

Évaluation de six kits commerciaux pour le diagnostic sérologique de la leishmaniose viscérale méditerranéenne

Maude F. Lévêque, Batterie Emilie, Pascal Delaunay, Badre Eddine Lmimouni, Karim Aoun, Coralie L'Ollivier, Patrick Bastien, Charles Mary, Christelle Pomares, Judith Fillaux, Laurence Lachaud

Version 2 Publié: 25 mars 2020 • <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139>

Abstrait

Contexte

La leishmaniose viscérale zoonotique (LV) est endémique dans le bassin méditerranéen. Cependant, les analyses comparatives à grande échelle des kits commerciaux pour le diagnostic sérologique de cette maladie négligée font défaut. Cette étude a comparé les performances de quatre tests immunoenzymatiques (ELISA) et de deux tests immunochromatographiques (TIC) comme tests de dépistage pour le sérodiagnostic de la CV humaine dans la région méditerranéenne.

Méthodologie / Principaux résultats

Des échantillons de sérum de 319 patients vivant en France, en Tunisie ou au Maroc ont été testés en utilisant deux réactifs ICT (IT LEISH et TruQuick LEISH IgG / IgM Meridian) et quatre réactifs ELISA (NovaLisa *Leishmania infantum* IgG, Bordier *Leishmania infantum*, Ridascreen *Leishmania* IgG et Vircell *Leishmania*). La population avec une CV avérée (n = 181) comprenait 65 patients immunodéprimés. Des pourcentages significativement plus élevés de résultats faussement négatifs ont été obtenus avec tous les tests chez les patients immunodéprimés, par rapport à la population immunocompétente. Dans l'ensemble de la population, la sensibilité et la spécificité variaient respectivement de 80,7% à 93,9% et de 95,7% à 100%. La précision maximale a été observée avec les kits ELISA Bordier et Vircell (96,2%) et la précision la plus faible avec le réactif Ridascreen (88,7%). De nouveaux seuils de positivité sont proposés pour les kits ELISA Bordier, Vircell et NovaLisa pour atteindre une sensibilité de 95% avec la spécificité la plus élevée possible. Le Western blot (WB), utilisé comme méthode de confirmation, a montré une sensibilité de 100% et identifié 10,1% de porteurs asymptomatiques parmi la population témoin du sud de la France.

Conclusions / importance

Il s'agit de la première étude comparant des kits disponibles dans le commerce pour le sérodiagnostic de la LV dans la région endémique du bassin méditerranéen. Il fournit des informations spécifiques sur les performances des tests pour aider les cliniciens et les biologistes à sélectionner le bon test pour le dépistage de la CV.

Résumé de l'auteur

La leishmaniose viscérale humaine (LV) est une maladie endémique négligée dans la région méditerranéenne, causée par *Leishmania infantum*. Un diagnostic précis de la CV est essentiel pour une prise en charge rapide et correcte des patients. Divers tests sérologiques sont utilisés, y compris des kits commerciaux qui nécessitent des qualifications avec des informations spécifiques sur leurs performances. Dans cette étude, nous avons comparé les performances de six kits commerciaux, de deux tests immunochromatographiques (ICT; IT LEISH et TruQuick LEISH IgG / IgM Meridian) et de quatre dosages d'immunosorbants liés aux enzymes (ELISA; NovaLisa *Leishmania infantum* IgG, Bordier *Leishmania infantum*, Ridascreen *Leishmania* IgG et Vircell *Leishmania*), disponible en France et utilisé comme tests de dépistage. Les réactifs Bordier et Vircell ELISA ont affiché les performances analytiques les plus élevées par rapport à tous les autres kits. Cependant, aucun test n'a montré une sensibilité de 95% aux seuils recommandés par les fabricants. Pour atteindre cette valeur de sensibilité avec la plus grande spécificité possible, de nouveaux seuils sont proposés pour les réactifs Bordier, Vircell et NovaLisa ELISA. Les résultats positifs et négatifs obtenus avec les six tests de dépistage ont été confirmés par Western blot (100% de sensibilité). Dans l'ensemble, cette étude présente une analyse comparative des kits disponibles dans le commerce pour le sérodiagnostic de la CV humaine et fournit des informations complémentaires sur la prévalence des porteurs asymptomatiques dans le bassin méditerranéen.

Citation: Lévêque MF, Batterie E, Delaunay P, Lmimouni BE, Aoun K, L'Ollivier C, et al. (2020) Évaluation de six kits commerciaux pour le diagnostic sérologique de la leishmaniose viscérale méditerranéenne. PLoS Negl Trop Dis 14 (3): e0008139. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139>

Editeur: Camila I. de Oliveira, Instituto Goncalo Moniz-FIOCRUZ, BRÉSIL

Reçu: 9 octobre 2019; **Accepté:** 12 février 2020; **Publié:** 25 mars 2020

Copyright: © 2020 Lévêque et al. Il s'agit d'un article en libre accès distribué sous les termes de la [licence d'attribution Creative Commons](#), qui permet une utilisation, une distribution et une reproduction sans restriction sur n'importe quel support, à condition que l'auteur original et la source soient crédités.

Disponibilité des données: Toutes les données pertinentes se trouvent dans le manuscrit et ses fichiers d'informations complémentaires.

Financement: Le Centre National de Référence des Leishmanioses (LL & PB) a reçu le soutien financier de Santé Publique France (ministère de la Santé). Les bailleurs de fonds n'ont joué aucun rôle dans la conception de l'étude, la collecte et l'analyse des données, la décision de publier ou la préparation du manuscrit.

Intérêts concurrents: les auteurs ont déclaré qu'il n'y avait pas d'intérêts concurrents.

introduction

La leishmaniose viscérale humaine (LV) causée par *Leishmania infantum* est une maladie zoonotique négligée, mais grave, qui survient principalement en Amérique latine et dans la région méditerranéenne [1]. Les chiens sont le principal réservoir de *L. infantum* transmis à l'homme par la piqûre de phlébotomes infectés. Chez l'homme, l'infection peut être asymptomatique ou conduire à une forme aiguë caractérisée par une fièvre irrégulière, une perte de poids, une splénomégalie, une hépatomégalie, une anémie ou une pancytopenie [2]. Si elle n'est pas traitée, l'infection est souvent mortelle. Un diagnostic précis, qui est essentiel pour contrôler l'infection, repose sur des données épidémiologiques, des caractéristiques cliniques et des tests de laboratoire. La détection des parasites par examen microscopique des aspirats de moelle osseuse est la méthode de référence, mais manque de sensibilité et nécessite des procédures invasives [3]. La culture de parasites isolés chez des patients pourrait améliorer la sensibilité diagnostique. La recherche d'anticorps spécifiques dans le sérum ou le plasma, tout en nécessitant un prélèvement non invasif, reste la méthode la plus utilisée pour le diagnostic de la CV. Cependant, les tests sérologiques ont tendance à être moins sensibles chez les enfants de moins de trois ans [4 , 5] et chez les patients immunodéprimés [6 , 7]. Actuellement, la détection moléculaire est considérée comme la méthode la plus fiable [8 , 9], avec une sensibilité supérieure à 95% pour l'analyse PCR sur sang périphérique [10]. Pourtant, cette technique est limitée à des laboratoires bien équipés et est souvent associée à des tests sérologiques dans les pratiques de routine [3].

Diverses méthodes sont utilisées pour le sérodiagnostic de la CV. La détection qualitative des anticorps *Leishmania* est basée sur la méthode Western blot (WB) et les tests immunochromatographiques (ICT), tandis que les résultats quantitatifs sont obtenus par immunofluorescence indirecte, agglutination directe et tests immuno-enzymatiques (ELISA). La technique WB, en utilisant *L. infantum*, est une méthode très sensible et spécifique pour confirmer le sérodiagnostic de la CV [11 , 12]. Cette technique prend du temps et est assez coûteuse, donc complexe à mettre en œuvre pour les enquêtes de terrain et les premiers dépistages sérologiques. A l'inverse, les TIC basées sur la *Leishmania* recombinante rk39, sont bien adaptées pour les tests sur le terrain. En effet, ils sont rapides et faciles à réaliser, et affichent de bonnes performances pour le diagnostic précoce de la LV [13]. Parmi les méthodes quantitatives, l'ELISA à base d'antigènes solubles bruts ou de la protéine recombinante rk39, est largement utilisée pour le criblage initial de la VL [3 , 7], mais leurs performances sont influencées par la nature, la pureté et la stabilité des antigènes utilisés [14]. Dans ce contexte, les kits commerciaux peuvent offrir des procédures plus uniformes pour la préparation d'antigène, par rapport aux dosages faits maison, et fournir des conditions expérimentales standardisées. Cependant, les études à grande échelle comparant les performances des dosages commerciaux font défaut [5 , 7]. Une étude récente au Brésil a comparé, pour la première fois, différents kits testés dans le même état et dans la même population [5]. De même, dans la présente étude, nous avons évalué les performances de six tests commerciaux pour le diagnostic de la CV humaine dans la région méditerranéenne. Nous avons comparé la sensibilité et la spécificité de deux ICT et quatre kits ELISA, réévalué leurs seuils de positivité et analysé leurs avantages et inconvénients pour le diagnostic de routine. Enfin, nous utilisons une technique de Western blot pour confirmer le statut sérologique de la CV et des patients sains, et discutons des résultats positifs discordants obtenus chez certains patients asymptomatiques vivant dans le sud de la France, une zone d'endémie de la CV dans le bassin méditerranéen.

matériel et méthodes

Cette étude est conforme à la mise à jour des normes de déclaration de l'exactitude diagnostique (STARD) [15]. La liste de contrôle STARD et un diagramme indiquant le flux des participants à travers l'étude sont présentés dans la [liste de contrôle S1](#) et la [figure S1](#), respectivement.

Site d'étude

Cette étude a été réalisée au Service de Parasitologie et Mycologie du CHU de Montpellier, France, pour le compte du Centre National de Référence des Leishmanioses (CNRL) de janvier à août 2019.

Conception de l'étude et échantillons humains

Six kits commerciaux ont été évalués à partir d'échantillons de sérum humain prélevés entre 1998 et 2018 et conservés à -20 ° C aux Hôpitaux Universitaires de Montpellier (n = 171), Nice (n = 138) et Marseille (n = 5), France, à l'hôpital militaire Mohamed V de Rabat (n = 16), Maroc, et à l'Institut Pasteur de Tunis (n = 10), Tunisie. Au total, 340 échantillons ont été analysés pour cette étude comparative. Tous les échantillons ont été envoyés au CNRL à des fins épidémiologiques et analytiques et conservés à -20 ° C. Parmi les échantillons de sérum, 202 échantillons positifs à la LV ont été sélectionnés pour atteindre une sensibilité de 95% et une précision de 3%. Les échantillons positifs provenaient de patients qui vivaient dans le bassin méditerranéen et affichent au moins un signe clinique de VL (*i. E.*, splénomégalie, hépatomégalie, anémie, leucopénie ou thrombocytopenie). Le diagnostic de la CV chez ces patients a été confirmé par détection microscopique des parasites, culture ou analyse PCR. Pour atteindre une spécificité minimale de 90% et une précision de 5%, 138 échantillons de sérum négatifs ont été inclus. Les échantillons négatifs provenaient de patients immunocompétents qui vivaient dans le sud de la France et ne présentaient aucun symptôme typique ni antécédents de LV.

Déclaration d'éthique

Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique de la recherche du CHU de Montpellier (numéro de protocole IRB: 2019_IRB_MTP_03-03). Les échantillons de sérum humain ont été anonymisés et les tests de diagnostic ont été effectués en aveugle. Ce travail a été réalisé conformément aux directives et réglementations en vigueur, et ne fournit aucune information susceptible de permettre l'identification des patients inscrits.

Tests sérologiques

Des kits commerciaux disponibles en France pour détecter les anticorps humains contre le *Leishmania* ont été utilisés dans cette étude. Quatre kits ELISA ont été inclus: NovaLisa *Leishmania infantum* IgG, Bordier *Leishmania infantum*, Ridascreen *Leishmania* IgG et Vircell *Leishmania*. Les sérums ont été incubés dans des microplaques, contenant jusqu'à 96 puits recouverts de *Leishmania* spécifique aux kits antigènes, pendant 1h avec Novalisa, 45min pour Vircell, 30min pour Bordier et 15 min pour Ridascreen. Ensuite, les puits ont été lavés et incubés avec le conjugué pendant 30 min en utilisant Novalisa, Bordier et Vircell, et 15 min pour Ridascreen. Après une seconde étape de lavage, les plaques ont été incubées avec le substrat pendant 15 min en utilisant Novalisa et Ridascreen, 20 min pour Vircell et 30 min pour Bordier. Les quatre dosages ont été réalisés sur l'automate Evolis (BIO-RAD) et l'absorbance a été mesurée à 450 nm. Les résultats ont été calculés comme la valeur d'absorbance de l'échantillon divisée par la moyenne des valeurs d'absorbance des contrôles de coupure, multipliée par dix pour Novalisa, Vircell et Ridascreen. Pour le dépistage par ICT, les échantillons ont été traités manuellement à l'aide des tests IT LEISH et TruQuick LEISH

IgG / IgM Meridian, selon les instructions des fabricants. Le kit *Leishmania* IgG a été utilisé avec l'appareil Autoblots 3000 (MedTEC) selon les instructions du fabricant. Des bandes spécifiques à 14 kDa ou 16 kDa ont démontré la présence d'anticorps anti-*Leishmania* dans l'échantillon. Les caractéristiques de chaque test sont énumérées dans le [tableau 1](#).

Commercial kit	Manufacturer	Method	Threshold	Sample type and Time	Antigen
NOVALISA® <i>Leishmania</i> infection IgG	Novartis Immunodiagnostica GmbH	ELISA	Negative < 8 Epitope 16-12 Positive > 11	Serum 1h@1	2.50 <i>L. infantum</i> antigen
BORDIER® <i>Leishmania</i> infection	Bordier Allergo-products	ELISA	Negative < 1 Epitope 16-12 Positive > 11	Serum 3h@1	2.50 Métite antigen from <i>L. infantum</i> promastigotes
RIDASCREEN® <i>Leishmania</i> IgG	R. Ridascreen AG	ELISA	Negative < 4 Epitope 16-12 Positive > 11	Serum 1h@1	2.50 Recombinant <i>L. infantum</i> antigen
VirCELL® <i>Leishmania</i> IgG/IgM	Viracell S.L.	ELISA	Negative < 8 Epitope 16-12 Positive > 11	Serum 1h@1	2.50 <i>L. infantum</i> antigen
IT-LEISH	BD-BD Diagnostic Systems, Inc.	ICT	Positive Control < 1µg bands	Serum/Whole blood 15-30@1	0.50 Recombinant <i>L. infantum</i> antigen
TRUQUICK® <i>Leishmania</i> IgG/IgM	Meridian Bioscience	ICT	Positive Control < 1µg and/or 1µg bands	Serum/Whole blood	0.50 Recombinant <i>L. infantum</i> antigen
<i>Leishmania</i> Western Blot IgG	ED-BD Diagnostic	Western blot	Positive 14 kDa marker 16 kDa band	Serum 2h@1	0.50 Antigen from <i>L. infantum</i> promastigotes

Tableau 1. Caractéristiques des kits commerciaux pour le diagnostic sérologique de la leishmaniose viscérale humaine.
L'astérisque correspond à la durée totale de l'analyse de 96 puits.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.t001>

analyses statistiques

Les caractéristiques de la population étudiée ont été décrites en utilisant des pourcentages et des médianes ainsi que des plages interquartiles au lieu de moyennes et d'écart-types lorsque les distributions se sont avérées non gaussiennes. Les tests de dépistage ont été évalués par rapport aux parasitologiques (*i. E.* microscopie, culture) et diagnostic moléculaire. La sensibilité et la spécificité ont été calculées en utilisant tous les échantillons de sérum inclus dans l'étude. Le taux de sensibilité a été calculé comme le nombre de patients avec CV qui ont été testés positifs divisé par le nombre total de patients avec CV ($n = 181$). Le taux de spécificité a été calculé comme le nombre de patients non-LV qui ont été testés négatifs divisé par le nombre total de patients non-LV ($n = 138$). Le taux d'exactitude a été calculé en divisant le nombre de patients avec une CV qui ont été testés positifs plus le nombre de patients non-LV dont le résultat était négatif divisé par le nombre total de patients testés ($n = 319$) [5]. Les résultats ont été analysés à l'aide de courbes ROC (Receiving Operating Characteristic) pour déterminer le ou les seuils les plus appropriés pour chaque test de dépistage quantitatif. Les valeurs de sensibilité et de spécificité ont été comparées en testant l'égalité des proportions. Les aires sous la courbe (AUC) ont été comparées avec le test χ^2 . Le seuil de signification a été fixé à 5%. Tous les tests et procédures statistiques ont été réalisés à l'aide du progiciel statistique Intercooled Stata 9.2 (StataCorp, College Station, TX).

Résultats

Caractéristiques de la population, échantillons et dosages

Nous avons examiné des échantillons de sérum de patients vivant en France, en Tunisie et au Maroc. Parmi la population de LV, le sex-ratio femme / homme était de 2: 3 et l'âge variait de 1 à 93 ans avec une médiane de 33 ans [IQR 28–44]. En raison de la faible quantité de certains échantillons, parmi les 340 sérums inclus dans cette étude, 339 sérums ont été criblés avec LDBio, 338 avec IT-LEISH, 335 avec TruQuick, 339 avec Bordier et Ridascreen, 335 avec NovaLisa et 322 avec Vircell. Parmi ces sérums, un jeu de données complet était disponible pour 319 échantillons. La population LV ($n = 181$) comprenait 98 patients immunocompétents et 65 patients immunodéprimés (VIH: $n = 49$, transplantation: $n = 4$, traitements immunosuppresseurs $n = 12$) et 18 patients avec un statut immunitaire inconnu qui ont été inclus dans le groupe immunocompétent ($n = 116$). [S2 Fig](#) présente la distribution des valeurs d'index obtenues à l'aide des quatre kits ELISA, en fonction du statut immunitaire des patients, et montre que les valeurs spécifiques des kits ne peuvent être comparées entre elles.

Comparaison des performances des tests

Pour comparer les performances des différents kits ICT et ELISA, nous avons évalué leur sensibilité, leur spécificité et leur exactitude dans les 319 échantillons testés avec tous les kits ([Tableau 2](#)). Nous avons interprété les résultats des quatre kits ELISA en utilisant les valeurs seuils de détection des anticorps recommandées par les fabricants ([Tableau 1](#)). Les résultats trouvés dans la zone grise définie par le fabricant de Vircell ($n = 16$), Ridascreen ($n = 10$) et NovaLisa ($n = 11$) ont été considérés comme positifs. Dans l'ensemble, la sensibilité et la spécificité des kits ICT et ELISA variaient respectivement de 80,7% à 93,9% et de 95,7% à 100%. Parmi tous les tests, les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec les kits Bordier et Vircell, affichant tous deux 96,2% de précision. En comparant le rapport de vraisemblance maximum de l'ELISA calculé par les courbes ROC, nous avons constaté que le kit Bordier affichait des performances analytiques significativement plus élevées que les dosages Ridascreen et NovaLisa, alors qu'il était comparable à Vircell dans l'ensemble de la population ([Fig 1](#)). À l'inverse, les quatre kits ELISA ont donné des résultats similaires lorsque seuls les échantillons de patients immunocompétents atteints de LV ont été pris en compte ([Tableau S1](#)). Dans cette population, la sensibilité de chaque test a été améliorée ([tableau S2](#)). Chez les patients immunodéprimés, la distribution globale des valeurs d'index était significativement plus faible que dans la population immunocompétente ([Fig S2](#)). De plus, dans le groupe VL-positif, le nombre de résultats faussement négatifs était significativement plus élevé chez les patients immunodéprimés que dans la population immunocompétente ([Tableau 3](#)).

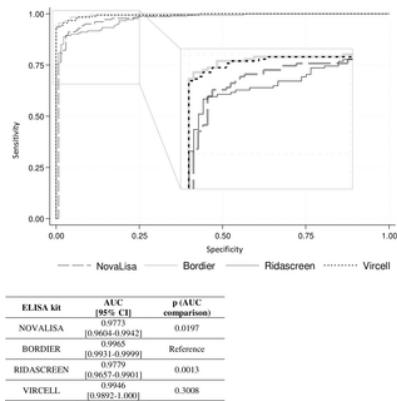


Fig 1. Comparaison des courbes ROC pour les quatre tests ELISA.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.g001>

Manufacturer	Sensitivity (%) [95% CI]	Specificity (%) [95% CI]	Accuracy (%) [95% CI]	p (accuracy comparison)
NOVALISA	89.79 (86.1-93.5)	98.89 (98.3-99.4)	92.79 (91.7-93.6)	0.043
BORDIER	89.69 (86.06-93.3)	100 (100-100)	96.29 (94.1-98.5)	Reference
RIDASCREEN	86.79 (83.85-89.6)	98.79 (98.1-99.5)	88.79 (87.2-90.2)	<0.001
VIRCELL	89.79 (86.1-93.5)	98.79 (98.1-99.5)	96.29 (94.1-98.5)	<0.001
IT LEISH	89.79 (86.1-93.5)	98.79 (98.1-99.5)	92.79 (91.7-93.6)	0.009
TRUQUICK	89.79 (86.1-93.5)	98.79 (98.1-99.5)	92.79 (91.7-93.6)	0.043

Tableau 2. Sensibilité, spécificité et précision des kits commerciaux testés.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.t002>

Manufacturer	Immune-susceptible (n = 186)	Immune-compromised (n = 45)	p
NOVALISA	7 (3.8%)	12 (26.7%)	0.009
BORDIER	2 (1.1%)	10 (22.2%)	<0.001
RIDASCREEN	4 (2.2%)	27 (59.9%)	<0.001
VIRCELL	1 (0.5%)	10 (22.2%)	<0.001
IT LEISH	4 (2.2%)	19 (42.2%)	<0.001
TRUQUICK	4 (2.2%)	12 (26.7%)	0.004

Tableau 3. Comparaison des résultats faussement négatifs chez les patients atteints de leishmaniose viscérale selon leur statut immunitaire.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.t003>

Ajustement du seuil des réactifs ELISA

Une sensibilité et une spécificité de 95% et 98%, respectivement, sont recommandées pour le diagnostic de la CV [5 , 16]. Cependant, dans l'ensemble de la population (n = 319), aucun des kits ELISA n'a atteint une sensibilité de 95% en utilisant les seuils recommandés par les fabricants, même si la spécificité a varié de 96,38% à 100% (**Tableau 2**). Par conséquent, nous avons estimé les seuils de positivité pour obtenir une sensibilité de 95% avec la spécificité la plus élevée possible (**Tableau 4**). Pour atteindre ces paramètres, toutes les valeurs de coupure ont dû être réduites. Par exemple, pour le kit Bordier, une diminution du seuil positif de 1 à 0,746 a donné une spécificité de 99,3%. Après ajustement du seuil positif, la spécificité des dosages Ridascreen et Novalisa était significativement inférieure à celle de Bordier, alors qu'il n'y avait pas de différence statistique entre Bordier et Vircell.

ELISA kit	Manufacturer	Threshold	Sensitivity (%) [95% CI]	Specificity (%) [95% CI]	p (specificity)
Vircell	0-11	2,666	95.03	97.87 (96.2-99.6)	0.002
Novalisa	0-11	2,666	95.03	96.38 (94.8-98.0)	<0.001
Ridascreen	0-11	1,875	95.03	91.08 (87.9-94.3)	<0.001
Bordier	1	0,746	95.03	99.29 (98.9-100)	Reference

Tableau 4. Sensibilité et spécificité des quatre tests ELISA en utilisant les seuils proposés.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.t004>

Confirmation des résultats par Western blot

Le Western blot est utilisé dans la pratique de routine pour confirmer les résultats équivoques ou positifs obtenus par les tests de dépistage initiaux. L'analyse Western blot des échantillons de sérum de patients avec une CV avérée (n = 181) a confirmé les résultats dans 100% des cas (**Fig 2**). En revanche, dans la population témoin (n = 138), 12 échantillons de sérum ont été identifiés comme positifs par au moins un kit ICT ou ELISA. L'analyse de ces échantillons par Western blot a indiqué que sept échantillons étaient négatifs (n = 4 positifs avec Novalisa, n = 2 positifs avec TruQuick et n = 1 positif avec les kits Ridascreen, IT LEISH et TruQuick). D'autre part, nous avons confirmé une détection positive dans cinq échantillons (n = 1 Novalisa, n = 1 Vircell, n = 3 TruQuick). Par conséquent, nous avons analysé tous les échantillons du groupe témoin (n = 138) pour évaluer quel était le pourcentage de patients qui ne présentaient aucun symptôme de CV mais présentaient une détection positive par Western blot. Au total, nous avons trouvé 14 échantillons positifs (10,1%) dans la population témoin.

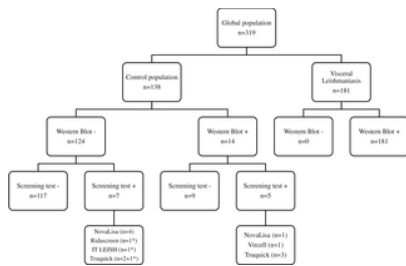


Fig 2. Confirmation des résultats des tests de dépistage par Western blot.

L'astérisque correspond au même patient qui a été trouvé positif avec les kits Ridascreen, IT LEISH et TruQuick. Les résultats des tests ELISA positifs ont été définis selon les valeurs seuils recommandées par le fabricant.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.g002>

Discussion

Au cours des 70 dernières années, diverses méthodes ont été utilisées pour le diagnostic sérologique de la VL causée par *L. infantum* chez l'homme [17], y compris les kits commerciaux qui nécessitent des qualifications avec des informations spécifiques sur leurs performances [5]. Dans cette étude, nous avons évalué les performances analytiques des kits disponibles dans le commerce selon différentes méthodes: ELISA, ICT et WB. L'une des limites de cette étude est que nous n'avons pas inclus de patients immunodéprimés dans la population saine. Par conséquent, nous n'avons pas pu comparer la précision des tests en fonction du statut immunitaire. En outre, le groupe témoin ne comprenait pas de patients atteints de maladies connues pour avoir des réactions croisées avec des anticorps anti- *Leishmania* (i. e . tuberculose, trypanosomiase, toxoplasmose, lèpre ou maladies auto-immunes [3 , 7]). L'utilisation d'une population saine peut avoir influencé la forte spécificité observée pour tous les tests (> 95%).

Parmi les six tests utilisés pour le dépistage des anticorps, aucun n'a atteint la sensibilité recommandée de 95% pour le diagnostic de la CV (14). Par conséquent, nous avons abaissé les seuils de positivité des réactifs ELISA pour obtenir une sensibilité de 95% avec la spécificité la plus élevée possible. Aucune zone grise n'étant définie par le fabricant de Bordier, nous recommandons d'interpréter les valeurs d'index entre 0,7 et 1 comme des résultats équivoques ou positifs. En utilisant ces valeurs de coupure, le kit Bordier a affiché la spécificité la plus élevée (> 99%). Nous proposons d'élargir les valeurs seuils recommandées par le fabricant Vircell de 9–11 à 8–11, donnant une spécificité comparable à celle de Bordier. Nous suggérons également de réduire le seuil de positivité Novalisa de 9 à 6, bien que cela entraînerait une diminution significative de la spécificité et l'utilisation de tests de confirmation supplémentaires, par rapport aux dosages Bordier et Vircell. De plus, les valeurs seuil (1,5–11) du kit Ridascreen requises pour atteindre une sensibilité de 95% réduisaient considérablement la spécificité (81,9%), rendant ainsi ce test moins adapté au dépistage de routine.

Peu d'études ont évalué les performances des TIC pour le diagnostic de la CV zoonotique [16]. Cependant, les kits TIC commerciaux représentent le meilleur choix pour un dépistage sérologique rapide, facile et efficace de la LV [17]. Dans cette étude, les performances de TruQuick et IT-LEISH étaient inférieures à celles des kits ELISA Bordier et Vircell, mais leur précision estimée était comparable à celle de Novalisa et supérieure à celle des kits Ridascreen ELISA dans l'ensemble de la population. Les TIC présentent plusieurs avantages par rapport aux kits ELISA en termes de praticabilité. Premièrement, TruQuick et IT-LEISH peuvent également être effectués sur du sang total, facilitant ainsi le dépistage sur le terrain. Il est à noter que les performances de plusieurs kits ICT commerciaux sur sang total ont été jugées comparables à celles obtenues dans des échantillons de sérum [18]. Deuxièmement, ils fournissent des résultats qualitatifs en 15 à 25 minutes par rapport aux 2,5 à 3,5 heures avec les kits ELISA. De plus, le volume d'échantillon requis pour les TIC est inférieur à celui de l'ELISA lors de l'utilisation de processeurs automatisés.

Récemment, Freire *et al.* ont comparé un kit ICT (IT LEISH) et trois kits ELISA (Vircell, Novalisa et Ridascreen) au Brésil [5]. La spécificité globale de ces kits commerciaux (> 95% dans l'ensemble de la population) était comparable dans notre étude et dans les travaux de Freire *et al.*, sauf Ridascreen (spécificité <85% au Brésil). Inversement, alors que Ridascreen affichait la valeur de sensibilité la plus élevée au Brésil, nous avons constaté que ce test avait la sensibilité la plus faible parmi tous les kits que nous avons évalués. En revanche, la sensibilité et la spécificité de l'IT LEISH ICT étaient similaires dans les deux études, bien que nos valeurs soient légèrement plus élevées dans l'ensemble de la population. Ces différences pourraient s'expliquer par la variabilité des antigènes des parasites de différentes régions géographiques et par la réactivité croisée avec d'autres pathogènes endémiques, comme le souligne l'évaluation des TIC de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [19]. Enfin, comme Freire *et al.* [5] et autres travaux [6 , 7] qui rapportaient des performances inférieures des tests sérodiagnostiques chez les patients immunodéprimés, nous avons trouvé un nombre plus élevé de résultats faussement négatifs chez les individus immunodéprimés avec LV. En Europe, une méta-analyse a conclu que les tests sérologiques ne devraient pas être utilisés pour exclure un diagnostic de CV chez les patients infectés par le VIH [20]. Dans une étude récente en Espagne, la sensibilité du rk39-ICT est passée de 78% à 67,3% dans cette population [21]. Ces résultats soutiennent l'utilisation d'analyses moléculaires comme méthode alternative pour le diagnostic de la LV chez les patients immunodéprimés.

Cernant le WB, cette technique est actuellement utilisée pour confirmer les résultats positifs obtenus par dépistage sérologique. Sa spécificité doit être discutée en tenant compte de l'existence de porteurs asymptomatiques. Le test cutané de Leishmanin [22], l'hémoculture [23] et la WB [11 , 12] pourraient en effet détecter une infection ou un contact parasitaire chez un patient sans LV. Ici, 10,1% de la population témoin était positive par WB. Cette valeur est cohérente avec une étude plus large réalisée en Italie montrant 7,41% de porteurs asymptomatiques par WB [24]. Ainsi, un résultat positif par WB doit être discuté et interprété sur la base des données biologiques et cliniques pour faire la distinction entre la maladie et le portage asymptomatique.

En conclusion, les kits ELISA Vircell et Bordier ont affiché des taux de précision significativement plus élevés dans l'ensemble de la population que les autres tests. Néanmoins, nous avons dû diminuer les valeurs seuils pour améliorer les performances des quatre tests ELISA. Pour les études de terrain, le TruQuick ICT est le plus adapté avec des performances satisfaisantes. Chez les patients immunodéprimés, les valeurs d'index de tous les réactifs ELISA étaient significativement plus faibles que dans la population immunocompétente et les faux négatifs étaient plus fréquents, comme indiqué précédemment [20]. Cette comparaison de kits peut aider à sélectionner la méthode la plus appropriée, en utilisant les seuils les plus appropriés, et à mieux comprendre les limites de chaque test.

Renseignements à l'appui

Liste de contrôle S1. Liste de contrôle STARD pour la notification des études d'exactitude diagnostique.

La liste de contrôle STARD décrit la conception de l'étude actuelle afin d'améliorer l'exactitude et l'exhaustivité des rapports.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.s001>
(DOCX)

S1 Fig. Diagramme indiquant le flux des participants à travers l'étude.

P: positif; N: négatif; I: indéterminé; Boîtier orange: condition cible présente; Cas vert: condition cible absente.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.s002>
(TIF)

S2 Fig. Distribution des titres d'anticorps anti- *Leishmania infantum* pour les quatre tests ELISA en fonction du statut immunitaire des patients.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.s003>
(TIF)

Tableau S1. Comparaison des courbes ROC pour les quatre tests ELISA dans la population immunocompétente.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.s004>
(DOCX)

Tableau S2. Sensibilité, spécificité et précision des kits commerciaux testés dans la population immunocompétente.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.s005>
(DOCX)

Tableau S3. Feuille de calcul de données brutes.

Négatif = 0; Positif = 1; Cellule grise = inconnue; Cellule rose = immunosuppression; Cellule orange = zone grise; Cellule jaune = discordance.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008139.s006>
(XLSX)

Remerciements

Nous remercions Patricia Gasq, Patrick Lami, Marie-Line Loiry pour l'assistance technique et Nicolas Molinari pour l'aide à la conception de l'étude.

Les références

1. Prêt PD. Epidémiologie de la leishmaniose viscérale. *Clin Epidemiol.* 2014; 6: 147-154. pmid: 24833919
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
2. van Griensven J, Diro E. La leishmaniose viscérale: progrès récents dans les diagnostics et les régimes de traitement. *Infect Dis Clin North Am.* 2019; 33: 79-99. pmid: 30712769
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
3. Elmahallawy EK, Sampedro Martinez A, Rodriguez-Granger J, Hoyos-Mallecot Y, Agil A, Navarro Mari JM, et al. Diagnostic de la leishmaniose. *J Infect Dev Ctries.* 2014; 8: 961-972. pmid: 25116660
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
4. Cruz I, Chicharro C, Nieto J, Bailo B, Cañavate C, Figueras MC, et al. Comparaison de nouveaux outils de diagnostic pour la prise en charge de la leishmaniose viscérale pédiatrique méditerranéenne. *J Clin Microbiol.* 2006; 44: 2343-2347. pmid: 16825347
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
5. Freire ML, Machado de Assis T, Oliveira E, Moreira de Avelar D, Siqueira IC, Barral A, et al. Réalisation des tests sérologiques disponibles au Brésil pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale humaine. 2019; 13: e0007484. pmid: 31318856
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
6. Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Cañavate C, Dedet JP, et al. La relation entre la leishmaniose et le sida: la deuxième 10 ans. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21: 334-359, table des matières. pmid: 18400800
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
7. Deniau M, Cañavate C, Faraut-Gambarelli F, Marty P. Le diagnostic biologique de la leishmaniose chez les patients infectés par le VIH. *Ann Trop Med Parasitol.* 2003; 97 Suppl 1: 115-133. pmid: 14678639
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
8. Duthie MS, Lison A, Courtenay O. Progrès vers des outils de diagnostic pour la gestion de la leishmaniose viscérale zoonotique. *Trends Parasitol.* 2018; 34: 881-890. pmid: 30131210
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
9. Antinori S, Calattini S, Longhi E, Bestetti G, Piolini R, Magni C, et al. Utilisation clinique de la réaction en chaîne par polymérase réalisée sur des échantillons de sang périphérique et de moelle osseuse pour le diagnostic et le suivi de la leishmaniose viscérale chez les patients infectés par le VIH et non infectés par le VIH: une expérience monocentrique de 8 ans en Italie et revue de la littérature. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2007; 44: 1602-1610. pmid: 17516404
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
10. de Ruiter CM, van der Veer C, Leeflang MMG, Deborggraeve S, Lucas C, Adams ER. Outils moléculaires pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale: revue systématique et méta-analyse de la précision des tests diagnostiques. *J Clin Microbiol.* 2014; 52: 3147-3155. pmid: 24829226

[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)

11. Heidari S, Gharechahi J, Mohebbali M, Akhouni B, Mirshahvaladi S, Azarian B, et al. Analyse Western Blot des antigènes de *Leishmania infantum* dans les sérums de patients atteints de leishmaniose viscérale. *Iran J Parasitol*. 2019; 14: 10–19. pmid: 31123464
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
12. Mary C, Lamouroux D, Dunan S, Quilici M. Western blot analyse des anticorps contre les antigènes de *Leishmania infantum*: potentiel des antigènes de 14 kD et 16 kD à des fins de diagnostic et d'épidémiologie. *Suis J Trop Med Hyg*. 1992; 47: 764–771. pmid: 1281966
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
13. Organisation mondiale de la santé, Weltgesundheitsorganisation, éditeurs. Lutte contre les leishmanioses: rapport d'une réunion du Comité OMS d'experts de la lutte contre les leishmanioses, Genève, 22-26 mars 2010. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2010.
14. Kar K. Sérodiagnostic de la leishmaniose. *Crit Rev Microbiol*. 1995; 21: 123–152. pmid: 7639932
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
15. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig L, et al. STARD 2015: une liste mise à jour des éléments essentiels pour le reporting des études d'exactitude diagnostique. *BMJ*. 2015; 351: h5527. pmid: 26511519
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
16. Boelaert M, Verdonck K, Menten J, Sunyoto T, van Griensven J, Chappuis F, et al. Tests rapides pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale chez les patients suspectés de maladie. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014; CD009135. pmid: 24947503
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
17. Maia Z, Lirio M, Mistro S, Mendes CMC, Mehta SR, Badaro R. Étude comparative de l'antigène rK39 *Leishmania* pour le sérodiagnostic de la leishmaniose viscérale: examen systématique avec méta-analyse. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6: e1484. pmid: 22303488
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
18. Kumar D, Khanal B, Tiwary P, Mudavath SL, Tiwary NK, Singh R, et al. Évaluation comparative d'échantillons de sang et de sérum dans des tests immunochromatographiques rapides pour la leishmaniose viscérale. *J Clin Microbiol*. 2013; 51: 3955–3959. pmid: 24048530
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
19. TDR | Performance du test de diagnostic rapide de la leishmaniose viscérale. Dans: OMS [Internet]. [cité le 16 septembre 2019]. Disponible: <https://www.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/vl-rdt-evaluation/en/>
20. Cota GF, de Sousa MR, Demarqui FN, Rabello A. La précision diagnostique des méthodes sérologiques et moléculaires de détection de la leishmaniose viscérale chez les patients infectés par le VIH: méta-analyse. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6: e1665. pmid: 22666514
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
21. Bangert M, Flores-Chávez MD, Llanes-Acevedo IP, Arcones C, Chicharro C, García E, et al. Validation du test immunochromatographique rK39 et test d'agglutination directe pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale méditerranéenne en Espagne. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018; 12: e0006277. pmid: 29494596
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
22. Bekele F, Belay T, Zeynudin A, Hailu A. Leishmaniose viscérale dans certaines communautés des districts de Hamar et Banna-Tsamai dans la basse vallée de l'Omo, dans le sud-ouest de l'Éthiopie: enquêtes séro-épidémiologiques et tests cutanés de leishmanine. *PloS One*. 2018; 13: e0197430. pmid: 29795589
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
23. le Fichoux Y, Quaranta JF, Auvévre JP, Lelievre A, Marty P, Suffia I, et al. Apparition de la parasitémie *Leishmania infantum* chez des donneurs de sang asymptomatiques vivant dans une zone d'endémicité du sud de la France. *J Clin Microbiol*. 1999; 37: 1953–1957. pmid: 10325353
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)
24. Biglino A, Bolla C, Concialdi E, Trisciuglio A, Romano A, Ferroglio E. Infection asymptomatique à *Leishmania infantum* dans une région du nord-ouest de l'Italie (région du Piémont) où ces infections sont traditionnellement non endémiques. *J Clin Microbiol*. 2010; 48: 131-136. pmid: 19923480
[Voir l'article](#) • [PubMed / NCBI](#) • [Google Scholar](#)