



# Diagnostic biologique des arboviroses

André Cabié

Université des Antilles

Service des Maladies Infectieuses et Tropicales

INSERM CIC1424

CHU de Martinique

# Dengue - virologie

Famille: *Flaviviridae*

Genre: *Flavivirus*

Espèce: *Dengue virus* (DENV)

4 sérotypes: DENV-1 à 4

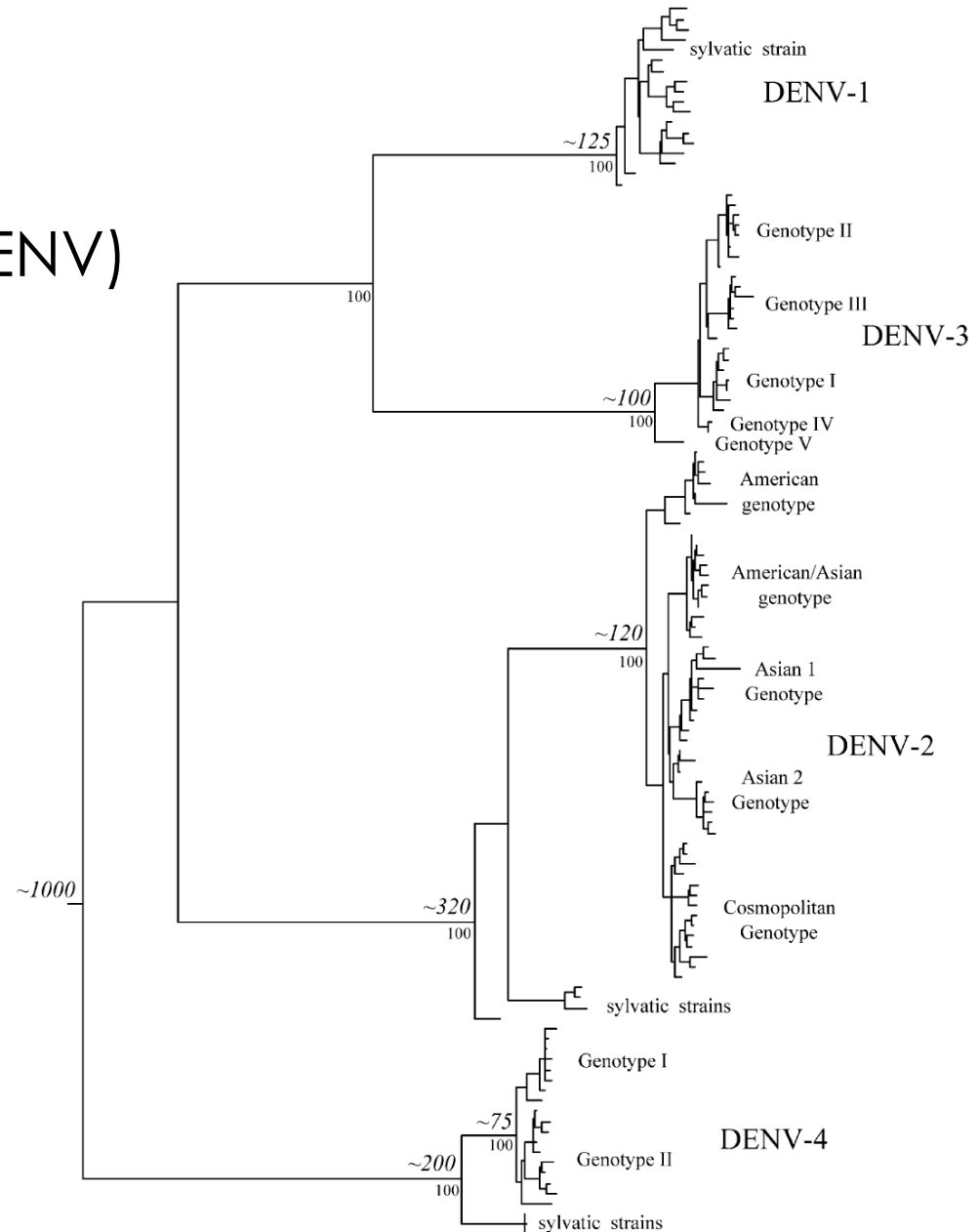
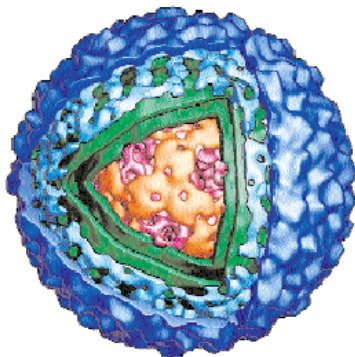


Response

Antibody

T cells

|          | C | pM | E   | NS1 | 2a | 2b | NS3 | 4a | 4b | NS5 |
|----------|---|----|-----|-----|----|----|-----|----|----|-----|
| Antibody | + | +  | +++ | ++  |    |    |     |    |    |     |
| T cells  | + | +  | +   | +   |    |    | +++ | +  |    | +   |



# Dengue – réponse immune

- Infection primaire (première infection par un DENV)
  - Immunité définitive pour le sérotype infectant
    - Anticorps neutralisants
    - Cellules T mémoires
  - Pas de protection contre les autres sérotypes
- Infection secondaire (infection par un autre DENV)
  - Principal facteur de risque de la fuite plasmatique (dengue hémorragique)
  - Réponse immunologique initiale inadaptée
    - Anticorps non neutralisants
      - ▶ Facilitation de la réplication virale
    - Expansion et activation clonale des cellules T mémoires spécifiques du premier DENV
      - ▶ Retard à la clairance virale

# Le virus Zika (ZIKV)

Virus à ARN, enveloppé,  
simple brin, polarité positive

Famille: *Flaviviridae*

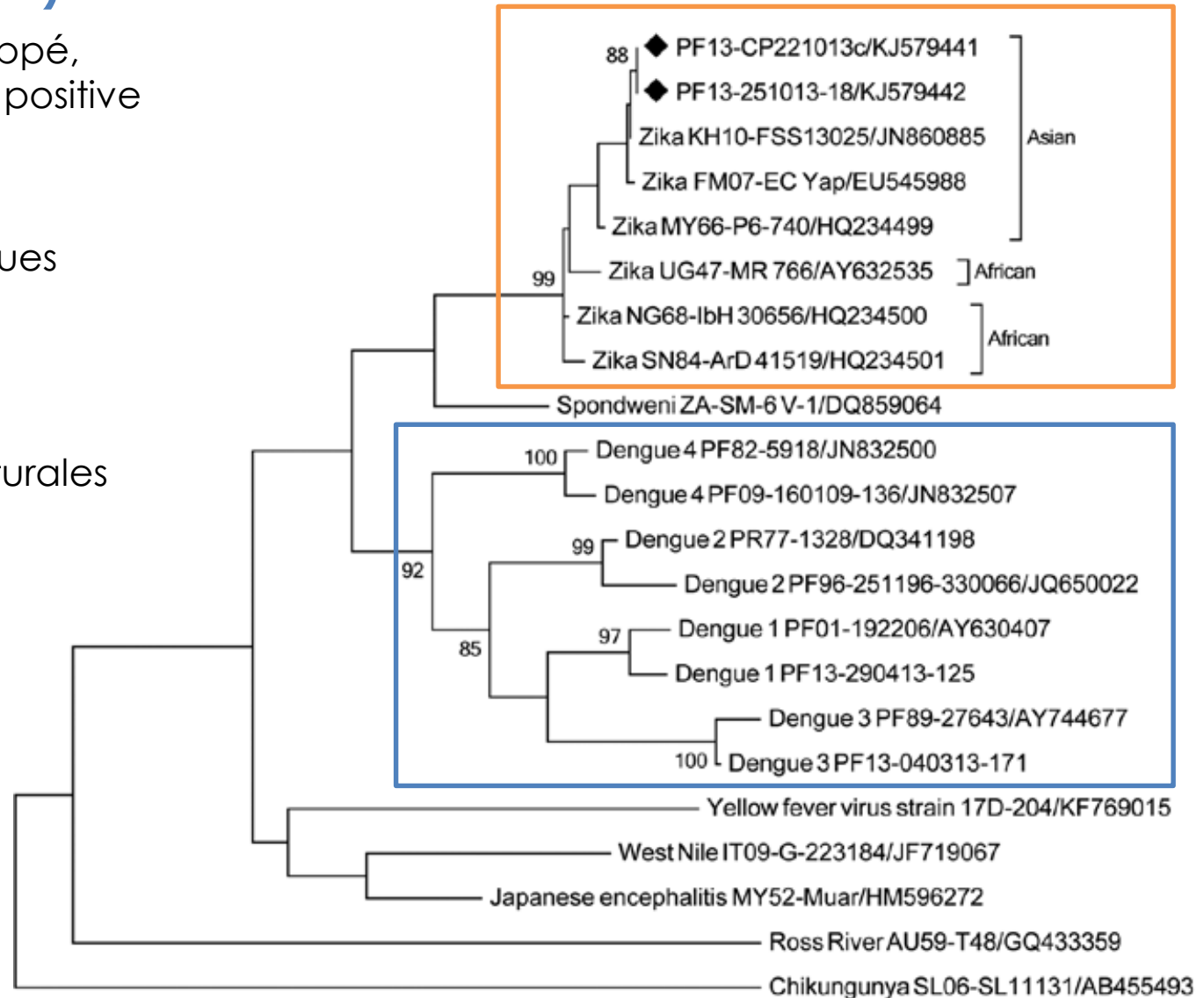
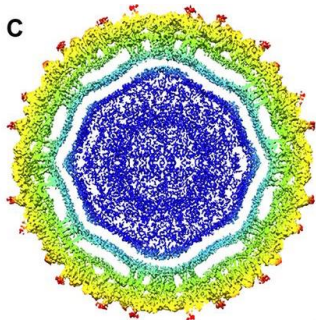
Genre: *Flavivirus*

Groupes génotypiques

- Africain
- Asiatique

Protéines virales

- 3 protéines structurales  
(C, preM, E)
- 7 protéines non-structurales



## Le chikungunya virus

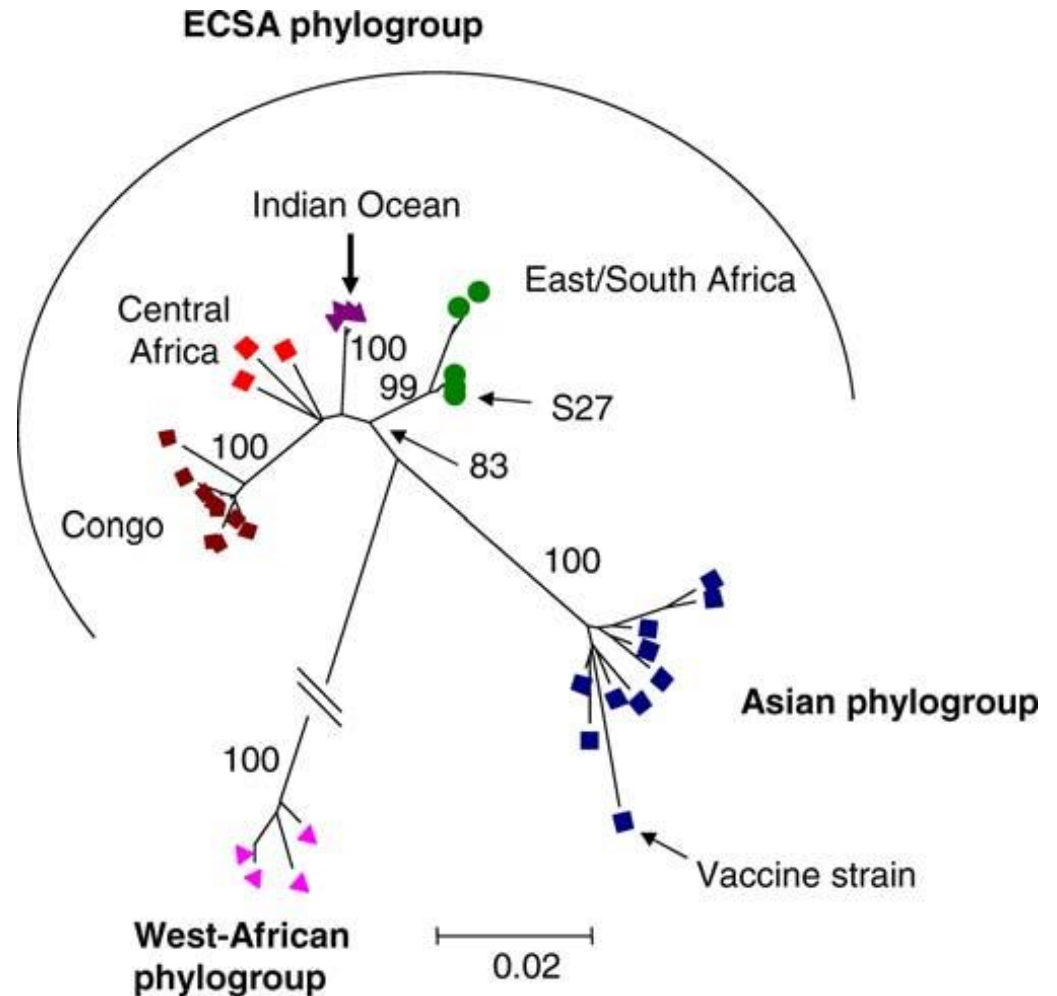
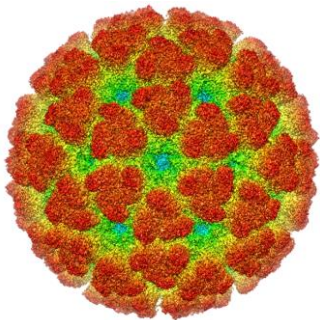
Virus à ARN, enveloppé,  
simple brin, polarité positive

Famille: *Togaviridae*

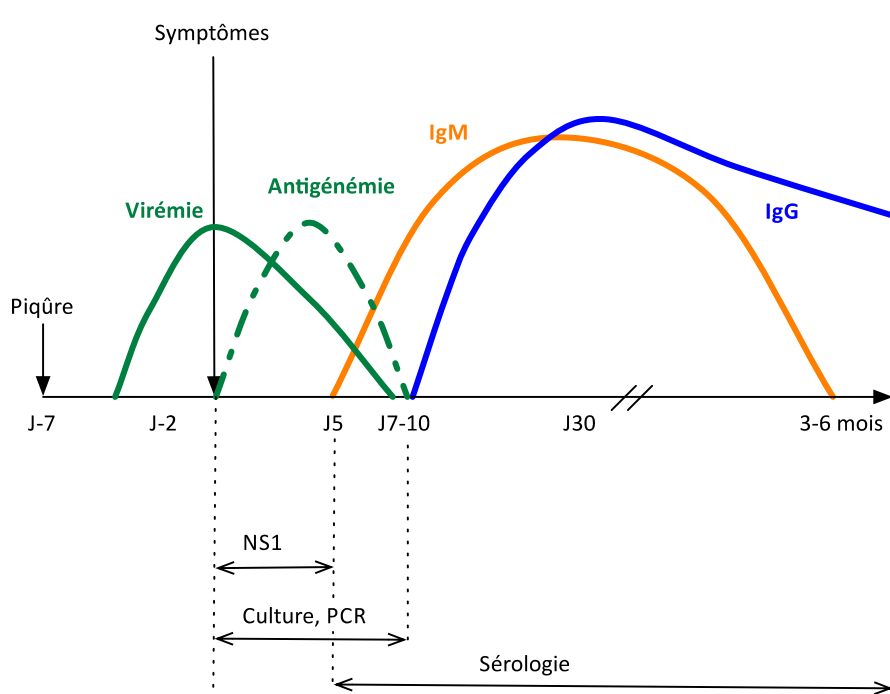
Genre: *Alphavirus*

Groupes phylogéniques (E1)

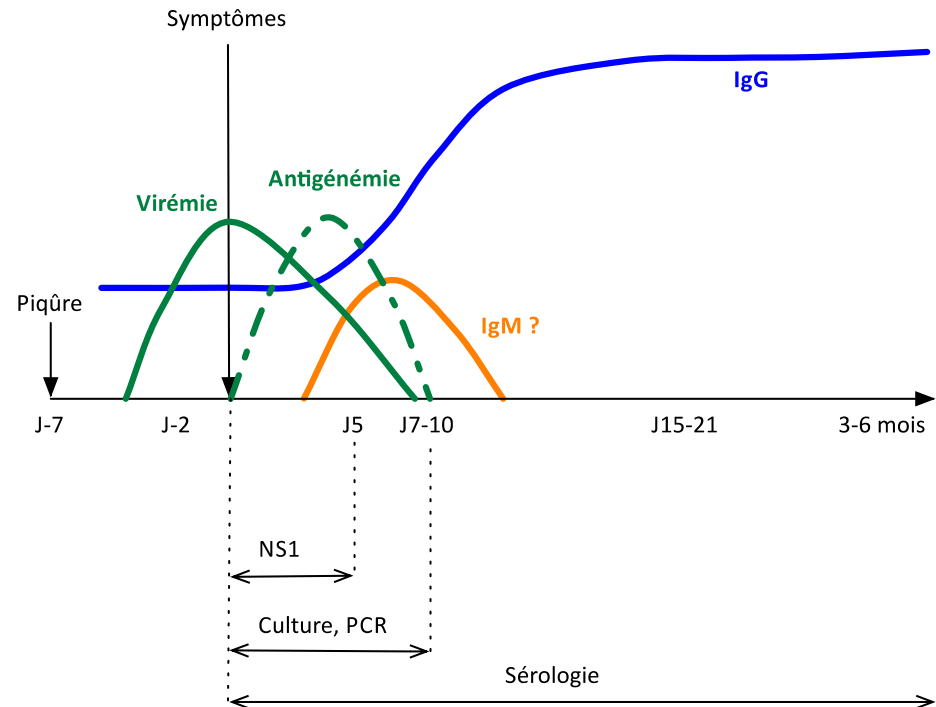
- Asiatique
- Africain de l'Ouest
- Africain de l'Est/Centre/Sud (ECS)



# Diagnostic biologique de la dengue



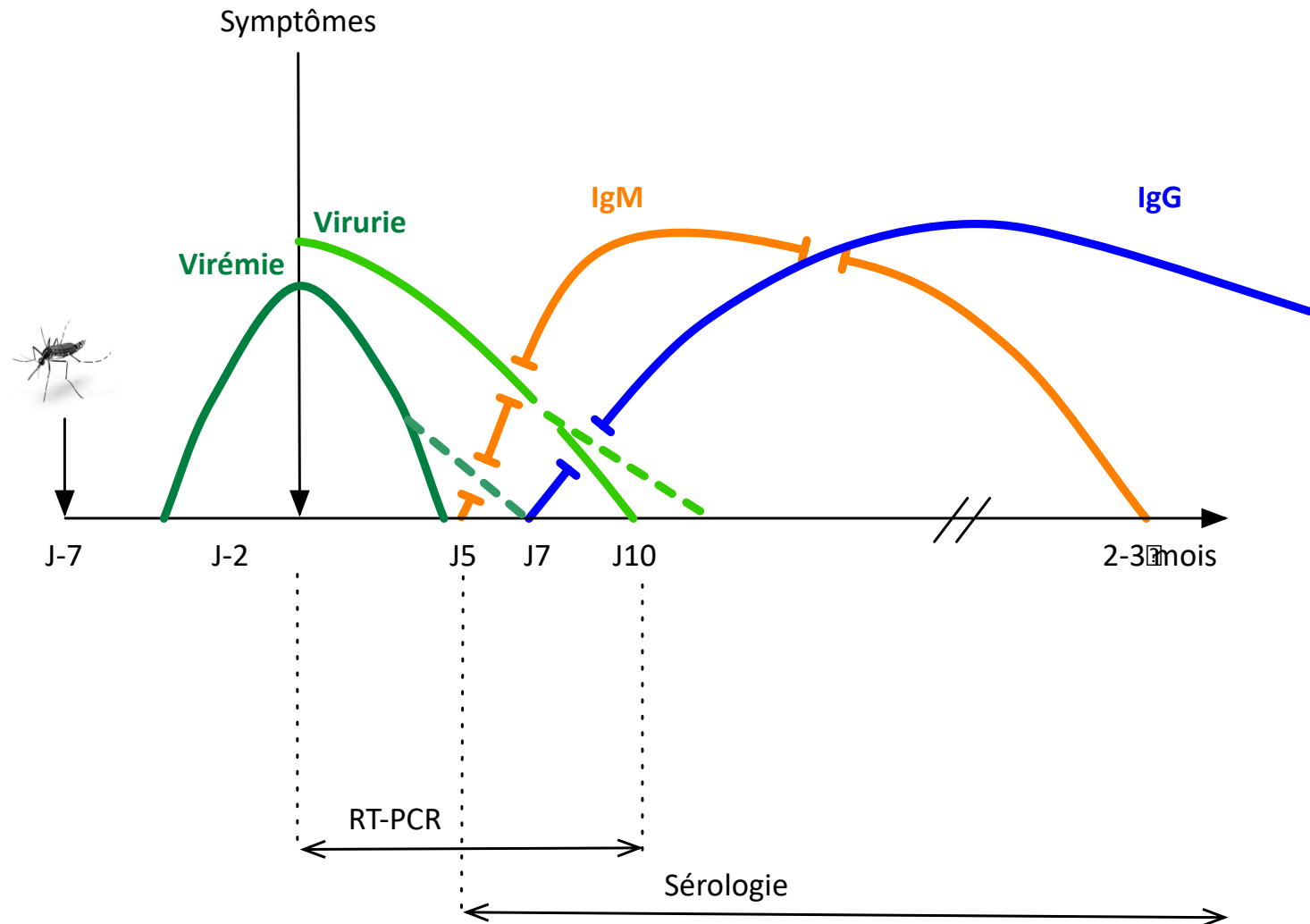
**Dengue primaire**



**Dengue secondaire**

⚠ Baisse de la sensibilité du NS1 (< 50%) en cas de dengue secondaire

# Marqueurs de l'infection à virus Zika



# Infection à virus Zika: histoire naturelle

- Virémie prolongée

|                | Durée maximale |
|----------------|----------------|
| Sang total     | 58 jours       |
| Femme enceinte | 70 jours       |
| Nouveau-né     | 67 jours       |

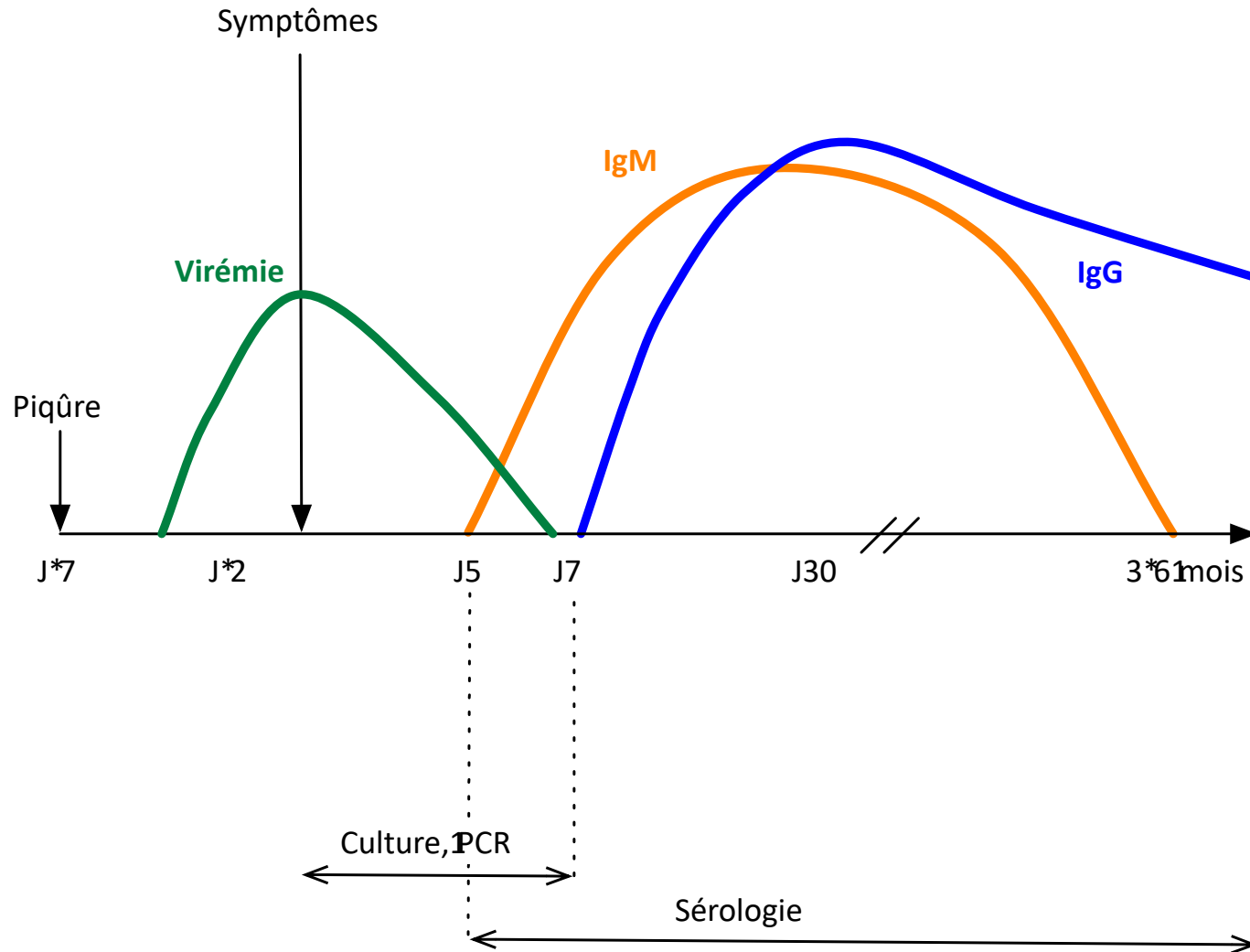
- Excrétion prolongée

|                                | Durée maximale                  |
|--------------------------------|---------------------------------|
| Sperme                         | 188 jours (69 jours en culture) |
| Sécrétions génitales féminines | 11 jours                        |
| Urines                         | 91 jours                        |

Lustig Y et al. Euro Surveill. 2016;21:30265. Oliveira DBL et al. N Engl J Med. 2016;375:1202–4. Meaney-Delman D et al. Obstet Gynecol. 2016;128:724–30. Oliveira DBL et al. N Engl J Med. 2016;375:1202–4. D'Ortenzio E et al. N Engl J Med. 2016;374:2195–8. Frank C et al. Euro Surveill. 2016;21. Fréour T et al. Euro Surveill. 2016;21. Reusken C et al. Euro Surveill. 2016;21. Turmel JM et al. Lancet. 2016;387:2501. Davidson A et al. Morb Mortal Wkly Rep. 2016;65:716–7. Mansuy JM et al. Lancet Infect Dis. 2016;16:894–5. Barzon L et al. Euro Surveill. 2016;21:30316. Nicastri E et al. Euro Surveill. 2016;21:30314. Brooks RB. Morb Mortal Wkly Rep. 2016. Arsuaga M et al. Lancet Infect Dis. 2016;16:1107. Mansuy JM et al. Lancet Infect Dis. 2016;16:1106–7. Coelho FC et al. International J Infect Dis. 2016;51:128–32. Matheron S et al. Clin Infect Dis. 2016;63:1264. Gaskell KM et al. Emerg Infect Dis. 2017;23. 1. Prisant N et al. Lancet Infect Dis. 2016;16:1000–1.



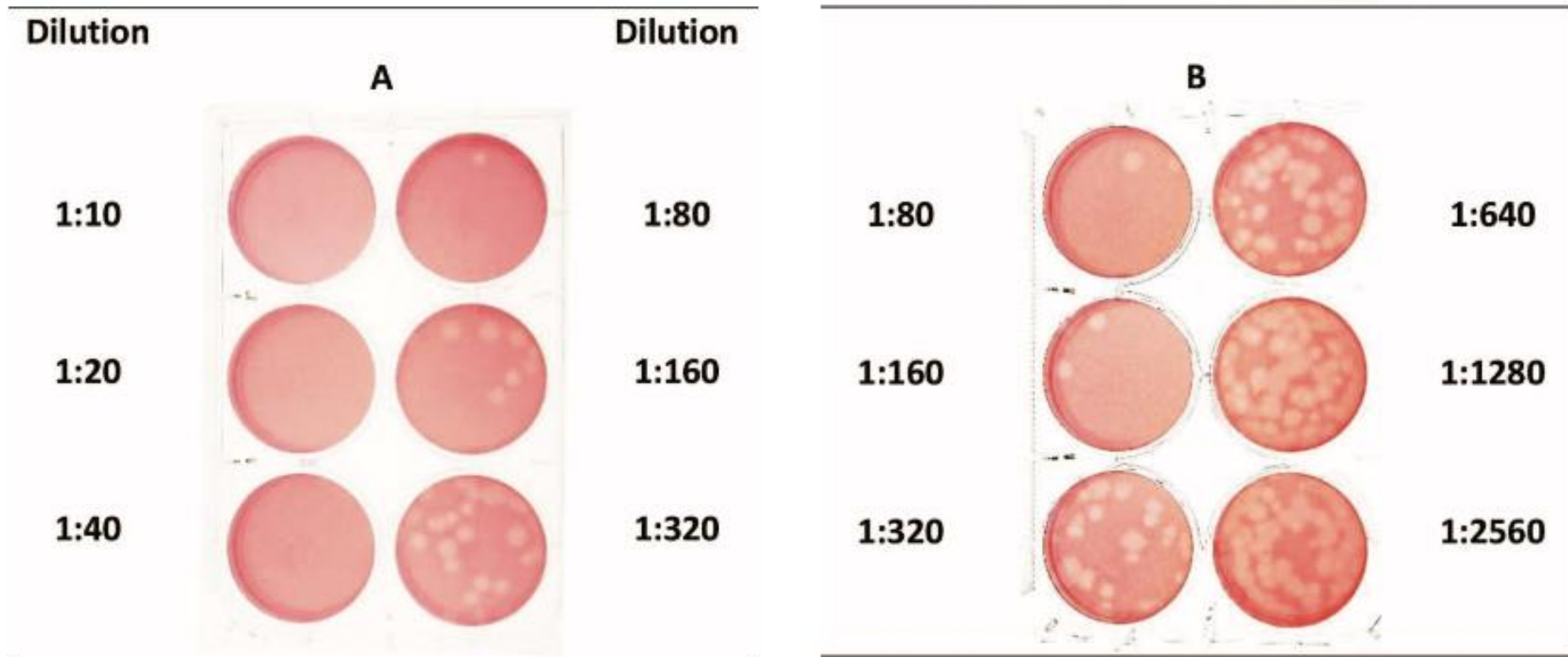
# Diagnostic microbiologique du chikungunya



# Méthodes diagnostiques

- Diagnostic direct
  - Détection de l'ARN par RT-PCR
  - Antigène NS1 (dengue)
- Diagnostic indirect
  - Mise en évidence d'anticorps spécifiques (IgG et IgM)
    - ELISA, MAC-ELISA
    - Séroneutralisation

# Séroneutralisation (IgG)



*Plaque reduction neutralization test of acute (A) and convalescent (B) patient sera against Zika virus (ZIKV). Serial dilutions of patient serum were each incubated with 100 plaque-forming units of ZIKV for 1 hour at room temperature, then the serum-virus mixtures were inoculated onto Vero monolayers. Following an incubation of several days, cultures were fixed and stained, and virus-induced plaques were enumerated. Plaque counts lower than 10 were considered negative. In the examples shown here, the titers for both acute and convalescent sera are 1:160, indicating exposure to ZIKV, but the timing of exposure is inconclusive.*

# Séroneutralisation (IgG)

Table 2. Neutralization testing with heterologous flaviviruses of patients infected with ZIKV, Yap State, Micronesia, 2007\*

| Patient                              | Days after onset | PRNT <sub>50</sub> titer |        |        |        |       |     |       |     |       |       |
|--------------------------------------|------------------|--------------------------|--------|--------|--------|-------|-----|-------|-----|-------|-------|
|                                      |                  | ZIKV                     | DENV1  | DENV2  | DENV3  | DENV4 | JEV | YFV   | WNV | SLEV  | MVEV  |
| Primary flavivirus ZIKV              |                  |                          |        |        |        |       |     |       |     |       |       |
| 822a                                 | 5                | 320                      | <10    | <10    | <10    | <10   | <10 | <10   | <10 | <10   | <10   |
| 822b                                 | 10               | 2,560                    | 10     | 10     | 10     | 10    | <10 | <10   | <10 | <10   | <10   |
| 822c                                 | 24               | 5,120                    | 10     | 10     | 10     | 10    | <10 | <10   | <10 | <10   | <10   |
| 830a                                 | 2                | <10                      | <10    | NT‡    | NT     | NT    | NT  | NT    | NT  | NT    | NT    |
| 830b                                 | 21               | 2,560                    | <10    | <10    | <10    | <10   | <10 | <10   | <10 | <10   | <10   |
| 849a                                 | 3                | <10                      | <10    | <10    | <10    | <10   | <10 | <10   | <10 | <10   | <10   |
| 849b                                 | 18               | 10,240                   | <10    | <10    | <10    | <10   | <10 | 20    | <10 | <10   | <10   |
| 862a                                 | 6                | 320                      | <10    | <10    | <10    | <10   | <10 | <10   | <10 | <10   | <10   |
| 862b                                 | 20               | 2,560                    | 10     | 10     | <10    | <10   | <10 | <10   | <10 | 10    | <10   |
| Secondary flavivirus ZIKV (probable) |                  |                          |        |        |        |       |     |       |     |       |       |
| 817a                                 | 1                | 80                       | 80     | 160    | 320    | 160   | <10 | <10   | <10 | 40    | 40    |
| 817b                                 | 19               | 10,240                   | 2,560  | 20,480 | 5,120  | 5,120 | 20  | 320   | 160 | 1,280 | 640   |
| 833a                                 | 1                | 160                      | 320    | 80     | 40     | 20    | <10 | <10   | <10 | <10   | <10   |
| 833b                                 | 19               | 81,920                   | 20,480 | 5,120  | 5,120  | 1,280 | <10 | <10   | 80  | 320   | 320   |
| 844a                                 | 2                | 20                       | 1,280  | 640    | 320    | 160   | <10 | <10   | 5   | 20    | 20    |
| 844b                                 | 16               | 10,240                   | 40,980 | 10,240 | 5,120  | 1,280 | 5   | <10   | 160 | 640   | 640   |
| 955a                                 | 1                | 40                       | 1,280  | 640    | 160    | 320   | <10 | <10   | <10 | 20    | 20    |
| 955b                                 | 14               | 163,840                  | 81,920 | 20,480 | 10,240 | 5,120 | 10  | <10   | 640 | 2,560 | 1,280 |
| 968a                                 | 1                | 80                       | 320    | 320    | 80     | 40    | <10 | <10   | <10 | 40    | 20    |
| 968b                                 | 3                | 10,240                   | 640    | 640    | 160    | 160   | <10 | <10   | 10  | 40    | 20    |
| 839a                                 | 3                | <10                      | <10    | 10     | <10    | <10   | <10 | 40    | <10 | <10   | <10   |
| 839b                                 | 20               | 10,240                   | 40     | 320    | 80     | 80    | <10 | 640   | 40  | 80    | 80    |
| 847a                                 | 5                | <10                      | <10    | <10    | <10    | <10   | <10 | 640   | <10 | <10   | <10   |
| 847b                                 | 8                | 2,560                    | 40     | 320    | 160    | 40    | <10 | 1,280 | 80  | 320   | 320   |

\*PRNT<sub>50</sub> titer, 90% plaque reduction neutralization test titer; ZIKV, Zika virus; DENV, dengue virus; JEV, Japanese encephalitis virus; YFV, yellow fever virus; WNV, West Nile virus; SLEV, St. Louis encephalitis virus; MVEV, Murray Valley encephalitis virus; NT, not tested (sample depleted).

# Stratégies diagnostiques

- Période inter-épidémique
  - Documentation de tous les cas suspects d'arboviroses
- Période pré-épidémique
  - Renforcement de la documentation des cas suspects
- Période épidémique
  - Arrêt de la documentation systématique
  - Documentation si
    - Formes graves ou atypiques
    - Personnes à risque de formes graves (non exhaustif)
      - Signes d'alerte (dengue)
      - Drépanocytaire (dengue)
      - Femmes enceintes, nouveau-nés
      - Comorbidités
    - Formes post-aigües ou chroniques (chikungunya)

# Diagnostic de la dengue et du chikungunya

Des renseignements cliniques et chronologiques (date de début des signes cliniques ; date du prélèvement) sont indispensables pour la réalisation et l'interprétation des résultats.

5261, détection de l'ARN des virus de la dengue et du chikungunya par RT PCR B 250.

Prélèvement, jusqu'à J7 après le début des signes cliniques.

Une seule cotation de l'acte 5261 par patient.

L'acte 5261 n'est pris en charge que dans les situations cliniques suivantes :

- symptomatologie évocatrice chez un patient revenant d'une zone touchée par le virus de la dengue et/ou du chikungunya ;
- symptomatologie évocatrice chez un patient se trouvant dans une zone d'activité du vecteur pendant une période d'activité du vecteur (en phase épidémique, les indications de la confirmation biologique sont limitées notamment aux cas graves, aux cas hospitalisés, aux patients atteints de comorbidités, aux formes atypiques, aux femmes enceintes et aux nouveaux-nés). »

# Diagnostic de l'infection à virus Zika

Le diagnostic biologique de l'infection par le virus Zika (à savoir les actes 5263, 5264, 5265, 1253 et 3253) n'est pris en charge que dans les situations cliniques suivantes :

- symptomatologie évocatrice chez un patient revenant d'une zone de transmission du virus Zika ;
- symptomatologie évocatrice chez un patient se trouvant dans une zone de transmission du virus Zika pendant une période d'activité du vecteur (en phase épidémique, les indications du diagnostic biologique sont limitées notamment aux formes neurologiques graves, aux femmes enceintes et aux nouveau-nés).

Entre J0 et J7, la recherche par RT-PCR peut être réalisée dans le sang et/ou les urines.

Entre J7 et J10, la recherche par RT-PCR peut être réalisée dans les urines uniquement.

A partir de J5, le test sérologique peut être réalisé.

Les renseignements cliniques et chronologiques (date de début des signes cliniques ; date du prélèvement), indispensables à l'interprétation des résultats, doivent être obligatoirement consignés dans la fiche de renseignement clinique prévue à cet effet.

**5263 Détection de l'ARN du virus Zika par RT-PCR sur prélèvement sanguin B 180.**

Prélèvement, jusqu'à J7 après le début des signes cliniques.

Une seule cotation de l'acte 5263 par patient.

La cotation de l'acte 5263 n'est pas cumulable avec celle des actes 5259, 5260, 5261 et 5265.

**5264 Détection de l'ARN du virus Zika par RT-PCR sur prélèvement urinaire B 180.**

Prélèvement, jusqu'à J10 après le début des signes cliniques.

Une seule cotation de l'acte 5264 par patient.

**5265 Détection de l'ARN des virus de la Dengue, du Chikungunya et Zika par RT-PCR sur prélèvement sanguin B 320.**

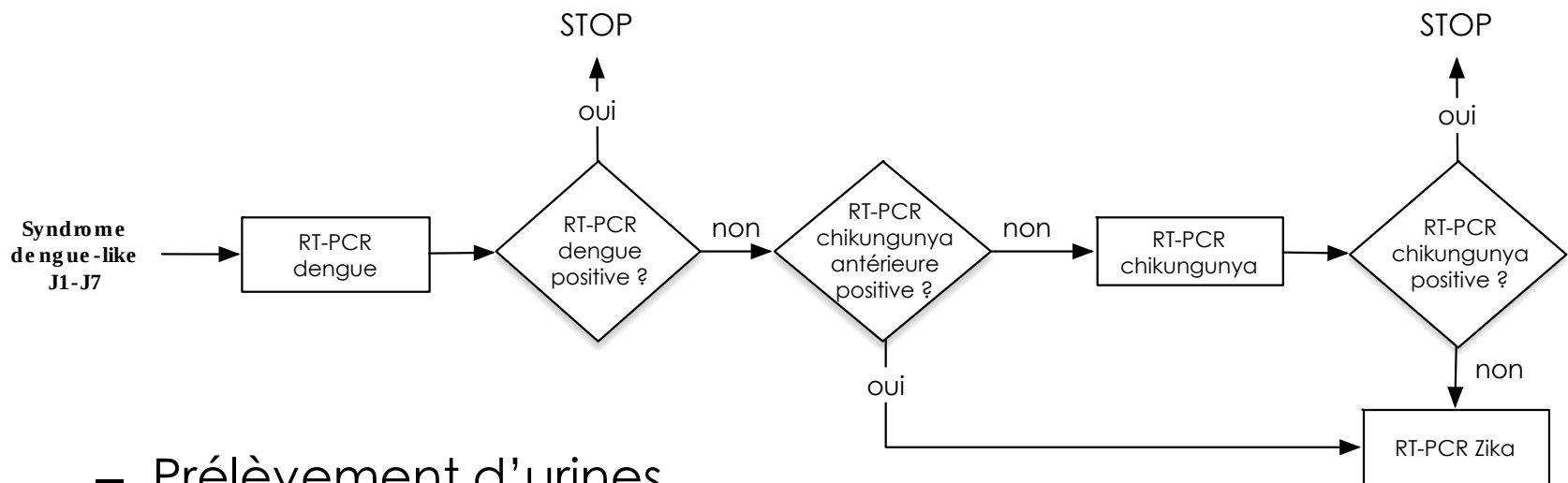
Prélèvement, jusqu'à J7 après le début des signes cliniques.

Une seule cotation de l'acte 5265 par patient. La cotation de l'acte 5265 n'est pas cumulable avec celle des actes 4273, 5259, 5260, 5261 et 5263.



# Diagnostic d'une infection récente par le virus Zika aux Antilles

- Recherche direct du virus (RT-PCR)
  - Prélèvement sanguin



- Prélèvement d'urines
  - Jusqu'à J10 (surtout à partir de J5)
- Diagnostic sérologique
  - Pas d'intérêt pour le diagnostic des formes aiguës
  - Intérêt pour les complications tardives (Guillain-Barré) ou pour le bilan de malformations néonatales



# Diagnostic différentiel des arboviroses (DENV, CHIKV, ZIKV)

Primo-infection

VIH

Paludisme

Leptospirose

Sepsis bactérien

...

|                                  | Chikungunya        | Dengue           | Zika          |
|----------------------------------|--------------------|------------------|---------------|
| <b>Fièvre</b>                    | Habituel           | Habituel         | Habituel      |
| <b>Eruption</b>                  | J1-J4              | J5-J7            | J1-J4         |
| <b>Douleurs rétro-orbitaires</b> | Peu fréquent       | Habituel         | Habituel      |
| <b>Myalgies</b>                  | Habituel           | Habituel         | Habituel      |
| <b>Arthralgies</b>               | Constant           | Peu fréquent     | Fréquent      |
| <b>Conjonctivite</b>             | Peu fréquent       | Inhabituel       | Habituel      |
| <b>Arthrites / œdèmes</b>        | Habituel           | Jamais           | Fréquent      |
| <b>Ténosynovites</b>             | Habituel           | Jamais           | Jamais        |
| <b>Hypotension</b>               | Peu fréquent       | Habituel, J5-J7  | Peu fréquent  |
| <b>Saignements mineurs</b>       | Exceptionnel       | Habituel, J5-J7  | Exceptionnel  |
| <b>Thrombopénie</b>              | Précoce et modérée | Fréquente, J4-J5 | Peu fréquente |
| <b>Lymphopénie</b>               | Habituel           | Habituel         | Peu fréquente |
| <b>Évolution</b>                 | Formes chroniques  | Asthénie         | Asthénie      |

Simon F. Chikungunya Virus Infection. *Current Infectious Disease Reports*. 2011;13(3):218–228. Staples JE. Chikungunya Fever: An Epidemiological Review of a Re-Emerging Infectious Disease. *Clin Infect Dis*. 2009;49(6):942–948. Iosif S. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect*. 2014;44(7):302-307. Musso D. Zika Virus. *Clin Microbiol Rev*. 2016;29(3):487-524.

# Diagnostic biologique des arboviroses (DENV, CHIKV, ZIKV)

- Accès à un diagnostic précoce et rapide (RT-PCR)
- Résultats des tests parfois difficile à interpréter
  - Réactions croisées (Flavivirus)
  - IgM (sensibilité et spécificité)
  - Détection prolongé du virus ou de son ARN (Zika)