



Unité des Virus Émergents

IRD 190 – Inserm 1207



INSTITUT DE RECHERCHE BIOMÉDICALE DES ARMÉES

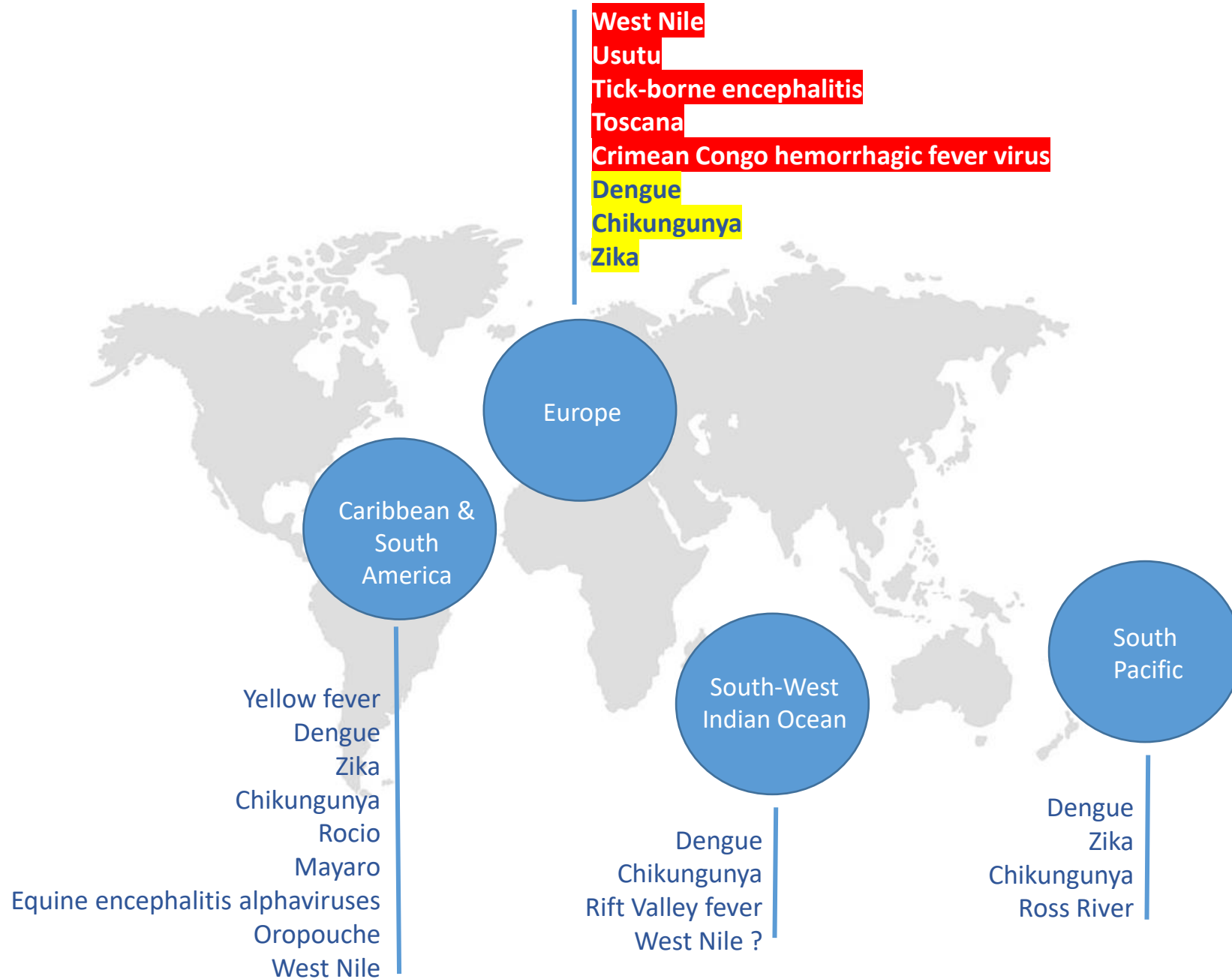


Outils et stratégies diagnostiques des arboviroses en France



Xavier de Lamballerie

DE QUELS VIRUS PARLE-T-ON ?



West Nile

Usutu

Tick-borne encephalitis

Toscana

Crimean Congo hemorrhagic fever virus

Dengue

Chikungunya

Zika

Endémiques

Importés



Arboviroses Zoonotiques



West Nile
Usutu
Tick-borne encephalitis
Toscana
Crimean Congo hemorrhagic fever virus
Dengue
Chikungunya
Zika

Endémiques

En résumé,

- Il existe un cycle naturel de propagation et maintien indépendant de l'homme, avec des animaux réservoirs ou hôtes amplificateurs, et des arthropodes vecteurs
- Le rôle des humains dans la propagation est faible ou nul
- Les virus ne sont PAS introduits en France par des humains infectés



Arboviroses Zoonotiques



- West Nile
- Usutu
- Tick-borne encephalitis
- Toscana
- Crimean Congo hemorrhagic fever virus
- Dengue
- Chikungunya
- Zika



Arboviroses non-Zoonotiques



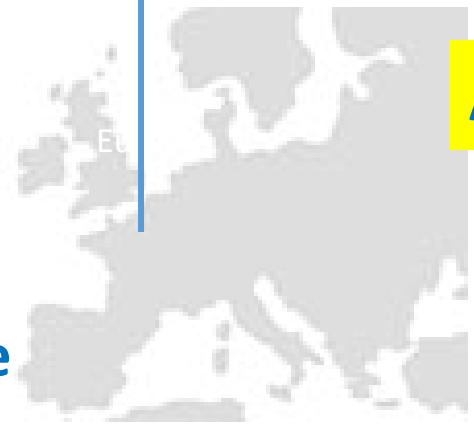
Arboviroses Zoonotiques



- West Nile
- Usutu
- Tick-borne encephalitis
- Toscana
- Crimean Congo hemorrhagic fever virus
- Dengue
- Chikungunya
- Zika

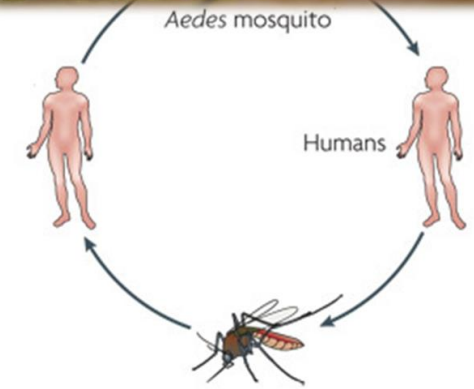
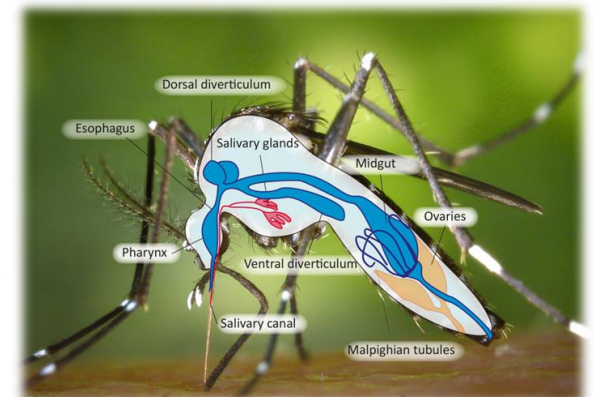


Arboviroses non-Zoonotiques



En résumé,

- L'homme est seul responsable de la propagation
- Les virus SONT introduits en France par des humains infectés
- Pas (en France, pour l'instant) de cycle naturel de propagation et maintien trans-annuel



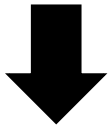
LES OUTILS DIAGNOSTIQUES

Les tests moléculaires
(RT-qPCR)

NS1

Les tests sérologiques
de première ligne
(IgM, IgG ; ELISA/EIA)

Les autres tests
(séroneutralisation,
culture, séquençage)



Position majeure

Première ligne

Tests généralement de bonne qualité

Disponibilité de tests commerciaux, voire automatisés

Interprétation généralement simple

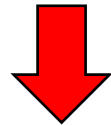
Remboursements SS : dengue, chikungunya, Zika, West Nile

Les tests moléculaires
(RT-qPCR)

NS1

Les tests sérologiques
de première ligne
(IgM, IgG ; ELISA/EIA)

Les autres tests
(séroneutralisation,
culture, séquençage)



Position importante
Première ligne
Discuté plus loin
Remboursement SS

Les tests moléculaires
(RT-qPCR)

NS1

Les tests sérologiques
de première ligne
(IgM, IgG ; ELISA/EIA)

Les autres tests
(séroneutralisation,
culture, séquençage)



Pas aussi simple...

Première ligne

Tests souvent peu spécifiques

Disponibilité de tests commerciaux, voire automatisés, en
cours de développement

Interprétation souvent délicate

Remboursements SS : dengue, chikungunya, Zika, West Nile

Les tests moléculaires
(RT-qPCR)

NS1

Les tests sérologiques
de première ligne
(IgM, IgG ; ELISA/EIA)

Les autres tests
(séroneutralisation,
culture, séquençage)



CNR
Tests de seconde ligne

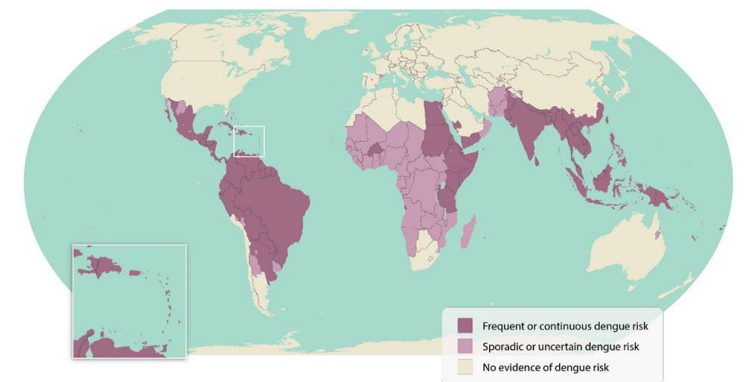
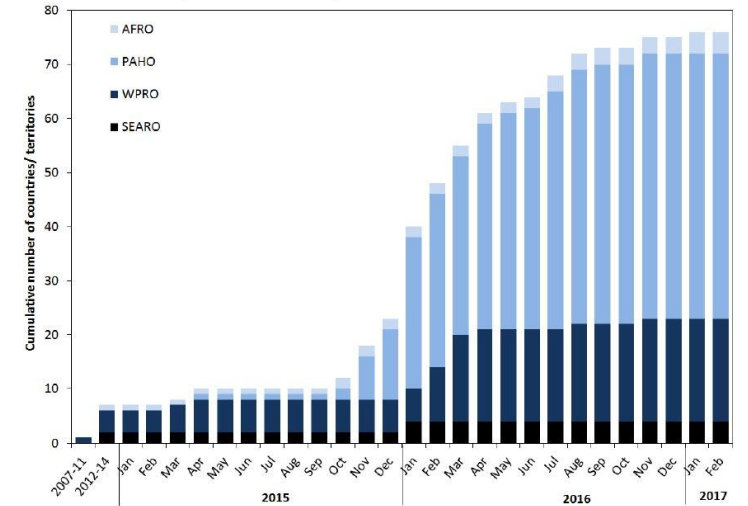
LA DENGUE

Priorité absolue car :

- Flot considérable de cas importés

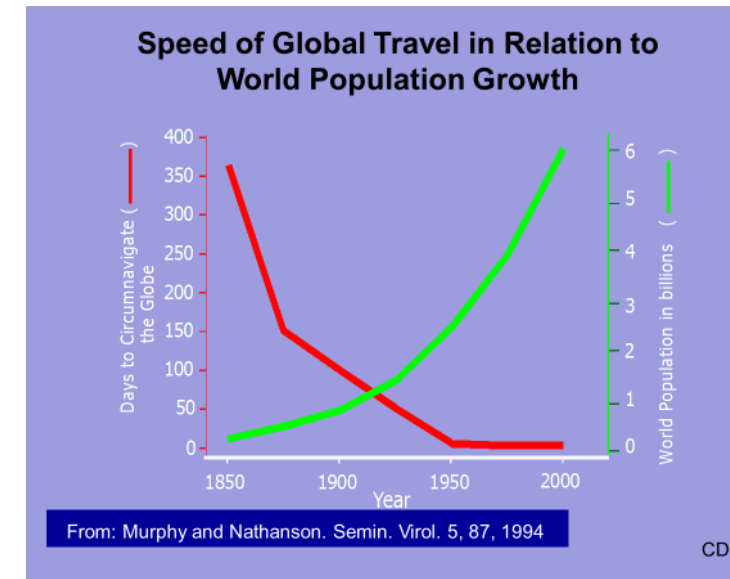
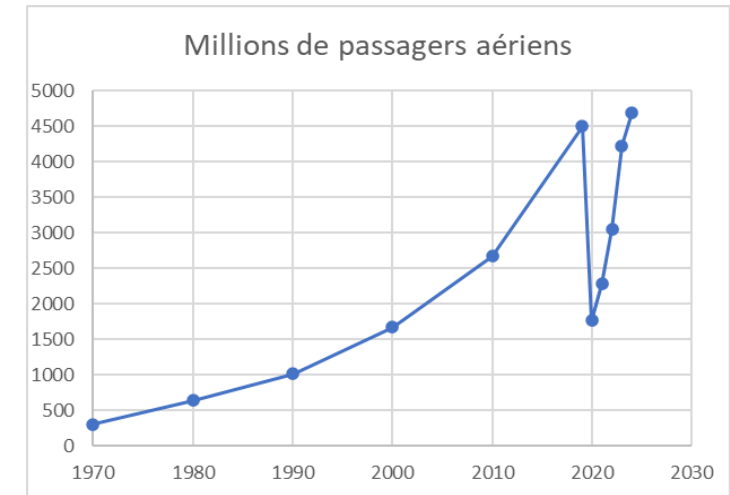
Priorité absolue car :

- Flot considérable de cas importés
 - Épidémiologie mondiale en pleine expansion
 - TUMs français concernés ++



Priorité absolue car :

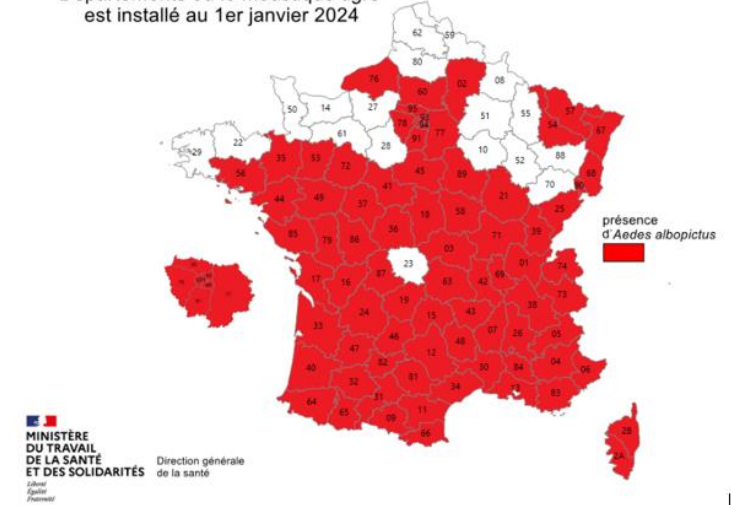
- Flot considérable de cas importés
 - Épidémiologie mondiale en pleine expansion
 - TUMs français concernés ++
 - Augmentation inexorable des voyages aériens



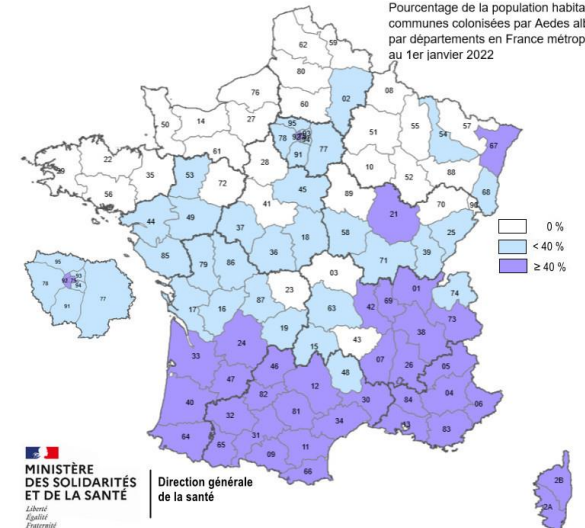
Priorité absolue car :

- Flot considérable de cas importés
 - Épidémiologie mondiale en pleine expansion
 - TUMs français concernés ++
 - Augmentation inexorable des voyages aériens
- Cas autochtones possibles
 - Vecteur omniprésent et exposition avérée

France Métropolitaine
Départements où le moustique tigre
est installé au 1er janvier 2024



Pourcentage de la population habitant des
communes colonisées par *Aedes albopictus*
par départements en France métropolitaine
au 1er janvier 2022



Les enjeux d'actualité

Nécessité d'un renforcement des capacités diagnostiques pour faire face en métropole* :

- *À l'augmentation des cas importés*
- *À l'augmentation des cas autochtones*

Transfert du diagnostic de première ligne :

du CNR vers les LBM hospitaliers et privés (remboursement des tests par la SS)

Situation spécifique des JO 2024 :

Affluence exceptionnelle de voyageurs venant de pays endémiques pour la dengue, pendant la période d'activité vectorielle des Aedes en France.

La maladie

La maladie clinique varie d'une infection asymptomatique ou d'une maladie légère à une maladie grave.

- Communément maladie fébrile aiguë, légère ou modérée, peu spécifique.
- L'infection par un sérotype induit une immunité durable séro-spécifique ; comme il existe 4 sérotypes, les personnes peuvent être infectées plusieurs fois dans leur vie.
- ~ 1 dengue symptomatique sur 20 évolue vers une dengue sévère.
 - + *La seconde infection par le virus DENV est un facteur de risque de dengue sévère**.
 - + *La drépanocytose est associée à un sur-risque considérable de forme sévère et de décès*
 - + *Autres facteurs de risque: grossesse (3^{ème} trimestre), âges extrêmes, pathologies chroniques*
- Le diagnostic, la reconnaissance des **signes d'alerte** et l'instauration rapide d'un traitement intensif réduisent le risque de décès chez les patients atteints de dengue sévère de ~10% à 0,5 % (données OMS).

Diagnostic biologique

Qui tester ?

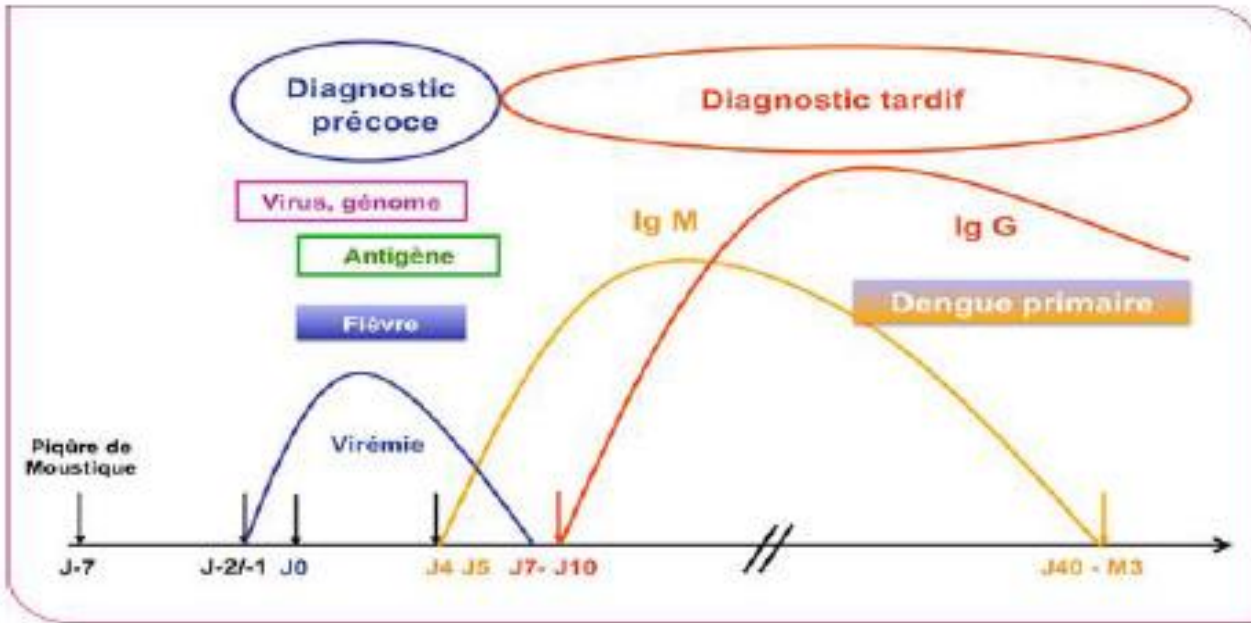
Recommandations du CDC pour le dépistage du virus de la dengue :

+ Toute personne qui vit ou a voyagé dans des zones où le virus de la dengue est transmis et qui a récemment présenté des signes et des symptômes de la dengue*. Ne pas écarter du diagnostic les patients avec des signes évocateurs d'IRA ou des signes neurologiques.

+ Le dépistage du virus de la dengue n'est pas recommandé dans les cas suivants :

- les patients asymptomatiques
- le dépistage pré-conceptionnel

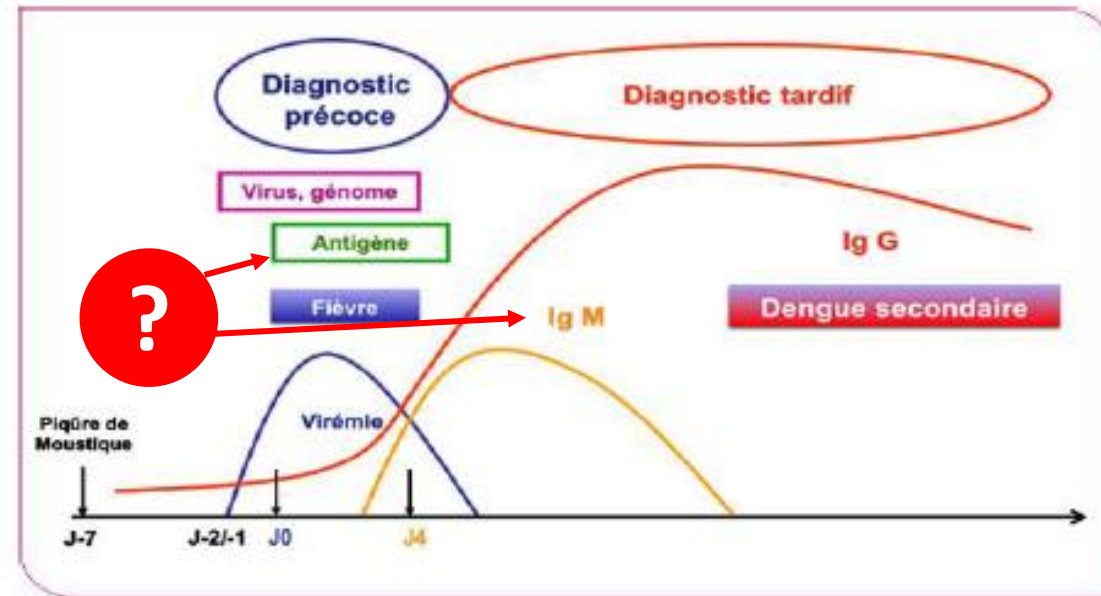
(*) *Le REMIC étend la recommandations aux zones d'implantation des vecteurs en période d'activité vectorielle*



Dengue primaire

Antigène = protéine NS1 excrétée par les cellules infectées

Dengue secondaire



Les tests disponibles:

+ Diagnostic direct :

- Tests moléculaires

Il existe des tests de qRT-PCR, TMA (pas accessibles en France), « in-house » et commerciaux. Ils permettent soit la détection simple, soit le typage, soit détection + typage. Ils sont en général de bonne qualité. Ils doivent détecter les 4 sérotypes.

Ils sont réalisables sur différentes matrices (cf diapositives suivantes)

Le CNR :

+ donne accès à l'intégralité de ses procédures diagnostiques de la dengue par PCR – y compris une procédure 100% automatisée

+ donne accès à des réactifs (amorces+sondes) lyophilisés via la plateforme EVAg (ISO13485)

+ organise des contrôles de qualité moléculaires pour les laboratoires qui le souhaitent

Les tests disponibles:

+ Diagnostic direct :

- Tests moléculaires

Il existe des tests de qRT-PCR, TMA (pas accessibles en France hors EFS), « in-house » et commerciaux. Ils permettent soit la détection simple, soit le typage, soit détection + typage. Ils sont en général de bonne qualité. Ils doivent détecter les 4 sérotypes.

Ils sont réalisables sur différentes matrices (cf diapositives suivantes)

- Tests antigéniques NS1

Il s'agit de tests commerciaux en format de tests rapides, d'Elisa et depuis peu de tests automatisés.

La plupart utilisent du sérum (mais certains du sang total ou du plasma).

Un test positif ne permet pas d'identifier le sérotype.

Un test négatif n'élimine pas l'infection, mais bonne VPP.

Évaluations de tests commerciaux de nouvelle génération en cours (seront mis en ligne sur le site web du CNR)

Les tests disponibles:

+ Diagnostic indirect :

- IgM

Détectent les IgM anti-protéine E. Privilégier les tests d'immunocapture (MAC-ELISA). Durée habituelle autour de 12 semaines.

- IgG

Détectent les IgG anti-protéine E. Persistance très longue (voire à vie).

- Séroneutralisation

Reste le test de référence, réalisable pour les AC totaux, les IgG, ou les IgM spécifiquement (CNR)

Remarques importantes:

+ dengue primaire et dengue secondaire

(i) Dengue secondaire établie en cas de diagnostic antérieur d'une dengue ou de détection d'IgG à taux élevés avant J7.

(ii) Détection de l'antigène NS1 dans les dengues secondaires inconstante avec les tests actuels. Intérêt majeur de l'évaluation de nouveaux tests automatisés et plus sensibles. Réponse au cours des prochains mois.

(iii) Possibilité de dengues secondaires avec remontée des IgG sans détection d'IgM.

+ réactions sérologiques croisées avec d'autres flavivirus (IgG & IgM)

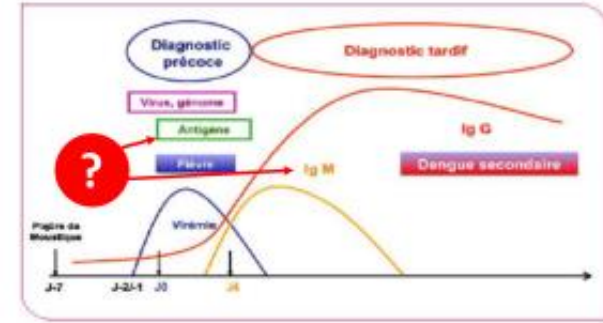
Fréquentes en cas d'infection passée ou en cours par des virus tels que West Nile, Zika, Encéphalite Japonaise, et à un moindre degré Fièvre Jaune et Encéphalite à Tique.

Problèmes limités pour les voyageurs occidentaux non vaccinés, mais majeurs en cas de résidence dans des régions de co-circulation flavivirale ou chez les vaccinés.

En cas de suspicion: tests de séroneutralisation (IgG/IgM avec déplétion des IgG) au CNR.

+ en cas de tests négatifs pour la dengue, toujours envisager la leptospirose

Dengue secondaire



Tests & prélèvements, en résumé (CDC)

Tests	≤7 jours après l'apparition des symptômes	>7 jours après l'apparition des symptômes	Prélèvements
Moléculaires	✓	—	Sérum, plasma, sang total, liquide céphalo-rachidien*
Antigène NS1	✓	—	Sérum ^{\$}
Sérologiques = IgM	✓	✓	Sérum, liquide céphalo-rachidien*
Tissulaires	✓	✓	Tissus fixés

(*) L'analyse du LCR est recommandée chez les patients présentant des signes neurologiques.

(^{\$}) Certains tests autorisent l'utilisation de plasma ou sang total ; performances peu documentées.

Tests & prélèvements, en résumé (CDC)

Tests	≤7 jours après l'apparition des symptômes	>7 jours après l'apparition des symptômes	Prélèvements
Moléculaires	✓	—	Sérum, plasma, sang total, liquide céphalo-rachidien*
Antigène NS1	✓	—	Sérum ^{\$}
Sérologiques = IgM	✓	✓	Sérum, liquide céphalo-rachidien*
Tissulaires	✓	✓	Tissus fixés

Recommandation CDC pour les 7 premiers jours :

Tout échantillon de sérum doit être analysé au moyen d'un test de diagnostic direct (moléculaire ou NS1)
ET
d'un test IgM (meilleur rendement).

Un résultat négatif à un test moléculaire ou à un test NS1 n'est pas concluant.

Tests & prélèvements, en résumé (CDC)

Tests	≤7 jours après l'apparition des symptômes	>7 jours après l'apparition des symptômes	Prélèvements
Moléculaires	✓	—	Sérum, plasma, sang total, liquide céphalo-rachidien*
Antigène NS1	✓	—	Sérum ^{\$}
Sérologiques = IgM	✓	✓	Sérum, liquide céphalo-rachidien*
Tissulaires	✓	✓	Tissus fixés

Recommandation CDC au-delà de 7 jours :

Test IgM seulement

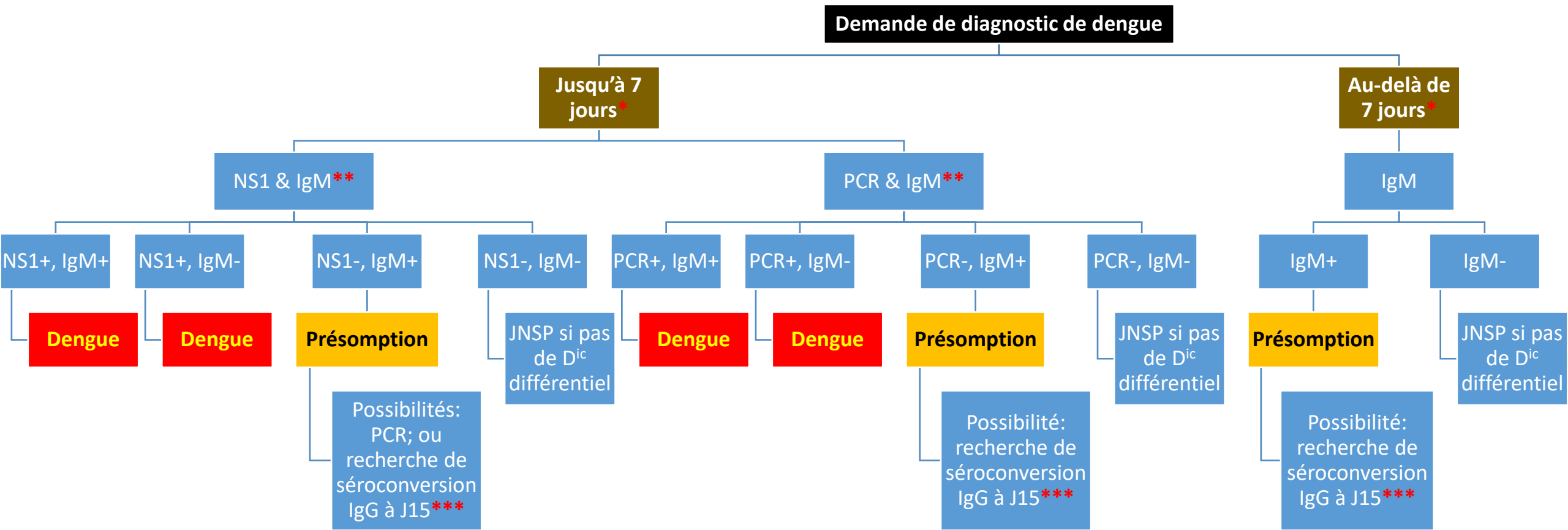
Tests & prélèvements, en résumé (CDC)

Tests	≤7 jours après l'apparition des symptômes	>7 jours après l'apparition des symptômes	Prélèvements
Moléculaires	✓	—	Sérum, plasma, sang total, liquide céphalo-rachidien
Antigène NS1	✓	—	Sérum
Sérologiques: IgM	✓	✓	Sérum, liquide céphalo-rachidien
Tissulaires	✓	✓	Tissus fixés

Tests & prélèvements, en résumé (REMIC)

Tests	Phase aiguë	Phase tardive	Prélèvements
Moléculaires	✓, <7 jours	—	Sérum, plasma
Antigène NS1	✓, <5 jours	—	Sérum
Sérologiques: IgM+IgG	✓, >5 jours	✓	Sérum

Remarque: remboursements actuels basés sur les recommandations du REMIC (PCR jusqu'à J7, NS1 jusqu'à J5 (possibilité d'extension à J7), IgG+IgM à partir de J5 et répétables)



(*): Flexibilité requise, frontière floue et DDS souvent peu précise. Ne pas hésiter à pousser jusqu'à J12.

(**): Contribution diagnostique supérieure après J5 pour les IgM ; possibilité de rechercher les IgG pour caractériser une dengue secondaire

(***): Possible seulement si le premier prélèvement est IgG négatif

Merci pour votre attention

- Directives de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour la classification de la dengue.

En novembre 2009, l'OMS a publié une nouvelle directive qui classe les cas symptomatiques dans la catégorie dengue ou dengue sévère.

- La dengue est définie par une combinaison de ≥ 2 signes cliniques chez une personne fébrile ayant voyagé ou vivant dans une zone d'endémie de la dengue. Les signes cliniques comprennent les nausées, les vomissements, les éruptions cutanées, les douleurs, un test du tourniquet positif, la leucopénie et les signes d'alerte suivants : douleur ou sensibilité abdominale, vomissements persistants, accumulation clinique de liquide, saignement des muqueuses, léthargie, agitation et augmentation de la taille du foie. La présence d'un signe d'alerte peut prédire une dengue sévère chez un patient.
- La dengue sévère est définie comme une dengue présentant l'un des symptômes suivants : fuite plasmatique sévère entraînant un choc ou une accumulation de liquide avec détresse respiratoire ; hémorragie sévère ; ou atteinte organique sévère telle qu'une élévation des transaminases $\geq 1\ 000$ UI/L, des troubles de la conscience ou des troubles cardiaques.
- De 1975 à 2009, les infections symptomatiques par le virus de la dengue ont été classées, conformément aux lignes directrices de l'OMS, en dengue, dengue hémorragique et syndrome de choc de la dengue (la forme la plus grave de la dengue hémorragique). La définition de cas a été remplacée par la classification clinique de 2009 à la suite de rapports indiquant que la définition de cas de la fièvre hémorragique de la dengue était à la fois trop difficile à appliquer dans des environnements à ressources limitées et trop spécifique, car elle n'identifiait pas une proportion substantielle de cas de dengue graves, y compris les cas d'insuffisance hépatique et d'encéphalite.
- La classification clinique de 2009 a été critiquée pour son caractère trop inclusif, car elle permet de qualifier la dengue sévère de plusieurs façons différentes, et des signes d'alerte non spécifiques sont utilisés comme critères de diagnostic de la dengue. Enfin, les nouvelles lignes directrices ont été critiquées parce qu'elles ne définissent pas les critères cliniques permettant d'établir la gravité de la dengue (à l'exception des valeurs seuils de laboratoire pour les niveaux de transaminases), laissant ainsi la détermination de la gravité à l'appréciation clinique de chacun.