sont les mêmes raisons que celles évoquées plus haut pour les tests de recherche initiale, et qui ont contribué à l'abandon de ces techniques.

Concernant la pertinence de maintenir l'examen de suivi chez les patients traités

Les parties prenantes ont été interrogées sur la pertinence de maintenir l'examen de suivi au regard du volume d'actes très peu significatif (41 actes pour 2015, cf. Tableau 1), issu des bases de remboursement de l'Assurance maladie.

Le CNR considère que le suivi sérologique est un élément essentiel de la prise en charge thérapeutique des échinococcoses alvéolaires. Il permet d'évaluer l'efficacité du traitement, d'ajuster les posologies d'albendazole et de surveiller l'apparition de récurrence. Le suivi sérologique est réalisé chez tous les patients une à deux fois par an.

Le CNR explique que le faible volume observé pour la cotation de l'acte de suivi est dû au fait que le suivi des patients nécessite le plus souvent la réalisation des deux techniques (ELISA et HAI). Dans ce contexte, c'est plutôt l'acte de recherche initiale qui est coté et pas celui du suivi.

► En ce qui concerne la technique à utiliser pour réaliser l'examen de suivi

Le CNR-E considère qu'il serait probablement utile de prévoir deux types d'examen de suivi avec reprise d'un sérum itératif, l'un avec uniquement une technique quantitative de détection des Ac spécifiques Eg ou Em, l'autre avec une cotation spécifique incluant la technique quantitative de détection des Ac spécifiques Eg ou Em, associée à l'HAI.

Selon le CNR, l'HAI présente un intérêt pour la détection précoce des récurrences. Sa négativation est un élément important d'aide à la décision d'arrêt de l'albendazole chez certains patients (immunodéprimés, faible réactivité contre les antigènes spécifiques d'*E. multilocularis*...). Un grand nombre de patients atteints d'EA est suivi également par HAI jusqu'à négativation.

Le CNR a précisé la stratégie de suivi pour les deux échinococcoses EA et EK, dans deux situations cliniques différentes.

Patients sans intervention radicale

Pour l'EA, le suivi est réalisé à l'aide d'une technique ELISA utilisant un antigène recombinant Em18 plus performant que l'antigène Em2plus pour évaluer la viabilité parasitaire et différencier entre les lésions actives, inactives ou abortives.

Pour l'EK, pour le suivi des cas n'ayant pas eu d'ablation radicale du/des kystes, il serait légitime d'utiliser un ELISA utilisant des antigènes spécifiques d'*E. granulosus* (AgB en particulier). Le CNR précise qu'il n'existe pas actuellement de kit commercial utilisant ces préparations antigéniques purifiées ou recombinantes. À défaut, le suivi est réalisé avec un ELISA *E. granulosus* standard.

Patients avec intervention radicale

Le CNR indique que dans sa pratique, la technique HAI est également utilisée pour le suivi, car l'utilisation d'un antigène hétérologue (commun à *E. granulosus* et à *E. multilocularis*) permet une détection plus précoce des récurrences, lorsque le kyste dans l'EK ou les lésions dans l'EA ont fait l'objet d'une ablation jugée « radicale » par le chirurgien.

En effet, les anticorps dirigés contre les antigènes « partagés » sont détectés les premiers, en particulier lors de récurrence chez les patients transplantés. Un suivi par HAI peut également rendre service chez les patients immunodéprimés qui n'expriment que des anticorps contre les antigènes « partagés ».

► Concernant la complexité et le manque de fiabilité du diagnostic sérologique de l'EK comparé à celui de l'EA

Les parties prenantes ont avancé comme principal problème de diagnostic sérologique d'EK, la négativité des tests de recherche, du fait de l'absence de production d'anticorps chez certains patients. Ceci s'explique par la présence de la source antigénique à l'intérieur du kyste ; elle se trouve ainsi isolée des cellules de la réponse immunitaire par une fibrose acellulaire. À l'opposé, dans le cas de l'EA, la croissance larvaire s'accompagne d'une importante réaction immunitaire de l'hôte, sous forme de granulome périparasitaire.

Le taux de faux négatifs est ainsi plus élevé pour l'EK que pour l'EA (15-20 % pour les kystes hépatiques et 30 % environ pour les kystes pulmonaires isolés).

De plus, selon le CNR-E, il existe des modifications de représentation des protéines antigéniques, en fonction de la localisation des kystes et de leur évolution dans le temps. Ce qui expliquerait pourquoi la sensibilité du diagnostic sérologique de l'EK est très liée aux patients testés :

- les kystes les moins immunoréactifs sont : les kystes de stade²⁷ CE1 (très jeune), stades CE4 et CE5 (kystes en voie d'involution), ainsi que les kystes uniques, les lésions de petite taille et les lésions extra-hépatiques ;
- les plus immunoréactifs sont : les kystes compliqués, en particulier ceux avec fissure/rupture et ceux en communication avec les voies biliaires.

► Concernant l'augmentation du volume d'actes de diagnostic des échinococcoses

Les parties prenantes ont été sollicitées pour apporter des éléments d'explication à la progression, observée entre 2012 et 2015, du volume d'actes réalisés pour la recherche initiale et la confirmation du diagnostic, respectivement de 12 % et de 42 %.

Le CNR rapporte qu'une augmentation du nombre de cas d'EA a en effet été enregistrée dans les dix dernières années (moyenne de 15,6 cas incidents/an dans la période 1997-2006, moyenne de 31,2 cas incidents/an dans la période 2007-2016), avec de plus en plus de cas diagnostiqués en dehors de la zone d'endémie historique (Franche Comté, Lorraine, Massif Central). Cette hausse semble liée à l'augmentation des populations de renards infectés et à leur extension géographique. D'autre part, selon le CNR, il est probable que la nomination du CNR échinococcoses en 2012 ait amélioré l'information sur la maladie et ait abouti à une meilleure connaissance de la maladie par les médecins en dehors de la zone d'endémie historique, avec un recours à la prescription plus fréquente de la sérologie échinococcoses.

De plus, le CNR échinococcoses rapporte qu'un nombre de plus en plus important de cas diagnostiqués à un stade asymptomatique (60 % dans la période 2009-2015) a été enregistré. Le CNR explique cette augmentation par un plus grand recours aux actes d'imagerie médicale dans les activités de soins courants (médecine de ville et activité hospitalière), ce qui permet de détecter les lésions hépatiques pouvant évoquer une échinococcose chez un nombre croissant d'individus et entraîne par ailleurs la réalisation d'un plus grand nombre de sérologie échinococcoses à l'échelle nationale.

Le CNR souligne également l'émergence de cas d'EA chez les patients traités pour cancer, hémopathie maligne ou maladies inflammatoires chroniques. Les lésions d'EA souvent asymptomatiques sont découvertes lors du suivi des patients pour leur maladie initiale (et sont souvent confondues avec des métastases ou localisations de cette maladie). Ces patients posent problème car la séropositivité en Em2PLUS est moins fréquente et le profil sérologique (en particulier en IE) est plus difficilement interprétable ; pour ces cas particuliers, le recours au CNR peut apporter l'expertise nécessaire.

Le CNP-BAIHH cite également comme cause possible à cette progression, les cas d'EA de découverte fortuite par le biais de bilans systématiques d'hyperéosinophilie et la possible augmentation des cas d'EK lié à l'afflux de migrants.

²⁷ Selon la classification échographique de l'OMS.

Conclusion

Les échinococcoses sont des zoonoses causées par des larves de ténias du genre *Echinococcus*. Les deux espèces les plus fréquentes chez l'homme sont *E. multilocularis* et *E. granulosus*, responsables respectivement de l'échinococcose alvéolaire (EA) et de l'échinococcose kystique (EK). Depuis 2012, une nette augmentation des cas diagnostiqués a été observée (42 % de diagnostics confirmés entre 2012 et 2015). Celle-ci est à mettre en lien notamment, avec l'augmentation des populations de renards infectés et leur extension géographique, la meilleure connaissance de la maladie et la détection plus précoce des lésions hépatiques du fait du plus grand recours aux actes d'imagerie médicale dans les activités de soins courants.

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 en parasitologie et en mycologie ; parmi ces actes figure la recherche des anticorps sériques anti-*Echinococcus* qui fait l'objet du présent argumentaire.

Le demandeur propose de modifier la NABM en supprimant les techniques estimées, selon lui, aujourd'hui « obsolètes » et d'introduire une nouvelle technique.

Pour la **recherche initiale** (dépistage), il s'agit de supprimer les techniques d'ELS (électrosynérèse), d'HAGG (hémagglutination sensibilisée), d'IDD (immunodiffusion double) et d'IFI (immunofluorescence), de garder la technique immuno-enzymatique (EIA/ELISA) et d'introduire la technique d'HAI (hémagglutination indirecte).

Pour la **confirmation** du diagnostic initial, il est proposé de supprimer les techniques de coélectrosynérèse (COES) et d'immunoélectrophorèse (IELP) pour ne garder que la technique d'immunoempreinte (IE, *Western-blot*).

Pour le **suivi** des patients traités, la modification du libellé consiste à préciser que la technique à utiliser devra être quantitative.

L'objectif de ce travail était de préciser les techniques actuellement validées pour la recherche des Ac sériques anti-*Echinococcus*, aussi bien pour la recherche initiale que pour la confirmation et le suivi des patients traités.

Les données recueillies sont composées de la littérature synthétique identifiée, essentiellement constituée de revues générales, donc de très faible niveau de preuve, et de la position des professionnels interrogés (Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière et Centre national de référence des échinococcoses).

Sur cette base, la HAS conclut :

1- Concernant la recherche initiale : il est indiqué de réaliser simultanément deux techniques : l'ELISA (EIA) et l'HAI. Les autres techniques : IFI, ELS, IDD et HAGG, ne sont plus à utiliser.

2- Concernant la confirmation : elle est réalisée par IE (*Western-blot*) en cas de résultats positifs de l'ELISA/EIA et/ou de l'HAI. Les autres techniques, COES et IELP ne sont plus à utiliser.

À noter qu'en cas de résultats négatifs à l'ELISA/EIA et à l'HAI, mais devant des données cliniques et radiologiques très évocatrices d'une échinococcose, le recours à l'IE est possible, notamment pour l'EK de diagnostic plus difficile.

L'IE est réalisée sur le même échantillon que la recherche initiale et il n'est pas nécessaire de réaliser un nouveau prélèvement.

3- Concernant le suivi des patients traités : il est réalisé par une technique EIA, associée ou non à une technique HAI en fonction des patients et des traitements. Ce suivi comporte un examen itératif du sérum ayant servi à la recherche initiale.

Le suivi est réalisé une à deux fois par an.

Au final, les éléments recueillis au cours de cette évaluation sont convergents avec la modification de la nomenclature proposée par le demandeur ; elle apparaît en conséquence pertinente et appropriée.

Annexe 1. Recherche documentaire

Bases de données bibliographiques

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

Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française. Le Tableau 7 présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données *Medline*. Des références doublons peuvent être présentes entre les différents types d'études.

Le nombre total de références obtenues par la recherche dans les bases de données bibliographiques est 201.

Tableau 7. Stratégie de recherche dans la base de données *Medline*

Type d'étude/sujet Termes utilisés		Période de recherche	Nombre de références
Diagnostic de l'échinococcose			
Recommandations		01/2009 - 08/02/2017	4
Etape 1	(Diagnosis[tiab] OR "Echinococcosis/diagnosis"[Mesh] OR "Diagnosis"[Mesh] OR "Serologic Tests"[Mesh] OR "Serology"[Mesh] OR "Polymerase Chain Reaction"[Mesh] OR "Molecular Diagnostic Techniques"[Mesh] OR serologic[tiab] OR diagnostic*[tiab] OR immunodiagnosis[tiab] OR serological[tiab]) AND (echinococcosis[tiab] OR echinococcus[tiab] OR "Echinococcosis"[Mesh] OR Hydatidosis[tiab])		
OU			
Etape 2	("Echinococcus/cytology"[Mesh] OR "Echinococcus/diagnosis"[Mesh] OR "Echinococcus/enzymology"[Mesh] OR "Echinococcus/immunology"[Mesh] OR "Echinococcus/microbiology"[Mesh] OR "Echinococcus/parasitology"[Mesh])		
ET			
Etape 3	Guidelines as Topic/de OR Practice Guidelines as Topic/de OR Health Planning Guidelines/de OR Guideline/type OR "Standard of Care"/de OR "Consensus"/de OR "Consensus Development Conferences as Topic"/de OR "Consensus Development Conferences, NIH as Topic"/de OR "Consensus Development Conference, NIH" /type OR "Consensus Development Conference" /type OR (consensus OR guideline* OR recommend* OR standard)/ti		
Revue systématique de la littérature et méta-analyses		01/2007 - 08/02/2017	12
Etape 1 OU 2			
ET			
Etape 4	(metaanalys* OR meta-analys* OR meta analysis OR systematic review* OR systematic overview* OR systematic literature review* OR systematical review* OR systematical overview* OR systematical literature review* OR systematic literature search)/ti OR meta-analysis/type OR cochrane database systrev/journal		

Type d'étude/sujet Termes utilisés		Période de recherche	Nombre de références
Revue de la littérature		01/2007 - 08/02/2017	185
Etape 1 OU 2			
ET			
Etape 5	("Review Literature as Topic"/de OR Review of the literature/ti)		

Sites consultés

Sont recherchés ici les revues systématiques, les méta-analyses, les rapports d'évaluation des technologies de santé ou les recommandations de bonne pratique publiées par différents organismes (agence d'évaluation, société savante, Ministère de la Santé, ...).

Les sites Internet internationaux des sociétés pertinentes cités ci-dessous ont été explorés en complément des sources interrogées systématiquement :

- Académie nationale de médecine
- Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)
- Association française des enseignants de parasitologie et de mycologie
- Association française d'urologie (AFU)
- Assurance maladie
- Banque de données en santé publique (BDSP)
- Catalogue et index des sites médicaux de langue française (Cismef)
- Centre fédéral d'expertise des soins de santé (KCE)
- Comité d'évaluation et de diffusion des innovations technologiques (CEDIT)
- Direction de la recherche, des études, de l'évaluation et des statistiques (DREES)
- Documentation française
- Encyclopédie médico-chirurgicale (EMC)
- Expertise collective de l'INSERM (INSERM)
- Haute Autorité de santé (HAS)
- Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (INPES)
- Institut national de veille sanitaire (INVS)
- Ministère de la santé
- Société française de biologie clinique
- Société française de parasitologie
- Société québécoise de biologie clinique
- Société de pathologie exotique
- Société de pathologie infectieuse de langue française
- Société scientifique de médecine générale belge (SSMG)
- Vidal recos
- Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (INESSS)
- Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ)
- American Association for Clinical Chemistry
- American Board of Clinical Chemistry
- Asian and Pacific Federation of Clinical Biochemistry
- Asia-Pacific Society of Clinical Microbiology and Infection
- Association for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine
- Association of Medical Microbiology and Infectious Disease
- American Society for Microbiology

- *American Society of Parasitologists*
- *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*
- *American Urological Association*
- *Australasian Association of Clinical Biochemists*
- *Australasian College of Tropical Medicine*
- *Australian Medical Services Advisory Committee (MSAC)*
- *Australasian Society for Infectious Diseases*
- *Australian Society for Parasitology*
- *BMJ Clinical Evidence*
- *The British Association of Urological Surgeons*
- *British Columbia Ministry of Health (Alberta Innovates Health Solutions)*
- *British Infection Association*
- *British Society for Parasitology*
- *Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH)*
- *Canadian Academy of Clinical Biochemistry*
- *Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases*
- *Canadian Foundation for Infectious Diseases*
- *Canadian Society for Medical Laboratory Science*
- *Canadian Society of Clinical Chemists*
- *Canadian Society of Microbiologists*
- *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*
- *Clinical and Laboratory Standards Institute*
- *The Cochrane Library*
- *European Association of Urology (EAU)*
- *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*
- *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*
- *Federation of European Microbiological Societies*
- *Infectious Diseases Society of America*
- *International Federation for Tropical Medicine*
- *International Society for Infectious Diseases*
- *Ministry of Health New Zealand*
- *National Academy of Clinical Biochemistry*
- *National Electronic Library on Infection*
- *National Guideline Clearinghouse*
- *National Health Services (NHS)*
- *National Health Services Scotland (NHS Scotland)*
- *National Horizon Scanning Centre (NIHR)*
- *National Institute of Allergy and Infectious Diseases*
- *National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE)*
- *National Institute for Health Research Horizon Scanning Centre (NIHR HSC)*
- *National Institutes of Health (NIH)*
- *New Zealand Guidelines group*
- *NHS Evidence*
- *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*
- *Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN)*
- *Singapore Ministry of Health*
- *TripDatabase*
- *US Preventive Services Task Force*
- *World Health Organization*

Annexe 2. Analyse des documents citant les tests sérologiques préconisés pour la détection et/ou la confirmation des échinococcoses larvaires

Tableau 8. Principales conclusions et préconisations portant sur les tests diagnostiques des échinococcoses larvaires émises par les auteurs

Auteurs, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
Centers for Disease Control and Prevention, 2013 (11)	I-Échinococcose kystique (<i>Echinococcus granulosus</i>) L'hémagglutination indirecte (HAI), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'immunodosage enzymatique (EIA) sont des tests capables de détecter les anticorps dans le sérum de patients atteints d'échinococcose kystique, avec un taux de sensibilité qui varie de 60 % à 90 %, selon les cas. L'antigène utilisé est en général issu du liquide du kyste hydatique. À l'heure actuelle, le meilleur diagnostic sérologique disponible est obtenu en utilisant la combinaison des tests EIA ou HAI. Le diagnostic est confirmé par IE ou toute technique de diffusion sur gel qui permet de mettre en évidence « l'arc 5 ». II-Échinococcose alvéolaire (<i>Echinococcus multilocularis</i>) La plupart des patients atteints d'EA ont des anticorps détectables par les tests sérologiques utilisant <i>E. granulosus</i> hétérologue ou des antigènes homologues d'<i>E. multilocularis</i>. L'antigène purifié Em2 d'<i>E. multilocularis</i> utilisé en ELISA permet de détecter plus de 95 % des cas d'échinococcose alvéolaire. La comparaison de la réactivité sérologique à l'antigène Em2 à celle des composants contenant des antigènes d'<i>E. multilocularis</i> et d'<i>E. granulosus</i> permet de discriminer les patients atteints d'échinococcose alvéolaire de ceux atteints de maladie kystique. La combinaison de deux antigènes purifiés d'<i>E. multilocularis</i> (Em2 et de l'antigène recombinant II/3-10) dans un seul dosage immunologique permet d'optimiser la sensibilité et la spécificité.	Fiche technique publiée par les Centers for Disease Control and Prevention (EU)
Vuitton <i>et al.</i> , 2010 (18)	Échinococcose alvéolaire (<i>Echinococcus multilocularis</i>) La majorité des tests sérologiques d'échinococcoses ne sont pas spécifiques et ne peuvent différencier l'EA de l'EK. Le diagnostic différentiel s'appuie en général plus sur la morphologie des lésions que sur la sérologie. Des techniques immunoenzymatiques, utilisant certains antigènes spécifiques de chaque espèce, sont néanmoins capables de différencier entre les deux espèces, deux fois sur trois. Pour l'EA, il s'agit de de l'antigène Em2. Il est commercialisé sous une forme associant Em2 à un antigène recombinant, « Em2 + » et le <i>Western Blot</i>, qui met en évidence la bande spécifique Em18. Les techniques anciennement décrites d'immunoélectrophorèse ou électrosynérèse, trop peu sensibles, n'ont plus d'intérêt. L'hémagglutination indirecte utilisant un antigène d'<i>E. granulosus</i>, très sensible si on fixe la positivité à 1/80, mais très peu spécifique, peut rester un test d'orientation qui doit être complété par l'ELISA ou le <i>Western Blot</i>.	Revue générale. Publication du CNR-EA, centre collaborateur de l'OMS pour la prévention et le traitement des échinococcoses, Université de Franche-Comté et CHU de Besançon ; Besançon, France

Auteurs, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
Grenouillet <i>et al.</i> , 2013 (23)	Échinococcose alvéolaire (<i>Echinococcus multilocularis</i>) Le diagnostic sérologique de l'EA confirme le diagnostic dans 95 % des cas. Il associe des tests de dépistage (très sensibles), suivis d'un test de confirmation (spécifique). Le dépistage repose en général sur l'hémagglutination indirecte (HAI) et l'ELISA. L'ELISA Em2-plus est la seule technique de dépistage pour le diagnostic de l'EA actuellement commercialisée ; elle est basée sur un antigène d'<i>E. multilocularis</i>. L'Em2-plus associe l'antigène polysaccharidique Em2 (extrait de métacestodes d'<i>E. multilocularis</i>) et l'antigène recombinant Em18 (antigène protéique voisin des antigènes Em11/3-10 et Em10) sécrété par la membrane germinative et les protoscolex. Les anticorps anti-Em18 sont corrélés à l'activité et à la viabilité parasitaire, et apparaissent intéressants pour le suivi des patients traités par albendazole au long cours. Les ELISAs basés sur des antigènes hétérologues (fluide hydatique, <i>E. granulosus</i>) permettent également la détection des cas d'EA, mais sont sans intérêt réel pour le suivi des patients (disparition lente des anticorps). La confirmation repose sur l'immunoempreinte ou <i>Western Blot</i> qui utilise un antigène total d'<i>E. multilocularis</i> (broyats de lésions). Les bandes 7, 26 et 28 kDa sont observées dans l'EA et dans l'EK. Les deux bandes individualisées de 16 et 18 kDa sont spécifiques d'<i>E. multilocularis</i>, la bande en 17 kDa (autrefois nommée « ombre 16-18 ») signe plutôt une infection à <i>E. granulosus</i>. Le <i>Western Blot</i> n'est pas utilisé pour le suivi des patients, même si le nombre et l'intensité des bandes tendent à diminuer chez les patients atteints d'EA, opérés et/ou traités par albendazole.	Revue générale. Publications par l'équipe du CNR ²⁸
Bresson-Hadni <i>et al.</i> , 2014 (5)	Échinococcose alvéolaire (<i>Echinococcus multilocularis</i>) Le diagnostic sérologique d'EA se fait en deux étapes : Diagnostic initial (dépistage) qui utilise des tests très sensibles, ceux généralement utilisées sont : l'hémagglutination indirecte (HAI) et l'ELISA (EIA). L'HAI utilise des globules rouges sensibilisés par un mélange d'antigènes d'<i>E. granulosus</i> (liquide hydatique). L'ELISA utilise l'Em2+ qui associe l'antigène polysaccharidique Em2 (extrait de métacestodes d'<i>E. multilocularis</i>) et l'antigène recombinant Em18, antigène protéique voisin des antigènes Em11/3-10 et Em10, sécrété par la membrane germinative et les protoscolex. Les ELISAs basés sur des antigènes hétérologues (fluide hydatique, <i>E. granulosus</i>) peuvent également contribuer à la détection des cas d'EA. La confirmation repose sur l'immunoempreinte ou <i>Western Blot</i> utilisant un antigène total (broyats de lésions) d'<i>E. multilocularis</i>. Les ELISAs basés sur l'antigène recombinant Em18 sont surtout utiles pour le suivi des patients non opérables, traités par albendazole au long cours ; les anticorps anti-Em18 sont corrélés à l'activité et à la viabilité parasitaire.	Revue générale. Publications par l'équipe du CNR ²⁸

²⁸ Centre national de référence-échinococcoses et centre collaborateur OMS pour la prévention et le traitement des échinococcoses, centre hospitalier régional universitaire, boulevard Fleming, 25030 Besançon cedex, France.

Auteurs, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
Centre national de référence échinococcose-alvéolaire, 2015 (29)	Échinococcose alvéolaire (<i>Echinococcus multilocularis</i>) Le dépistage doit inclure deux techniques HAI et ELISA. La confirmation des résultats positifs au dépistage doit être réalisée par IE.	Rapport d'activité.
Schwarz <i>et al.</i> , 2017 (19)	Une gamme de tests peu sensibles et très peu spécifiques a été remplacée par l'HAI, les tests ELISA et l'immunoempreinte. Le dépistage sérologique, basé sur des antigènes bruts d'<i>E. granulosus</i> ou d'<i>E. multilocularis</i>, peut conduire à des réactions non spécifiques en raison d'une forte homologie génétique entre les Ag <i>E. multilocularis</i> et <i>E. granulosus</i>. Après dépistage initial des EK dans les zones endémiques par l'utilisation d'antigènes bruts (liquide de kyste hydatique), un test ultérieur de confirmation avec des Ag spécifiques d'<i>E. granulosus</i> (par exemple l'antigène B) est nécessaire. Pour le diagnostic de l'EA dans les zones endémiques, le dépistage primaire, ainsi que la confirmation, doivent être effectués avec les Ag EM2, Em2plus, EM10, Em18 ou Em18-ELISA ou Em-18 immunoempreinte. Dans les zones où les deux échinococcoses EA ET EK sont endémiques, une combinaison de tests de dépistage très sensibles spécifiques du genre des tests de confirmation spécifiques de l'espèce (par exemple, <i>Echinococcus</i> IgG Western Blot) doit être utilisée. La neurocysticercose doit être exclue par ELISA ou immunoempreinte spécifique.	Revue générale.
Manzano-Roman <i>et al.</i> , 2015 (21)	Échinococcose kystique (<i>Echinococcus granulosus</i>) Le fluide du kyste hydatique (FKH) est la principale composante antigénique dans la majorité des tests sérologiques commerciaux ou « maison ». Ce mélange d'antigènes est utilisé dans plusieurs techniques telles que l'ELISA, l'hémagglutination indirect et l'immunoempreinte. L'ELISA et l'HAI sont généralement les tests de première ligne pour les patients porteurs d'EK, tandis que l'IE est utilisée comme test de confirmation.	Revue générale.

Auteurs, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
Agudelo Higueta <i>et al.</i> , 2016 (24)	Échinococcose kystique (<i>Echinococcus granulosus</i>) Les méthodes de diagnostic initial (dépistage primaire) sont l'ELISA, l'HAI, l'agglutination au latex (AL), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'immunoélectrophorèse (IEP). Ces méthodes ont divers niveaux de sensibilité et une spécificité quelque peu médiocre, en particulier chez les patients souffrant d'autres infections helminthiques. Le matériel antigénique utilisé par ces différents tests provient soit de préparation brute, soit de préparation purifiée, issues de kystes hydatiques du foie animal. Plusieurs facteurs peuvent influencer la sensibilité des tests, il peut s'agir de problèmes techniques, tels que la qualité de la préparation antigénique ou de facteurs inhérents au sujet, tels que son état immunitaire et le stade de développement des kystes. Une réactivité croisée significative est observée avec d'autres infections parasitaires, telles que l'échinococcose alvéolaire, la cysticercose, la fasciolose et la filariose et d'autres affections non parasitaires, comme la malignité. Les méthodes recommandées pour le test secondaire sont l'IE (utilisant des sous-unités d'Ag <i>E. granulosus</i> pour identifier des sous-classes d'IgG spécifiques (IgG1 et/ou IgG4)) et l'essai de précipitation à l'arc 5 (immunoélectrophorèse).	Revue générale.
Mihmanli <i>et al.</i> , 2016 (25)	Échinococcose kystique (<i>Echinococcus granulosus</i>) L'hémagglutination indirecte (HAI) est un test non spécifique et n'a de valeur qu'une fois associé à d'autres tests, tels que le dosage ELISA et l'IE. L'utilisation concomitante d'HAI et d'ELISA est associée à des taux de sensibilité diagnostique allant de 85 % à 96 %. L'IE est généralement utilisée pour confirmer le diagnostic dans les cas où les résultats d'HAI et d'ELISA ne sont pas définitifs. La sensibilité des tests sérologiques tend à varier en fonction du site, du stade de développement et de la taille des kystes. Les méthodes immunologiques montrent souvent une réactivité croisée avec d'autres antigènes parasites ou avec des maladies non parasitaires, telles que la malignité ou la cirrhose du foie. Pour le diagnostic immunologique, les antigènes B et 5 (Ag5) d'<i>E. granulosus</i> sont les plus spécifiques.	Revue générale.
Pakala <i>et al.</i> , 2016 (26)	Échinococcose kystique (<i>Echinococcus granulosus</i>) Chez l'homme, une infection par <i>Echinococcus</i> induit une réponse immunologique avec production d'anticorps, le plus souvent des IgG (principalement IgG1 et IgG4), suivis par des IgM, IgA et IgE. Un certain nombre de tests de détection pour les anticorps IgG, IgM et IgE contre les antigènes hydatiques a été décrit. Les tests de détection d'anticorps actuellement disponibles comprennent l'immunoélectrophorèse, l'ELISA et l'IE, qui utilisent des anticorps natifs et recombinants et une fraction de fluide hydatique. L'IE a la plus forte sensibilité (80 %), suivies par l'ELISA (72 %) et enfin l'immunoélectrophorèse (31 %). Chez les patients séropositifs et ayant des résultats d'imagerie positifs, un test secondaire est effectué ; il s'agit soit d'un test Arc 5, d'un IgG4-ELISA, soit d'un immunoblot. Ces tests secondaires sont utilisés pour exclure les réactivités croisées chez les faux positifs.	Revue générale.

Auteurs, année, (réf)	Recommandations des auteurs	Commentaires
Kahlfuß <i>et al.</i> , 2016 (27)	Échinococcose kystique (<i>Echinococcus granulosus</i>) L'ELISA est parmi les tests de dépistage qui présentent une sensibilité élevée pour détecter les anticorps contre <i>E. granulosus</i>. Les autres méthodes sont l'HAI et l'AL. La sensibilité de ces tests de dépistage est relativement élevée, mais varie selon l'organe affecté. L'ELISA est également approprié pour surveiller les progrès de la maladie, car les résultats semblent être en corrélation avec la taille des kystes hydatiques définie par les méthodes d'imagerie conventionnelles. Il est important de noter qu'en raison de la faible spécificité des tests de dépistage d'anticorps qui peuvent être faussement positifs chez des patients atteints de cirrhose du foie ou de tumeurs malignes, des analyses de confirmation doivent être effectuées par IE.	Revue générale.
Siles-Lucas <i>et al.</i> , 2017 (28)	Échinococcoses alvéolaire et kystique Le test le plus fréquemment utilisé pour la détection d'IgG dans le sérum de patients avec EA et EK, est l'EgHF-ELISA. Il présente une sensibilité acceptable. Les systèmes combinés Em2 et Em18-ELISA, par exemple, représentés par l'Em2plus-ELISA commercial, montrent une sensibilité et une spécificité satisfaisantes pour la détection d'IgG dans le sérum des patients avec EA. Em18-ELISA IgG est adapté pour surveiller l'efficacité du traitement chez les patients souffrant d'EA. La confirmation par analyse immunoblot du sérodiagnostic d'EA et d'EK, basés sur ELISA, est essentielle.	Revue générale.
Association française des enseignants de parasitologie et mycologie, 2016 (13)	I-Échinococcose kystique (<i>Echinococcus granulosus</i>) Le diagnostic immunologique repose sur la recherche d'anticorps spécifiques par des techniques quantitatives (immunofluorescence indirecte, ELISA, hémagglutination) et qualitatives (coélectrosynérèse, immunoélectrophorèse [arc 5], immunoempreinte ou <i>Western Blot</i>). L'interprétation des résultats sérologiques doit rester prudente. Un résultat négatif ne permet jamais d'exclure une hydatidose. Un résultat positif peut résulter d'une réaction croisée avec d'autres cestodoses larvaires. C'est la raison pour laquelle il est recommandé d'employer des techniques de confirmation comme l'IE (<i>Western Blot</i>). II-Échinococcose alvéolaire (<i>Echinococcus multilocularis</i>) Les techniques sérologiques permettent de confirmer le diagnostic d'échinococcose alvéolaire dans 95 % des cas. Le diagnostic sérologique comprend une étape de dépistage par deux techniques très sensibles (hémagglutination indirecte et ELISA), suivie d'une étape de confirmation par <i>Western Blot</i>. Le <i>Western Blot</i> permet la visualisation de bandes spécifiques d'<i>E. multilocularis</i>.	Document pédagogique publié par l'Association française des enseignants de parasitologie et mycologie (ANOFEL).

Annexe 3. Réponses *in extenso* des parties prenantes

Réponses du CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNP-BAIHH) au questionnaire relatif à la consultation à distance

CONTENU D'ÉVALUATION

En ce qui concerne le premier examen (recherche initiale, dépistage) de recherche des anticorps sériques anti-Echinococcus :

C1

Votre organisme considère-t-il que le test immunoenzymatique (EIA/ELISA) et l'hémagglutination indirecte (HAI) sont les deux techniques sérologiques à utiliser actuellement pour la recherche initiale (dépistage) des deux échinococcoses, alvéolaire (EA) et kystique (EK) ? Sur quels arguments ?

Réponse argumentée :

Oui, ces deux techniques ont une bonne sensibilité et spécificité, avec un gain lorsqu'on les combine. L'intérêt est de dépister les différentes espèces d'échinocoques.

C2

Pour le dépistage de l'EA, la littérature récente analysée reconnaît que :

- si les deux techniques de dépistage utilisent un antigène d'*E. granulosus* hétérologue, alors il convient de combiner l'ELISA et l'HAI pour le dépistage initial ;
- si la technique ELISA utilise un mélange de deux antigènes spécifiques, alors seule la technique ELISA peut être utilisée.

Quelle est la position de votre organisme par rapport à cette démarche diagnostique ?

Réponse argumentée :

En théorie oui, mais il est possible de passer à côté d'espèces plus rares (autres que *E. granulosus* et *E. multilocularis*), qui peuvent donner des réactions sérologiques atypiques et des signes cliniques intermédiaires entre les deux tableaux d'EA et EK. Le couplage des deux techniques apporte une sécurité en standardisant la démarche diagnostique des échinococcoses.

C3

Pour le dépistage de l'EK, la littérature récente analysée reconnaît que les deux techniques ELISA et HAI doivent être associées.

Quelle est la position de votre organisme par rapport à cette démarche diagnostique ?

Réponse argumentée :

Oui, il y a un gain en sensibilité, lié au faible taux d'anticorps circulants en raison de l'isolement du kyste au sein des tissus.

C4

Votre organisme peut-il confirmer que l'immunoélectrophorèse (IELP), l'électrosynérèse (ELS), la coélectrosynérèse (COES), l'hémagglutination sensibilisée (HAGG), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'immunodiffusion double (IDD-Ouchterlony), sont aujourd'hui des techniques obsolètes et qu'elles ne sont plus réalisées pour le dépistage initial des échinococcoses, comme l'indique la littérature analysée ?

Réponse argumentée :

Oui, l'utilisation de ces techniques est devenue anecdotique pour plusieurs raisons : délai de résultat, problème de standardisation et de disponibilité de témoins positifs et d'antigènes, temps technique, reproductibilité, etc.

Selon la littérature récente analysée, le diagnostic sérologique de l'EK semble plus complexe et moins fiable que celui de l'EA.

Votre organisme peut-il apporter des éléments d'explication à cette affirmation ?

C5

Réponse argumentée :

Oui car le parasite est bien isolé du système immunitaire (cf. ci-dessus), sauf en cas de fissuration. Une sérologie douteuse ne peut éliminer formellement le diagnostic. D'où l'intérêt de combiner les techniques.

En ce qui concerne l'examen de confirmation d'un résultat positif de l'examen précédent :

La littérature récente analysée reconnaît la nécessité de confirmer la positivité de la recherche initiale (au moins un des deux tests positif) par un nouvel examen, aussi bien pour l'EA que pour l'EK.

Quelle est la position de votre organisme par rapport à cette affirmation ?

C6

Réponse argumentée :

Question probablement mal posée, pas de prélèvement supplémentaire nécessaire pour poser le diagnostic, mais une technique de confirmation est nécessaire pour attester de la spécificité du résultat de dépistage (des syndromes dysimmunitaires peuvent en effet positiver l'ELISA), et bien sûr pour distinguer EA et EK.

La littérature analysée reconnaît l'immunoempreinte (IE) (Western blot) comme technique actuelle valide pour l'examen de confirmation des deux échinococcoses EA et EK.

C7

Quelle est la position de votre organisme sur la technique à utiliser pour réaliser cet examen de confirmation ?

Réponse argumentée :

Oui, l'IE est la méthode de choix, elle distingue les deux espèces en seul test.

Votre organisme peut-il confirmer que l'immunoélectrophorèse (IELP) et la coélectrosynérèse (COES) sont aujourd'hui des techniques obsolètes et qu'elles ne sont plus réalisées pour la confirmation du diagnostic des échinococcoses ?

C8

Réponse argumentée :

Oui, très rarement fait actuellement. Problème de délai, temps technique, disponibilité et standardisation des antigènes (cf. C4).

En ce qui concerne l'examen de suivi :

Dans la proposition de modification de la NABM, il est indiqué que les tests à utiliser pour le suivi des patients traités doivent être quantitatifs mais les techniques à utiliser ne sont pas précisées.

La littérature analysée mentionne le recours à la technique ELISA, pour l'EA comme pour l'EK.

C9

Quelle est la position de votre organisme sur la technique à utiliser pour réaliser l'examen de suivi ?

Réponse argumentée :

Utile pour le suivi clinique et l'ajustement thérapeutique de l'EA. Des essais sont en cours avec un kit ELISA permettant de détecter des anticorps liés à l'évolutivité de l'infection (em18). En ce qui concerne l'EK, une sérologie de contrôle à distance d'une exérèse ou d'une ponction aspiration permet de vérifier qu'il n'y a pas eu de fissuration ou de propagation de l'infection.

Les données de pratique montrent que le volume d'actes enregistré pour le suivi est très peu significatif (41 actes pour 2015, voir tableau 1 p. 13 de l'argumentaire joint).

Comment votre organisme peut-il expliquer ce faible volume ?

C10

Votre organisme considère-t-il pertinent de continuer à suivre les patients traités par recherche des Ac sériques anti-*Echinococcus* ?

Réponse argumentée :

Voir avec le CNR.

Autres questions

Auriez-vous connaissance de publications pertinentes non prises en compte ?

A1

Veuillez référencer le cas échéant les publications concernées.

Réponse :

Non.

Même si le volume des examens sérologique des échinococcoses reste dans la base de l'Assurance maladie (voir figures 3 et 4 p. 28 de l'argumentaire) relativement peu élevé, il a été observé entre 2012 et 2015 une progression du volume d'actes réalisés pour le dépistage et la confirmation du diagnostic respectivement de 12 % et de 42 %.

A2

Pouvez-vous apporter des éléments de réponse à ces augmentations ?

Réponse argumentée :

Augmentation du dépistage, et du nombre de cas déclarés. Extension épidémiologique de l'EA et meilleure connaissance de la maladie. Augmentation des cas EA de découverte fortuite par le biais de bilans systématiques d'hyperéosinophilie. Possible augmentation des cas d'EK lié à l'afflux de migrants.

En matière de lisibilité et de forme du rapport provisoire, avez-vous des remarques ou propositions à faire ?

A3

Veillez préciser dans le cas contraire les éléments à clarifier.

Réponse :

Non.

Souhaitez-vous émettre un commentaire complémentaire ?

A4

Réponse :

Non.

Réponses du Centre national de référence échinococcoses au questionnaire relatif à la consultation à distance

CONTENU D'ÉVALUATION

En ce qui concerne le premier examen (recherche initiale, dépistage) de recherche des anticorps sériques anti-Echinococcus :

Votre organisme considère-t-il que le test immunoenzymatique (EIA/ELISA) et l'hémagglutination indirecte (HAI) sont les deux techniques sérologiques à utiliser actuellement pour la recherche initiale (dépistage) des deux échinococcoses, alvéolaire (EA) et kystique (EK) ? Sur quels arguments ?

Réponse argumentée :

Nous confirmons l'intérêt de l'utilisation de l'ELISA et de l'HAI pour le dépistage (nous préférons le terme « recherche initiale », pour éviter la confusion avec le 'dépistage en population') des deux échinococcoses :

La recherche initiale pour le diagnostic de genre *Echinococcus* doit se faire par HAI + ELISA avec antigène peu purifié (ou ELISA Em2 PLUS s'il existe une forte suspicion d'EA en imagerie).

Des réactifs commerciaux basés sur ces techniques sont disponibles et standardisés. L'HAI (semi-quantitative) permet d'augmenter la sensibilité du diagnostic de dépistage en détectant les formes peu immunoréactives (en particulier les formes abortives d'EA) qui ne sont pas détectées par les techniques Elisa (quantitatives), en particulier lorsque les seuils fournisseurs sont strictement appliqués). Les deux approches techniques sont complémentaires.

C1

L'HAI avec un antigène hétérologue *E granulosus* (Fumouze) permet d'obtenir une bonne sensibilité pour le dépistage de l'EA, si on abaisse le seuil recommandé par le fabricant (Se de 93 % pour l'EA avec seuil à 80 (Bart et al ; 2007)). Pour le dépistage de l'EK, la sensibilité est inférieure (80 % pour localisation hépatique, 50-60 % pour localisation pulmonaire).

Pour le diagnostic de l'EA, l'utilisation combinée de l'HAI et d'un ELISA avec un antigène *E multilocularis* permet d'augmenter la sensibilité (pour EA : HAI + ELISA Em2 PLUS ou L'ELISA Rec Em18 permet une augmentation de la sensibilité (96 %) (Bart 2007) ; pour l'EK, HAI + ELISA Ag *granulosus* permet une augmentation de la sensibilité, mais il n'y a pas de valeur publiée avec les réactifs commercialisés en France.

Cette approche HAI + ELISA est celle actuellement utilisée au CNR Echinococcoses.

L'IE est également une technique très sensible pour la recherche initiale (cf. Recommandation Expert Consensus WHO-IWGE, Brunetti 2010). Ce test doit être réalisé si les données cliniques et radiologiques sont évocatrices et que les tests de dépistage habituels sont négatifs (pour les deux types d'échinococcose, il existe des cas où l'HAI + ELISA sont négatifs, alors que l'IE est positive (Reiter 2009 ; Bart 2007).

La NABM ne proposait pas l'utilisation de tests immunochromatographiques pour la recherche sérologique initiale de l'échinococcose (références ci-dessous). Ces tests ont montré des performances satisfaisantes et globalement comparables aux ELISA, que ce

soit pour le diagnostic de l'EA ou celui de l'EK. Offrir, à l'occasion de cette réévaluation de la NABM, la possibilité réglementaire de les utiliser nous semble une réelle opportunité, car ces tests demandent des équipements moins sophistiqués que les ELISA.

EA : Knapp J, Sako Y, Grenouillet F, Bresson-Hadni S, Richou C, Gbaguidi-Haore H, Ito A, Millon L. Comparison of the serological tests ICT and ELISA for the diagnosis of alveolar echinococcosis in France. *Parasite*. 2014;21:34.

EK : Tamarozzi F, Covini I, Mariconti M, Narra R, Tinelli C, De Silvestri A, Manzoni F, Casulli A, Ito A, Neumayr A, Brunetti E. Comparison of the Diagnostic Accuracy of Three Rapid Tests for the Serodiagnosis of Hepatic Cystic Echinococcosis in Humans. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Feb 12;10(2):e0004444.

Tamarozzi F, Mariconti M, Covini I, Brunetti E Tests de diagnostic rapide pour le sérodiagnostic de l'échinococcose kystique humaine. *Bull Soc Pathol Exot*. 2017 Feb;110(1):20-30.

Pour le dépistage de l'EA, la littérature récente analysée reconnaît que :

- si les deux techniques de dépistage utilisent un antigène d'*E. granulosus* hétérologue, alors il convient de combiner l'ELISA et l'HAI pour le dépistage initial ;
- si la technique ELISA utilise un mélange de deux antigènes spécifiques, alors seule la technique ELISA peut être utilisée.

C2

Quelle est la position de votre organisme par rapport à cette démarche diagnostique ?

Réponse argumentée :

Notre stratégie consiste à faire la recherche sérologique initiale de l'EA (suspecte sur des données d'imagerie) avec l'HAI Ag *granulosus* + ELISA Ag *multilocularis* (ELISA Em2 PLUS), en raison d'une augmentation de la sensibilité lorsque les deux techniques sont utilisées (Bart 2007).

Pour le dépistage de l'EK, la littérature récente analysée reconnaît que les deux techniques ELISA et HAI doivent être associées.

Quelle est la position de votre organisme par rapport à cette démarche diagnostique ?

C3

Réponse argumentée :

Notre stratégie consiste à faire le dépistage de l'EK avec l'HAI Ag *granulosus* + ELISA Ag *granulosus* (Bordier).

Au vu du recrutement du CHU de Besançon en termes d'EK, nous n'avons pas de données internes au CNR pour prouver que la combinaison des deux approches est supérieure à l'utilisation d'un seul des tests. Mais cette augmentation de sensibilité a été montrée dans la situation de 'dépistage en population'.

C4

Votre organisme peut-il confirmer que l'immunoélectrophorèse (IELP), l'électrosynérèse (ELS), la coélectrosynérèse (COES), l'hémagglutination sensibilisée (HAGG), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'immunodiffusion double (IDD-Ouchterlony), sont aujourd'hui des techniques obsolètes et qu'elles ne sont plus réalisées pour le dépistage initial des échinococcoses, comme l'indique la littérature analysée ?

Réponse argumentée :

Oui, ces techniques sont obsolètes, d'une part du fait de la difficulté à produire des

antigènes standardisés, d'autre part du temps technique et des délais nécessaires pour réaliser ces techniques. L'utilisation de l'immunoélectrophorèse dans notre laboratoire dans les années 1980 a montré sa très faible sensibilité, en dépit d'une bonne spécificité, y compris pour le diagnostic d'EA (pour lequel la sérologie a pourtant la meilleure performance) ; elle a de ce fait été abandonnée depuis de nombreuses années.

Par ailleurs, il n'existe pas de kit commercialisé ayant recours à ces techniques alors que c'est le cas pour HAI, ELISA et IE.

Enfin, l'utilisation de ces techniques impose aux laboratoires de fabriquer leurs antigènes et, pour être validée, nécessiterait une lourde validation de méthodes selon la norme ISO 15189.

Selon la littérature récente analysée, le diagnostic sérologique de l'EK semble plus complexe et moins fiable que celui de l'EA.

Votre organisme peut-il apporter des éléments d'explication à cette affirmation ?

Réponse argumentée :

Le principal problème dans le diagnostic de l'EK est la négativité des tests de recherche initiale dans un pourcentage plus élevé de cas que dans l'EA (15-20 % pour les kystes hépatiques, et 30 % environ pour les kystes pulmonaires isolés). Cela tient essentiellement à la non-production d'anticorps par certains patients atteints d'EK, essentiellement parce que la source antigénique (à l'intérieur du kyste) est isolée des cellules de la réponse immunitaire anticorps par une fibrose acellulaire. A l'inverse, dans le cas de l'EA, la croissance larvaire s'accompagne d'une importante réaction immunitaire de l'hôte, sous forme de granulome périparasitaire.

C5

De plus, les études protéomiques récentes montrent des modifications de représentation des protéines antigéniques en fonction de la localisation des kystes et de leur évolution dans le temps. Cela explique vraisemblablement pourquoi la sensibilité du diagnostic sérologique de l'EK est très liée aux patients testés (Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths FJ, Müller N. Laboratory Diagnosis of Echinococcus spp. in Human Patients and Infected Animals. Adv Parasitol. 2017;96:159-25 ; Lissandrin R, Tamarozzi F, Piccoli L, Tinelli C, De Silvestri A, Mariconti M, Meroni V, Genco F, Brunetti E. Factors Influencing the Serological Response in Hepatic Echinococcus granulosus Infection. Am J Trop Med Hyg. 2016 Jan;94(1):166-71) ; en particulier :

- les kystes de stade CE1 (très jeune), et CE4 et CE5 (kystes en voie d'involution) selon la classification échographique de l'OMS sont moins immunoréactifs ;
- les kystes uniques, les lésions de petite taille, les lésions extra-hépatiques sont moins immunoréactifs ;
- les kystes compliqués, en particulier ceux avec fissure/rupture et ceux en communication avec les voies biliaires, sont plus immunoréactifs.

En ce qui concerne l'examen de confirmation d'un résultat positif de l'examen précédent :

C6

La littérature récente analysée reconnaît la nécessité de confirmer la positivité de la recherche initiale (au moins un des deux tests positif) par un nouvel examen, aussi bien pour l'EA que pour l'EK.

Quelle est la position de votre organisme par rapport à cette affirmation ?

Réponse argumentée :

Les techniques de dépistages utilisant des Ag hétérologues permettent d'obtenir une bonne sensibilité, mais manquent de spécificité : il existe des réactions croisées avec d'autres helminthiases (fascioloses, cysticercose), (Reiter 2009 ; Schweiger 2012), et l'utilisation d'Ag hétérologue (tel que celui utilisé dans l'HA1 Fumouze, mais aussi les ELISA utilisant des antigènes non ou peu purifiés) ne permet pas la discrimination EK-EA (la réactivité croisée de « genre » est la règle car de nombreux antigènes sont 'partagés' entre les espèces d'*Echinococcus*). La positivité d'un test utilisant comme antigène une préparation à partir de l'autre espèce, par exemple liquide hydatique d'*E.granulosus* pour un diagnostic d'EA, non seulement n'exclut pas le diagnostic, mais le rend extrêmement vraisemblable

L'utilisation d'Ag purifié ou recombinant Em (tel que ELISA Em2 PLUS –Bordier) permet d'obtenir une sensibilité de 81 à 100 % et de discriminer entre EA et EK avec une fiabilité de 80 à 95 %.

Dans notre pratique, au CNR Echinococcose, nous utilisons l'IE en confirmation dès que l'une des techniques utilisées pour la recherche initiale est positive. Il n'est pas nécessaire de réaliser un nouveau prélèvement, l'IE est réalisé sur le même échantillon que la recherche initiale.

La littérature analysée reconnaît l'immunoempreinte (IE) (Western blot) comme technique actuelle valide pour l'examen de confirmation des deux échinococcoses EA et EK.

Quelle est la position de votre organisme sur la technique à utiliser pour réaliser cet examen de confirmation ?

C7 *Réponse argumentée :*

Nous réalisons l'IE pour la confirmation des deux échinococcoses. Dans notre expérience, ce test, très spécifique, permet un diagnostic différentiel EA et EK dans plus de 90 % des cas.

Comme mentionné plus haut, nous réalisons aussi l'IE en cas de négativité des tests de dépistage, lorsque les résultats d'imagerie sont très évocateurs d'EA ou d'EK.

Votre organisme peut-il confirmer que l'immunoélectrophorèse (IELP) et la coélectrosynérèse (COES) sont aujourd'hui des techniques obsolètes et qu'elles ne sont plus réalisées pour la confirmation du diagnostic des échinococcoses ?

Réponse argumentée :

Cf. question C4.

C8

Ces techniques sont obsolètes, d'une part du fait de la difficulté à produire des antigènes standardisés, d'autre part, du temps technique et des délais nécessaires pour réaliser ces techniques, et pour certaines d'entre elles, de leur médiocre sensibilité.

Par ailleurs, il n'existe pas de kit commercialisé ayant recours à ces techniques, alors que c'est le cas pour l'IE.

Comme évoqué plus haut, l'immunoélectrophorèse, en particulier, est moins sensible que l'immunoempreinte pour le diagnostic de confirmation de l'EA (Bart et al. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007 Sep;59(1):93-5) et de l'EK (travaux du Dr Houria Zait, CHU Mustafa, Alger – soumission à publication à venir). Cela est souligné aussi dans la revue récente de Siles Lucas et al 2017.

En ce qui concerne l'examen de suivi :

Dans la proposition de modification de la NABM, il est indiqué que les tests à utiliser pour le suivi des patients traités doivent être quantitatifs mais les techniques à utiliser ne sont pas précisées.

La littérature analysée mentionne le recours à la technique ELISA, pour l'EA comme pour l'EK.

Quelle est la position de votre organisme sur la technique à utiliser pour réaliser l'examen de suivi ?

Réponse argumentée :

Nous utilisons l'ELISA pour le suivi des patients EA et EK- la cinétique des index obtenu en ELISA, avec comparaison sur des sérums itératifs permet un suivi de l'efficacité thérapeutique

C9

Patients sans intervention radicale : jusqu'à présent, pour l'EA, le suivi était réalisé à l'aide de l'antigène Em2plus (ELISA Em2 PLUS Bordier) ; cependant, la présence d'Em2 (qui est présent dans la cuticule parasitaire, acellulaire) dans le mélange antigénique peut entraîner une positivité sérologique résiduelle malgré la disparition de la viabilité parasitaire. Désormais, un nouveau kit utilisant un antigène recombinant Em18 est disponible (ELISA Em18 rec Ag Bordier), qui est plus performant pour évaluer la viabilité parasitaire et donc optimiser le suivi thérapeutique (Tappe 2009 ; Ammann 2015), ainsi que pour différencier les lésions actives et inactives ou abortives.

Pour l'EK, le suivi des cas n'ayant pas eu d'ablation radicale du/des kystes, il serait légitime d'utiliser un ELISA préparé avec des antigènes spécifiques d'*E. granulosus* (AgB en particulier) ; cependant, nous ne disposons pas actuellement de kit commercial utilisant ces préparations antigéniques purifiées ou recombinantes. Etant donné le faible nombre relatif de patients avec EK dans cette situation, nous n'avons pas développé ce type de test en interne. A défaut, le suivi est réalisé avec un ELISA *E. granulosus* standard.

Patients avec intervention radicale : dans notre pratique, nous utilisons également la technique d'HA1 pour le suivi car l'utilisation d'un antigène hétérologue (communs à *E. granulosus* et à *E. multilocularis*) permet une détection plus précoce des récurrences lorsque le kyste dans l'EK ou les lésions dans l'EA ont fait l'objet d'une ablation jugée 'radicale' par le chirurgien. En effet, les anticorps dirigés contre les antigènes 'partagés' sont détectés les premiers, en particulier lors de récurrence chez les patients transplantés (Bresson-Hadni, 2011). Un suivi par HA1 peut également rendre service chez les patients immunodéprimés qui n'expriment que des anticorps contre les antigènes 'partagés' (Chauchet et al, 2014).

Les données de pratique montrent que le volume d'actes enregistré pour le suivi est très peu significatif (41 actes pour 2015, voir tableau 1 p. 13 de l'argumentaire joint).

Comment votre organisme peut-il expliquer ce faible volume ?

Votre organisme considère-t-il pertinent de continuer à suivre les patients traités par recherche des Ac sériques anti-*Echinococcus* ?

Réponse argumentée :

C10

Le suivi sérologique est un élément essentiel de la prise en charge thérapeutique des échinococcoses alvéolaires. Il permet d'évaluer l'efficacité du traitement, d'ajuster les posologies d'albendazole et surveiller l'apparition de récurrence. Le suivi sérologique est réalisé chez tous les patients une à deux fois par an.

Effectivement, le volume d'actes enregistré pour le suivi est très peu significatif. Le code NABM suivi est peu utilisé, d'une part, pour des raisons organisationnelles, d'autre part, parce nous considérons que pour de nombreux patients, il est utile de réaliser les deux techniques (HA1 et ELISA)

L'HAI présente un intérêt pour la détection précoce des récives, et la négativation de l'HAI est un élément important dans l'aide à la décision d'arrêt de l'albendazole chez certains patients (immunodéprimés, faible réactivité contre les antigènes spécifiques d'*E. multilocularis*...). Ainsi, nous continuons à suivre un grand nombre de patients atteints d'EA également en HAI jusqu'à négativation.

En ce qui concerne le problème organisationnel et/ou logistique (informatique), la cotation différente d'une même analyse, si elle est effectuée en primo-diagnostic ou en suivi, n'est pas aisément informatiquement applicable avec certains systèmes d'information de laboratoire (SIL).

Ces deux raisons (réalisation non pas d'une, mais de deux techniques en itératif pour le suivi des EA, incapacité de cotation différentielle aisée sur le SIL des examens entre suivi et diagnostic) nous a conduit, au sein du CNR, à coter l'ensemble des sérologies échinococcoses (diagnostic et suivi) indifféremment selon le code NABM 4328.

A l'occasion de la révision de la NABM, il serait probablement utile de prévoir deux types d'examen de suivi avec reprise d'un sérum itératif, l'un avec uniquement une technique quantitative de détection des Ac spécifiques Eg ou Em, l'autre avec une cotation spécifique incluant la technique quantitative de détection des Ac spécifiques Eg ou Em, associée à l'HAI.

Autres questions

Auriez-vous connaissance de publications pertinentes non prises en compte ?

Veuillez référencer le cas échéant les publications concernées.

Réponse :

Kern P, Menezes da Silva A, Akhan O, Müllhaupt B, Vizcaychipi KA, Budke C, Vuitton DA. The Echinococcoses: Diagnosis, Clinical Management and Burden of Disease. *Adv Parasitol.* 2017;96:259-369.

Bresson-Hadni S, Blagosklonov O, Knapp J, Grenouillet F, Sako Y, Delabrousse E, Brientini MP, Richou C, Minello A, Anca-Teodora A, Gillet M, Ito A, 2 Georges Andre ' Manton GA, Vuitton DA. Liver transplantation 2011, 17:855-865

Tappe 2009 ; Dennis Tappe D, Frosch M, Sako Y, Itoh S, Grüner B, Reuter S, Nakao M, Ito A, Kern P. Close Relationship between Clinical Regression and Specific Serology in the Follow-up of Patients with Alveolar Echinococcosis in Different Clinical Stages. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 2009, 80(5):792–797

Ammann RW, Stumpe KDM, Grimm F, Deplazes P, Huber S, Bertogg K, Fischer DR, Müllhaupt B. Outcome after Discontinuing Long-Term Benzimidazole Treatment in 11 Patients with Non-resectable Alveolar Echinococcosis with Negative FDG-PET/CT and Anti-Em1/3-10 Serology. *PLOS Neglected Tropical Diseases* | DOI:10.1371/journal.pntd.0003964 September 21, 2015

Reiter-Owona, gruner B, Frosch M, Hoerauf A, Kern P, Tappe D. Serological Confirmatory Testing of Alveolar and Cystic Echinococcosis in Clinical Practice: Results of a Comparative Study with Commercialized and in-house Assays. *Clin. Lab.* 2009;55:41-48

Schweiger A, Grimm F, Tanner I, Mullhaupt B, Bertogg K, N. Muller N, Deplazes P. Serological diagnosis of echinococcosis: the diagnostic potential of native antigens *Infection* (2012) 40:139–152

Gottstein B, Wang J, Blagosklonov O, Grenouillet F, Millon L, Vuitton DA, Müller N.

Echinococcus metacestode: in search of viability markers. *Parasite*. 2014;21:63.

Chauchet A, Grenouillet F, Knapp J, Richou C, Delabrousse E, Dentan C, Millon L, Di Martino V, Contreras R, Deconinck E, Blagosklonov O, Vuitton DA, Bresson-Hadni S; the FrancEchino Network. Increased incidence and characteristics of alveolar echinococcosis in patients with immunosuppression-associated conditions. *Clin Infect Dis*. 2014 Oct 15;59(8):1095-104.

Bart 2007 Bart JM, Piarroux M, Sako Y, Grenouillet F, Bresson-Hadni S, Piarroux R, Ito A. Comparison of several commercial serologic kits and Em18 serology for detection of human alveolar echinococcosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 59 (2007) 93–95

Knapp J, Sako Y, Grenouillet F, Bresson-Hadni S, Richou C, Gbaguidi-Haore H, Ito A, Millon L. Comparison of the serological tests ICT and ELISA for the diagnosis of alveolar echinococcosis in France. *Parasite*. 2014;21:34.

Tamarozzi F, Mariconti M, Covini I, Brunetti E Tests de diagnostic rapide pour le sérodiagnostic de l'échinococcose kystique humaine. *Bull Soc Pathol Exot*. 2017 Feb;110(1):20-30

Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths FJ, Müller N. Laboratory Diagnosis of Echinococcus spp. in Human Patients and Infected Animals. *Adv Parasitol*. 2017;96:159-25

Ahn CS, Han X, Bae YA, Ma X, Kim JT, Cai H, Yang HJ, Kang I, Wang H, Kong Y. Alteration of immunoproteome profile of Echinococcus granulosus hydatid fluid with progression of cystic echinococcosis. *Parasit Vectors*. 2015 Jan 8;8:10.

Zeghir-Bouteldja R, Polomé A, Bousbata S, Touil-Boukoffa C. Comparative proteome profiling of hydatid fluid from Algerian patients reveals cyst location-related variation in Echinococcus granulosus. *Acta Trop*. 2017 Apr 13;171:199-206.

Même si le volume des examens sérologique des échinococcoses reste dans la base de l'Assurance maladie (voir figures 3 et 4 p. 28 de l'argumentaire) relativement peu élevé, il a été observé entre 2012 et 2015 une progression du volume d'actes réalisés pour le dépistage et la confirmation du diagnostic respectivement de 12 % et de 42 %.

Pouvez-vous apporter des éléments de réponse à ces augmentations ?

Réponse argumentée :

Nous enregistrons une augmentation du nombre de cas d'EA dans les 10 dernières années (moyenne de 15,6 cas incidents/an dans la période 1997-2006, moyenne de 31,2 cas incidents/an dans la période 2007-2016), avec de plus en plus de cas diagnostiqués en dehors de la zone d'endémie historique (Franche Comté, Lorraine, Massif Central). Cette augmentation semble liée à l'augmentation des populations de renards infectés, et à leur extension géographique (Combes, EID 2012 ; Schweiger EID 2007). D'autre part, il est probable que la nomination du CNR échinococcose en 2012 ait amélioré l'information sur la maladie et ait abouti à une meilleure connaissance de la maladie par les médecins en dehors de la zone d'endémie historique, avec un recours à la prescription de sérologie échinococcose plus fréquent.

De plus, nous enregistrons un nombre de plus en plus important de cas diagnostiqués à un stade asymptomatique (60 % dans la période 2009-2015) (données du CNR Echinococcoses). Le plus grand recours aux actes d'imagerie médicale dans les activités de soins courants (médecine de ville et activité hospitalière) permet la détection de lésions hépatiques pouvant évoquer une échinococcose chez un nombre croissant d'individus, entraînant la réalisation d'un plus grand nombre de sérologie échinococcose à l'échelle nationale.

Un problème nouveau est représenté par l'émergence de cas d'EA chez les patients

A2

traités pour cancer, hémopathie maligne ou maladies inflammatoires chroniques, souvent asymptomatiques, les lésions d'EA étant découvertes lors du suivi des patients pour leur maladie initiale (et souvent confondues avec des métastases ou localisations de cette maladie). La séropositivité en Em2PLUS est moins fréquente chez ces patients ; par ailleurs, le profil sérologique (en particulier en IE) est plus difficilement interprétable ; dans ces cas, le recours au CNR peut apporter l'expertise nécessaire (Chauchet et al, 2014).

En matière de lisibilité et de forme du rapport provisoire, avez-vous des remarques ou propositions à faire ?

Veuillez préciser dans le cas contraire les éléments à clarifier.

Réponse :

Il existe plusieurs erreurs ou approximations qu'il serait important de corriger :

- page 6 – 2^{ème} paragraphe :

Le diagnostic est le plus souvent fait actuellement chez des patients asymptomatiques à l'occasion d'un examen d'imagerie médicale de routine dans le cadre du diagnostic d'une autre affection (échographie et scanner principalement) ou dans le cadre du suivi d'un cancer, d'une hémopathie maligne ou d'une maladie inflammatoire chronique (échographie, scanner, IRM et FDG-TEP). L'hyperleucocytose n'est un signe biologique ni d'EA ni d'EK; l'hyperéosinophilie est exceptionnelle dans l'EA, et rare dans l'EK (sauf dans les cas de rupture ou fissure du kyste).

- Page 6 et page 10 : Le seul diagnostic de certitude est l'examen direct (anatomopathologie) qui permet de mettre en évidence la tête du ver adulte (ou scolex)

La formulation est inexacte. La maladie humaine n'est en relation qu'avec la forme larvaire du parasite. Les protoscolex trouvés dans les lésions (plus fréquents dans les kystes de l'EK que dans les lésions d'EA) ne sont pas la tête du ver adulte, mais la forme fertile de la larve qui deviendra 'scolex', (partie initiale du ver adulte qui s'accroche dans l'intestin de l'hôte définitif (carnivore: le plus souvent chien pour l'EK, et renard pour l'EA en Europe)).

- Page 6 et 10 : dans les deux situations cliniques (EA et EK), la ponction percutanée ou biopsie n'est qu'exceptionnellement réalisée en raison du risque élevé de propagation secondaire de l'infection et d'anaphylaxie, le prélèvement reste envisageable uniquement en peropératoire dans le cadre d'un traitement.

Il conviendrait de différencier les deux infections. La ponction à visée diagnostique n'est pas formellement déconseillée en cas d'EK, mais elle ne peut se concevoir que comme la première étape d'une ponction à visée thérapeutique, avec les mêmes précautions, et encadrée par l'administration d'albendazole, et (Brunetti et al, 2010 ; Expert Consensus).

La ponction à l'aiguille fine, et si négative la ponction/biopsie, est utile pour effectuer le diagnostic d'EA en particulier chez l'immunodéprimé et pour les lésions extrahépatiques.

Ce geste n'expose pas les patients atteints d'EA à des risques de choc (Bresson-Hadni EMC 2014 ; Vuitton et al. Presse Médicale 2010, déjà citées), et le risque d'extension n'est que théorique. Une série récente a montré l'intérêt des biopsies dans le diagnostic de l'EA. En plus de l'analyse moléculaire, réalisée en routine dans le cadre du CNR, un immunomarquage des lésions a été récemment proposé (Barth et al, 2015)

Bulakci M, Ilhan M, Bademler S, Yilmaz E, Gulluoglu M, Bayraktar A, Asik M, Guloglu R. Efficacy of ultrasound-guided core-needle biopsy in the diagnosis of hepatic alveolar echinococcosis: a retrospective analysis. *Parasite*. 2016;23:19. doi: 10.1051/parasite/2016019.

A3

Page 7 : définition « 4 espèces d'*Echinococcus* »

Cette nomenclature est maintenant obsolète. Au sein d'*Echinococcus granulosus sensu lato*, on distingue maintenant 5 espèces: *E. granulosus sensu stricto*, *E. canadensis*, *E. ortleppi*, *E. equinus*, et *E. felidis*. Les sensibilité et spécificité des tests sérologiques peuvent varier en fonction de l'espèce.

Page 7 : épidémiologie de l'EA en Europe

Il faut ajouter les pays baltes et la Pologne, où des incidences élevées sont rapportées, et signaler que des cas ont été observés dans la plupart des pays d'Europe.

Page 7 : En France, la prévalence (de l'EK) était de 0,02/100 000 habitants en 2010

À actualiser : incidence de 0,42/100 000 habitants

van Cauteren D, Millon L, de Valk H, Grenouillet F. Retrospective study of human cystic echinococcosis over the past decade in France, using a nationwide hospital medical information database. *Parasitol Res.* 2016 Nov;115(11):4261-4265.

Page 8 : Etape 4 : l'oncosphère se développe en un kyste

Ajouter « entouré d'une coque fibreuse, très peu cellulaire » (c'est entre autres ce qui explique la plus faible sensibilité de la sérologie dans l'EK).

Concernant *E multilocularis*

La croissance larvaire (dans le foie) reste indéfiniment en phase proliférative, entraînant une invasion des tissus environnants.

Ajouter « et elle s'accompagne d'une importante réaction immunitaire de l'hôte, sous forme de granulome périparasitaire. » (ceci explique en grande partie les différences de sensibilité de la sérologie dans EK et EA).

Page 9 : Néanmoins, l'EA n'étant souvent pas diagnostiquée avant que la maladie ne soit avancée, les lésions sont généralement inopérables

Très discutable car actuellement plus de 50 % des EA diagnostiquées en France sont asymptomatiques (Bresson Hadni 2014 : ref. 5). On considère que les progrès chirurgicaux et le fait que les diagnostics soient plus précoces permettent à quasi 50 % des patients d'être opérables (contre 20 % avant) (Kern et al *Advances in Parasitology* 2017).

Page 10 : la transplantation hépatique est actuellement réservée aux formes biliaires d'EA...

Page 11 :

- Antigènes communs à *E granulosus* et *E multilocularis*

le métacyste est l'ensemble de la larve, le fluide hydatique en fait partie... Il serait plus exact de dire « soit le fluide hydatique ou ses dérivés antigéniques, soit des extraits tissulaires de la membrane germinative d'*E. granulosus*, soit des extraits de protoscolex de l'une ou l'autre espèce ».

- Antigènes spécifiques d'*E multilocularis*

les Ag d'*E. multilocularis* semi-purifiés : Em2, Em18

Em2, antigène majoritairement polysaccharidique, issu de la membrane cuticulaire d'*E. multilocularis* ;

Em18, antigène protéique, issu de la membrane germinative viable (donc mieux corrélé à la mort du parasite) ; Em18 est codé par une partie de la séquence du gène qui code EM10-Em11/3.

les Ag d'E. multilocularis recombinants : Em10 et Em11/3-10, ou Em2Plus qui est un mélange d'antigènes de métacestode d'E. multilocularis purifiés par affinité (antigène Em2) et d'un antigène recombinant (Em11/3-10).

EM10, Em11/3, et Em18 sont codés par le même gène. EM10 et Em11/3 sont identiques ; les noms sont différents parce qu'ils ont été découverts presque simultanément par une équipe suisse et une équipe allemande. Secondairement, Em18 a été décrit par une équipe japonaise, et il a pu être démontré que cette protéine correspondait au même gène (séquence plus courte).

La composition actuelle de Em2 PLUS commercialisé par Bordier Affinity Products (Crissier, Suisse) est un mélange d'Ag Em2 purifié par affinité et d'Ag recombinant Em18

- Antigène spécifique d'E *granulosus*

L'antigène B et l'antigène 5 dérivés du fluide hydatique (l'abréviation FKH n'est pas utile car pas très conventionnelle)

Page 12 : Hémagglutination indirecte. Il s'agit d'une technique quantitative.

Il s'agit d'une technique semi-quantitative dont le résultat est exprimé sous forme de 'dilution' du sérum à partir de laquelle un test positif est observé.

Technique immunoenzymatique

Il s'agit d'une technique quantitative dont le résultat est exprimé sous forme de 'densité optique' convertie en pourcentage de positivité par rapport à des sérums témoins positif et négatif utilisés comme contrôles.

Immunoempreinte IE

Supprimer « Le principe consiste à appliquer sur la membrane des Anticorps marqués qui sont spécifiques des protéines que l'on veut détecter ».

Et ajouter : Le résultat est exprimé sous forme de 'bandes' désignées par leur poids moléculaire en relation avec une échelle de référence; une interprétation du test est proposée à partir de la combinaison des bandes positives observées.

P14 : tableau 2 : plutôt parler seulement de Recherche initiale (et supprimer le terme de dépistage) - l'utilisation de la sérologie pour le dépistage des échinococcoses en population est un problème en soi, différent de celui du diagnostic médical proprement dit. Pour le diagnostic, l'expression 'recherche initiale' est plus claire.

P14 dernière phrase.

Centre national de Reference Echinococcoses (et non Echinococcose alvéolaire) - le périmètre du CNR a été entendu aux deux types d'échinococcoses pour le mandat 2017-2021.

P16 : il manque des articles importants dans cette sélection notamment les revues publiées récemment dans Advances in Parasitology, et d'autres articles récents importants (cf question précédente sur les publications pertinentes à ajouter).

Page 20 : Le groupe de travail WHO-IWGE a été créé en 1985.

Page 21 Suivi du traitement

La première phrase est ambiguë et des précisions doivent être apportées :

La décroissance des anticorps est observée dans les 3 ans après résection chirurgicale totale, que ce soit dans l'EK ou dans l'EA, une ré-ascension des concentrations d'anticorps (et d'abord des anticorps dirigés contre les antigènes les moins purifiés, les plus 'bruts',

donc les plus 'partagés' entre les espèces) indique la récurrence.

C'est pour les autres cas que l'utilisation des tests sérologiques peut avoir une valeur limitée, pour juger des effets d'un autre type de traitement (PAIR dans EK, traitement médical prolongé dans l'EA). Dans ce cas, la nature des antigènes utilisés est importante pour optimiser le suivi. Pour EA, l'utilité des tests utilisant l'Ag Em2 plus et surtout l'Em18 est démontrée. Pour l'EK, le suivi est d'autant plus difficile qu'un pourcentage non négligeable de cas est séro-négatif, que l'on peut avoir l'apparition d'une séro-positivité qui signe paradoxalement l'efficacité du traitement, et que, contrairement à l'EA, on ne dispose pas de kits standardisés commercialisés utilisant des antigènes purifiés ou recombinants qui seraient les plus utiles pour le suivi.

Page 21 : Titre Echinococcose cystique : écrire « kystique »

Page 24 (et 28) :

Selon les recommandations du CNR-EA¹⁹, dont l'une des missions principales est l'expertise biologique (25), le dépistage doit inclure deux techniques :

- ELISA et HAI, si ces techniques sont basées sur un Ag *E. granulosus* (hétérologue) ;
- ou uniquement ELISA Em2-plus, qui comprend un mélange de deux Ag purifiés et peut donc être considéré comme en conformité avec ce principe.

Par ailleurs, la stratégie de dépistage semble devoir être adaptée au terrain ; ainsi, selon un article publié récemment (2017) :

- **dans les zones d'endémie d'EA**, le dépistage primaire ainsi que la confirmation doivent être effectués par ELISA avec des antigènes purifiés (Ag Em2, Em2plus, EM10, Em18 ou Em18-ELISA) ou par Em-18 immunoempreinte (16) ;
- **dans les zones d'endémie d'EA et EK**, une combinaison de tests de dépistage très sensibles propres au genre à des tests de confirmation spécifiques de l'espèce (par exemple *Echinococcus* IgG Western Blot) doit être utilisée (16).

Il n'y a pas d'intérêt à faire cette différence, car même dans les zones d'endémie d'EA on peut être amené à faire le diagnostic d'EK d'importation. De plus, dans certains cas d'EA (dont les immunodéprimés), le sérum ne réagit qu'aux antigènes partagés (on se priverait donc de quelques positifs 'par croisement').

Les antigènes Em2 et EM10, ne sont plus utilisés.

Les antigènes utilisés sont donc Em2 PLUS (mélange d'Em2 et d'Em18), Em18 purifié, Em18 recombinant.

Nous ne soutenons pas l'idée que pour le diagnostic de l'EA, l'Elisa Em2plus en dépistage seul suffit (Cf Bart et al 2007). Notre attitude est de préconiser au minimum une technique avec un Ag *E. granulosus* (HAI et/ou Elisa) et une technique avec un Ag *E. multilocularis*, comme le stipulait la nomenclature auparavant (Dépistage par au moins deux techniques. Le diagnostic de l'échinococcose alvéolaire doit comprendre au moins un test avec un antigène de l'espèce *Echinococcus multilocularis*).

La référence 16 doit être interprétée avec prudence : la France étant un pays de co-endémie EA-EK (ce qui est le cas d'ailleurs de la grande majorité des pays, que l'EK soit majoritairement importée ou majoritairement autochtone, et vice-versa), un dépistage primaire limité à un Elisa Em est associé à un risque de non-diagnostic d'une EK. Or, la prescription médicale est quasi exclusivement sérologie échinococcose et n'est pas limitée à une des deux maladies.

P 28 Concernant le Suivi

Pour l'EA : effectivement, le suivi par l'ELISA Em18 est désormais le plus indiqué pour les patients avec lésions encore en place et traités par albendazole. Par ailleurs, les tests

utilisant les antigènes partagés '*Echinococcus*' (tel que l'HAI ou l'ELISA-fluide hydatique) sont les plus performants pour détecter une récurrence après intervention radicale.

Pour l'EK : le suivi (prévention des récurrences) des cas opérés par cystectomie totale. peut être réalisé par l'ELISA-fluide hydatique ou l'HAI, en fonction de la sérologie initiale. Pour les patients qui n'ont eu qu'une cystectomie partielle ou ceux qui ont été traités par PAIR et/ou albendazole, l'imagerie apporte effectivement plus d'information que la sérologie, en l'absence de kits standardisés et commercialisés en France utilisant des antigènes purifiés ou recombinants spécifiques d'EK (Ag B et ses sous-unités, ou Ag5) ; de plus le suivi est parfois impossible du fait de la négativité initiale de la sérologie.

Souhaitez-vous émettre un commentaire complémentaire ?

Réponse :

A4

On peut ajouter la nécessité d'un contrôle interlaboratoire, en particulier pour rendre le suivi des patients fiable (d'autant qu'ils sont parfois amenés à être suivis dans plusieurs laboratoires différents...).

Annexe 4. Liste des tableaux et figures

Tableau 1. Codes NABM et cotations relatifs à la sérologie des échinococcoses.....	13
Tableau 2. Nomenclature relative au diagnostic sérologique des échinococcoses (modification proposée).....	14
Tableau 3. Organismes consultés	18
Tableau 4. Présentation des documents analysés.....	19
Tableau 5. Sensibilité de détection des anticorps anti- <i>E. multilocularis</i> en fonction de la nature des antigènes utilisés, d'après le rapport OMS, 2001 (4)	20
Tableau 6. Sensibilité de divers tests de détection d'anticorps chez des patients atteints d'EK confirmée, d'après le rapport OMS, 2001 (4)	21
Tableau 7. Stratégie de recherche dans la base de données <i>Medline</i>	35
Tableau 8. Principales conclusions et préconisations portant sur les tests diagnostiques des échinococcoses larvaires émises par les auteurs	38
Figure 1. Cycle évolutif d' <i>Echinococcus granulosus</i> d'après les <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> , 2013 (11).	8
Figure 2. Diagramme de sélection des références bibliographiques identifiées	17
Figure 3. Évolution du volume des tests de recherche initiale (dépistage) réalisés entre 2012 et 2015	26
Figure 4. Nombre de tests de confirmation réalisés entre 2012 et 2015 par année et par type de technique	27

Références

1. Haute Autorité de Santé. Actualisation de la Nomenclature des actes de biologie médicale relative aux actes de diagnostic biologique des échinococcoses larvaires. Feuille de route. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2017.
2. Moro PL, Weller PF, Baron EL. Clinical manifestations and diagnosis of echinococcosis. Version 6.0. UpToDate 2013.
3. Organisation mondiale de la santé. Echinococcose. Aide-mémoire n°377 [En ligne] 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs377/fr/>
4. World Health Organization, World Organisation for Animal Health, Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawłowski ZS. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris: OIE/WHO; 2001. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42427/1/929044522X.pdf>
5. Bresson-Hadni S, Chauchet A, Vuitton DA, Grenouillet F, Knapp J, Richou C, *et al.* Échinococcose alvéolaire. *Encycl Méd Chir Hépatologie* 2014;7-023-A-20.
6. Demonmerot F, Grenouillet F, Knapp J, Martin B, Richou C, Damy S, *et al.* Echinococcose alvéolaire : données actualisées du registre FrancEchino et évolution vers une base de données européenne (EurEchino Database) [abstract]. Congrès des Sociétés françaises de parasitologie et de mycologie médicale, Grenoble, 23-25 mars 2016 [En ligne] 2016. http://cnr-echino-alveolaire-ccoms.univ-fcomte.fr/IMG/pdf/Demonmerot_SFP_2016_resume.pdf
7. Biomnis. Hydatidose. Précis de biopathologie. Analyses médicales spécialisées. Ivry sur Seine: Biomnis; 2012. <http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/HYDATIDOSE.pdf>
8. Bouchaud O. Parasitoses digestives. Lamblie, téniasis, ascaridiose, oxyurose, amibiase, hydatidose. *Rev Prat* 2005;55(3):331-7.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2012. Reporting on 2010 surveillance data and 2011 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC; 2013. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Annual-Epidemiological-Report-2012.pdf>
10. Van Cauteren D, Millon L, de Valk H, Grenouillet F. Retrospective study of human cystic echinococcosis over the past decade in France, using a nationwide hospital medical information database. *Parasitol Res* 2016;115(11):4261-5.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Echinococcosis. Laboratory diagnosis [En ligne] 2013. <https://www.cdc.gov/dpdx/echinococcosis/dx.html>
12. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Augot D. Epidémiologie de l'échinococcose alvéolaire en France en 2004. *Bull Epidemiol AFSSA* 2004;(15):1-3.
13. Association française des enseignants de parasitologie et mycologie. Echinococcoses humaines. 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. 220-32.
14. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *Int J Infect Dis* 2009;13(2):125-33.
15. WHO-Infomal Working Group on Echinococcosis, Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop* 2010;114(1):1-16.
16. Kern P, Menezes da Silva A, Akhan O, Müllhaupt B, Vizcaychipi KA, Budke C, *et al.* The echinococcoses: diagnosis, clinical management and burden of disease. *Adv Parasitol* 2017;96:259-369.
17. Moro PL, Weller PF, Baron EL. Clinical manifestations and diagnosis of echinococcosis. UpToDate [En ligne] 2016. <http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-echinococcosis>
18. Vuitton DA, Bresson-Hadni S, Giraudoux P, Bartholomot B, Laplante JJ, Delabrousse E, *et al.* Echinococcose alvéolaire : d'une maladie rurale incurable à une infection urbaine sous contrôle ? *Presse Méd* 2010;39(2):216-30.
19. Schwarz NG, Loderstaedt U, Hahn A, Hinz R, Zautner AE, Eibach D, *et al.* Microbiological laboratory diagnostics of neglected zoonotic diseases (NZDs). *Acta Trop* 2017;165:40-65.
20. Sarkari B, Rezaei Z. Immunodiagnosis of human hydatid disease: where do we stand? *World J Methodol* 2015;5(4):185-95.
21. Manzano-Román R, Sánchez-Ovejero C, Hernández-González A, Casulli A, Siles-Lucas M. Serological diagnosis and follow-up of human cystic echinococcosis: a new hope for the future? *Biomed Res Int* 2015;2015:428205.
22. Nunnari G, Pinzone MR, Gruttadauria S, Celesia BM, Madeddu G, Malaguarnera G, *et al.* Hepatic echinococcosis: clinical and therapeutic aspects. *World J Gastroenterol* 2012;18(13):1448-58.
23. Grenouillet F, Chauchet A, Richou C, Vuitton DA, Knapp J, Millon L, *et al.* Échinococcose alvéolaire : épidémiologie, surveillance et prise en charge. *J Anti-infectieux* 2013;15(4):204-14.
24. Agudelo Higuera NI, Brunetti E, McCloskey C. Cystic echinococcosis. *J Clin Microbiol* 2016;54(3):518-23.

25. Mihmanli M, Idiz UO, Kaya C, Demir U, Bostanci O, Omeroglu S, *et al.* Current status of diagnosis and treatment of hepatic echinococcosis. *World J Hepatol* 2016;8(28):1169-81.
26. Pakala T, Molina M, Wu GY. Hepatic echinococcal cysts: a review. *J Clin Transl Hepatol* 2016;4(1):39-46.
27. Kahlfuß S, Flieger RR, Roepke TK, Yilmaz K. Diagnosis and treatment of cardiac echinococcosis. *Heart* 2016;102(17):1348-53.
28. Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths FJ, Müller N. Laboratory diagnosis of *echinococcus spp.* in human patients and infected animals. *Adv Parasitol* 2017;96:159-257.
29. Centre national de référence échinococcose alvéolaire. Rapport annuel d'activité 2015. Année d'exercice 2014. Besançon: CNR EA; 2015.
http://cnr-echino-alveolaire-ccoms.univ-fcomte.fr/IMG/pdf/Rap_Act_annee_d_exercice_2014.pdf
f
.
30. Siracusano A, Bruschi F. Cystic echinococcosis: progress and limits in epidemiology and immunodiagnosis. *Parassitologia* 2006;48(1-2):65-6.
31. Ito A, Craig PS. Immunodiagnostic and molecular approaches for the detection of taeniid cestode infections. *Trends Parasitol* 2003;19(9):377-81.
32. Siles-Lucas M, Gottstein B. Molecular tools for the diagnosis of cystic and alveolar echinococcosis. *Trop Med Int Health* 2001;6(6):463-75.
33. Akisu C, Delibas SB, Bicmen C, Ozkoc S, Aksoy U, Turgay N. Comparative evaluation of Western Blotting in hepatic and pulmonary cystic echinococcosis. *Parasite* 2006;13(4):321-6.
34. Vuitton DA, Demonmerot F, Knapp J, Richou C, Grenouillet F, Chauchet A, *et al.* Clinical epidemiology of human AE in Europe. *Vet Parasitol* 2015;213(3-4):110-20.

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)	Définir les techniques de recherche d'anticorps anti- <i>Echinococcus</i> considérées aujourd'hui comme les plus appropriées au regard des dernières données de la littérature et de la pratique
Demandeur	Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS)
Promoteur	Haute Autorité de Santé (HAS), Service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Nadia ZEGHARI-SQUALLI, chef de projet, SEAP (chef de service : Cédric CABONNEIL, adjoint au chef de service : Denis Jean DAVID) Secrétariat : Louise Tuil, assistante, SEAP
Participants	Expertise externe à la HAS : Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière, Centre national de référence échinococcoses (CNR-E) - Laboratoire de parasitologie et mycologie, CHRU de Besançon Cf. Chapitre 2.5.1
Recherche documentaire	De janvier 2009 à février 2017 (stratégie de recherche documentaire décrite en Annexe 1) Réalisée par Aurélien DANCOISNE, 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	Nadia ZEGHARI-SQUALLI, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Examen par le 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