

Dépistage en laboratoire de l'infection à virus Zika

Lignes directrices provisoires

23 mars 2016

WHO/ZIKV/LAB/16.1



1. Introduction

1.1 Généralités

La récente augmentation du nombre de cas de microcéphalie et d'autres troubles neurologiques potentiellement associés à une infection à virus Zika a engendré une recrudescence des demandes de dépistage en laboratoire de cette infection. Les groupes prioritaires pour un test de diagnostic doivent être constitués de personnes symptomatiques et de femmes enceintes asymptomatiques potentiellement exposées au virus Zika. Ce document fournit des indications sur les stratégies actuelles de dépistage de l'infection à virus Zika. Il sera revu et actualisé à mesure que des informations supplémentaires deviendront disponibles.

1.2 Destinataires

Ces lignes directrices provisoires s'adressent aux personnels des laboratoires de dépistage de l'infection à virus Zika et aux cliniciens et professionnels de santé publique qui assurent la prise en charge clinique ou la surveillance des patients.

2. Recommandations provisoires

2.1 Échantillons

Le virus Zika a été détecté dans le sang total (et dans le sérum et le plasma), l'urine, le liquide céphalorachidien, le liquide amniotique, le sperme et la salive. De plus en plus d'éléments suggèrent que le virus Zika persiste plus longtemps dans l'urine ou le sperme que dans le sang total ou la salive [3].

Le recueil des données sur la durée de persistance du virus dans la salive, le liquide céphalorachidien, le sperme et les produits de la conception n'étant pas terminé, il est recommandé, dans le cadre de ces lignes directrices, d'obtenir un échantillon de sang total/sérum et/ou d'urine des patients qui se présentent pour un dépistage.

Néanmoins, dans la mesure du possible, l'OMS encourage le recueil d'autres types d'échantillons pour la réalisation de tests de confirmation ou pour l'exploration de l'association entre l'infection à virus Zika et les cas de complications neurologiques ou de microcéphalie, et de la transmission potentielle par voie sexuelle.

- **Échantillons pour la recherche d'acide nucléique :** sang total, sérum recueillis dans un tube sec et/ou urine recueillie chez des patients dont les symptômes ont débuté au plus sept jours auparavant.
- **Sérologie (détection des IgM) :** sang total recueilli dans un tube sec et sérum recueilli chez des patients

dont les symptômes ont débuté au moins sept jours auparavant. Dans la mesure du possible, des échantillons de sérum appariés devraient être recueillis à deux ou trois semaines d'intervalle minimum, les premiers devant être prélevés au cours des cinq premiers jours de la maladie.

En plus des informations sur le patient enregistrées lors du prélèvement (nom complet, date de naissance, adresse, date et heure du prélèvement, etc.), il faudrait également recueillir les informations suivantes :

- **symptômes, date d'apparition et durée des symptômes, contact avec un cas connu de maladie à virus Zika (et type de contact, par exemple, allaitement, rapport sexuel) ;**
- **historique complet des déplacements (dates, lieux, durée du séjour) ; et**
- **historique des vaccinations, en particulier des vaccinations contre les flavivirus, notamment le virus de la fièvre jaune, le virus de l'encéphalite japonaise et, si disponible, les virus de la dengue.**

Pendant une flambée épidémique, en particulier dans les zones de transmission étendue, il n'est pas rentable de tester tous les cas suspectés. Les groupes suivants devraient être prioritaires pour le prélèvement d'échantillons et le dépistage :

- les patients ayant des rapports sexuels avec un cas confirmé ou probable ;
- les patients qui répondent à la définition des cas suspectés présentant des troubles neurologiques ;
- les femmes enceintes ayant séjourné dans des zones actuellement touchées par une transmission du virus Zika et/ou ayant eu des rapports sexuels avec un cas confirmé ou probable ;
- les femmes enceintes provenant de zones actuellement touchées par une transmission du virus Zika dont le fœtus présente des anomalies cérébrales congénitales ou chez lequel on suspecte de telles anomalies ;
- les nouveau-nés présentant une microcéphalie ou des anomalies neurologiques, nés dans des zones touchées par une transmission du virus Zika ou dont la mère a séjourné dans une zone touchée par le virus Zika au cours de sa grossesse ;
- les nourrissons dont la mère est infectée par le virus Zika, en particulier si elle allaite ; et
- les mortinaissances ou les avortements spontanés chez des femmes qui ont vécu ou qui ont séjourné dans une zone touchée par le virus Zika au cours de leur grossesse.

2.2 Stratégie de dépistage

La stratégie de dépistage adoptée par les laboratoires doit reposer sur les ressources disponibles et les activités menées dans chaque laboratoire. Les démarches de dépistage qui emploient ces stratégies varient en fonction de la prévalence des virus qui circulent dans la zone où les patients ont été exposés.

L'OMS recommande les stratégies suivantes :

- **recherche d'acide nucléique** chez les patients dont les symptômes ont débuté moins de sept jours auparavant ;
- **sérologie et/ou recherche d'acide nucléique** chez les patients dont les symptômes ont débuté au moins sept jours auparavant. La sérologie est la méthode de choix pour des échantillons issus de patients dont les symptômes ont débuté plus de sept jours auparavant. Lors de la recherche d'acide nucléique, les résultats négatifs doivent être interprétés avec précaution. Ils ne signifient pas l'absence d'infection car la virémie chute rapidement sept jours après l'apparition des symptômes et l'infection peut ne pas avoir été détectée si les valeurs se trouvent dans les limites inférieures de la sensibilité du test.

a. Algorithme de dépistage proposé pour les cas suspectés d'infection par arbovirus identifiée dans les sept jours suivant l'apparition des symptômes (annexe 1, Figure 1)

La présence du virus Zika peut être confirmée par une recherche d'acide nucléique, par exemple au moyen d'une RT-PCR pour détecter des cibles spécifiques du virus Zika dans le génome viral. Les laboratoires qui utilisent une combinaison de dosage de tous les flavivirus et un séquençage génique, ou d'autres méthodes moléculaires conventionnelles telles que les dosages multiplex pour la détection des flavivirus, doivent s'assurer que les séquences des amorces dont ils disposent ont été actualisées pour pouvoir détecter les lignées récentes de virus Zika. Des trousse d'amorces et de sondes permettant de réaliser des dosages spécifiques du virus Zika sont disponibles dans le commerce [5].

Sachant que la co-infection par le virus Zika et par d'autres arbovirus a été documentée et compte tenu de la circulation endémique des flavivirus, le dépistage de l'infection à virus Zika devrait s'accompagner d'un dépistage de la dengue et de l'infection à virus Chikungunya, séquentiellement ou en parallèle.

b. Algorithme de dépistage proposé pour les cas suspectés d'infection par arbovirus identifiée plus de sept jours après l'apparition des symptômes (annexe 1, Figure 2)

La sérologie pour le virus Zika ne doit être réalisée que par des laboratoires expérimentés en sérologie des flavivirus. Les dosages sérologiques recommandés comprennent les tests immuno-enzymatiques et les dosages par immunofluorescence qui détectent les IgM en utilisant un lysat viral, un surnageant de culture cellulaire ou des protéines recombinées, ainsi que les épreuves de

neutralisation, par exemple, la séroneutralisation par réduction des plages de lyse. Bien que la séroneutralisation par réduction des plages soit la technique la plus spécifique, les dosages sérologiques sont sujets à une réactivité croisée, en particulier chez les patients avec des antécédents d'infection ou de vaccination impliquant des flavivirus. La stratégie de dépistage pour les patients dont l'apparition des symptômes remonte à 7 jours ou plus repose sur la sérologie des IgM en raison de la disponibilité des réactifs. La détection des IgM doit être réalisée chez les femmes enceintes des zones de transmission endémique ou chez celles qui peuvent avoir été en contact avec le virus Zika, par l'intermédiaire d'un vecteur ou par voie sexuelle. Si des analyses supplémentaires sont nécessaires, les épreuves de neutralisation comparative peuvent offrir une meilleure spécificité.

En général, une positivité des IgM dirigés contre le virus Zika en l'absence d'IgM contre la dengue ou d'autres flavivirus suggère une exposition récente au virus Zika (Figure 2). Pour les laboratoires qui réalisent des tests de séroneutralisation, une valeur quadruplée des titres d'anticorps neutralisants en l'absence d'augmentation des titres d'anticorps dirigés contre d'autres flavivirus conforte la thèse d'une infection récente par le virus Zika. D'autres indications relatives aux tests sérologiques seront fournies à mesure que des données supplémentaires deviendront disponibles.

c. Tests de diagnostic *in vitro* pour le virus Zika utilisables sur les lieux de soins ou à proximité

Il existe un besoin et un intérêt manifeste pour

des tests de diagnostic *in vitro* rapide et simple d'utilisation pour le dépistage de l'infection par le virus Zika sur les lieux de soins ou à proximité de ceux-ci. Le choix des tests de diagnostic *in vitro* doit tenir compte de l'évaluation réglementaire de la qualité, de la sécurité et des performances des tests sur les lieux de soins.

2.3 Manipulation et stockage des échantillons

Lorsqu'on utilise des tests commerciaux, les prélèvements doivent être recueillis, transportés et stockés conformément aux instructions du fabricant. Dans tous les autres cas, il est recommandé de conserver les prélèvements à une température comprise entre 2° C et 8° C et de procéder aux analyses dans les 48 heures. Si les tests ne peuvent pas être réalisés dans les 48 heures, il convient de séparer le sérum et de le conserver à part. Tous les types de prélèvements peuvent être congelés à -20° C et conservés ainsi pendant sept jours. Pour pouvoir les conserver plus longtemps, les prélèvements doivent être congelés à -70° C. La congélation-décongélation répétée des échantillons doit être évitée.

La température doit être régulièrement contrôlée et enregistrée pour repérer d'éventuelles fluctuations de température. Les réfrigérateurs et congélateurs domestiques dans lesquels la température fluctue de manière importante ne sont pas adaptés à la conservation d'échantillons congelés.

2.4 Sécurité biologique

Les tests de diagnostic en laboratoire, notamment la méthode de la réaction en chaîne par polymérase après transcription inverse (RT-PCR) et les tests sérologiques sur des prélèvements cliniques issus de cas suspectés ou confirmés d'infection par le virus Zika, doivent être réalisés dans un environnement BSL-2 (sécurité biologique niveau 2) tel que décrit dans le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*, 3^e édition, de l'OMS [4].

Tout test visant à détecter la présence du virus Zika doit être réalisé dans des laboratoires disposant des équipements appropriés, par du personnel formé aux procédures techniques et aux normes de sécurité qui s'appliquent. Les lignes directrices nationales relatives à la sécurité biologique en laboratoire doivent être suivies en toutes circonstances.

2.5 Expédition des échantillons

Les échantillons qui contiennent le virus Zika, ou que l'on suspecte de contenir le virus, peuvent être expédiés sur de la glace carbonique comme substances biologiques de catégorie B (UN3373).

La réglementation internationale, telle que décrite dans le *Guide pratique sur l'application du Règlement relatif au Transport des matières infectieuses 2015-2016* de l'OMS doit être respectée [6].

2.6 Choix des tests de diagnostic *in vitro*

Pour garantir la sécurité et l'efficacité des tests, il faut tenir compte des caractéristiques et des performances des produits de diagnostic. À ce jour, peu de tests de diagnostic *in vitro* disponibles dans le commerce ont été soumis à l'évaluation réglementaire de la qualité, de la sécurité et des performances.

Un certain nombre d'institutions ont développé des tests en interne pour détecter le virus Zika. L'OMS recommande aux laboratoires qui souhaitent mettre au point et réaliser des RT-PCR en interne de commander auprès de leur fournisseur habituel les trousse d'amorces et de sondes disponibles dans le commerce capables de détecter toutes les lignées de virus Zika en circulation, et de s'assurer que le test est validé pour chaque type de prélèvement. Comme pour les tests commerciaux, les laboratoires doivent suivre les instructions du fabricant concernant le type d'échantillon à analyser et doivent, si nécessaire, valider leurs tests pour les types d'échantillons et effectuer les contrôles (internes) de procédure et le contrôle externe de la qualité. Le matériel pour le contrôle de la qualité est disponible auprès du global European virus archive (<http://global.european-virus-archive.com/>) et sera bientôt disponible à travers un programme OMS sur les préparations biologiques internationales de référence. Les bureaux régionaux de l'OMS peuvent éventuellement aider les laboratoires dans cette démarche.

Pour répondre au besoin de tests de diagnostic *in vitro* de qualité garantie pour la détection du virus Zika, l'OMS a mis en place un mécanisme d'évaluation et d'homologation pour les situations d'urgence (EUAL) [7]. Le mécanisme EUAL détermine si les données probantes montrant que les bénéfices de l'utilisation des tests de diagnostic *in vitro* pour le virus Zika l'emportent sur les risques prévisibles

dans le contexte actuel sont suffisantes. Le mécanisme d'homologation de l'OMS oblige les fabricants à déclarer les problèmes liés aux performances et à la qualité. Étant donné les conséquences d'une erreur de diagnostic, l'OMS recommande vivement de n'utiliser que des tests de diagnostic *in vitro* préalablement soumis à une évaluation indépendante et complète de la qualité, de la sécurité et des performances, pour le diagnostic de l'infection par le virus Zika.

3. Élaboration des lignes directrices

3.1 Remerciements

L'OMS remercie les personnes suivantes pour leur contribution à l'élaboration de ces lignes directrices provisoires : Dr Emma Aarons, Public Health England ; Professeur John Aaskov, Queensland University of Technology, Australie ; Dr Daniel Bailey, Public Health England ; Dr Cristina Domingo Carrasco, Centre d'information fédéral sur la menace biologique et les pathogènes spéciaux, Allemagne ; Dr Sebastien Cognat, Capacités mondiales, alerte et action, OMS/Lyon ; Kara Durski, Zoonoses émergentes et épidémiques, Siège de l'OMS ; Dr Pierre Formenty, Zoonoses émergentes et épidémiques, Siège de l'OMS ; Dr Maria Guadalupe Guzman, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, Cuba ; Dr Pamela Hepple, OMS/EURO ; Professeur Marion Koopmans, Institut national pour la santé publique et l'environnement, Pays-Bas ; Dr Isabelle Leparç-Goffart, Centre national français de référence des arbovirus ; Dr Jairo Mendez Rico, OMS/AMRO ; Robyn Meurant, Préqualification, Siège de l'OMS ; Dr Jorge Munoz, Centers for Disease Prevention and Control des États-Unis d'Amérique ; Dhamari Naidoo, Zoonoses émergentes et épidémiques, Siège de l'OMS ; Dr Karen Nahapetyan, OMS/EMRO ; Dr Lee Ching Ng, National Environment Agency, Singapour ; Dr Claudius Nuebling, Normes et standards applicables aux technologies, Siège de l'OMS ; Dr Christopher Oxenford, Capacités mondiales, alerte et action, OMS/Lyon ; Irena Prat, Médicaments essentiels et produits de santé, Siège de l'OMS ; Dr Chantal Ruesken, Centre médical Erasmus, Pays-Bas ; Anita Sands, Préqualification, Siège de l'OMS ; Dr Jonas Schmidt-Chansit, Bernhardt Nocht Institute, Allemagne ; Dr Willy Urassa, Préqualification, Siège de l'OMS ; Dr Hervé Zeller, Centre européen de prévention et de contrôle des maladies.

3.2 Méthodes d'élaboration des lignes directrices

Les experts en analyses en laboratoire et en virologie ont été identifiés à travers les réseaux existants des centres collaborateurs de l'OMS, et comprennent des experts provenant des Amériques, de l'Europe et de la Région du Pacifique occidental. Le groupe d'experts a été convoqué par téléconférence le 18 février 2016 pour examiner le projet de lignes directrices. Des observations écrites ont été formulées par les participants à la suite de cette téléconférence, et ont été incorporées dans le document révisé. Un deuxième examen a été conduit en mars 2016 après une consultation de l'OMS sur les exigences relatives à l'évaluation des dossiers et des laboratoires dans le cadre

du mécanisme EUAL pour les tests de diagnostic de l'infection à virus Zika, qui s'est tenue les 14 et 15 mars 2016, à Genève (Suisse).

3.3 Déclaration d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts n'a été identifié à partir des déclarations d'intérêts recueillies. Aucun financement spécifique n'a été utilisé pour élaborer ces lignes directrices provisoires.

4. Bibliographie

1. Garcia E, Yactayo S et al. Zika virus infection: global update on epidemiology and potentially associated clinical manifestations. *Weekly Epidemiological Record* 2016; 91: 73-81. <http://www.who.int/wer/en>.
2. Hill S, Russell K, et al. Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission — Continental United States, 2016. *Morbidity and Mortality Weekly Report ePub*: 26 February 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6508e2er>.
3. Gourinat AC, O'Connor O et al. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis*. [Internet]. 2015 Jan. <http://dx.doi.org/10.3201/cid2101.140894>.
4. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd edition. Geneva, 2004. Available online at http://www.who.int/ihr/publications/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/.
5. Charrel RN, Leparac-Goffart I et al. State of knowledge on Zika virus for an adequate laboratory response [Submitted]. *Bull World Health Organ E-pub*: 10 Feb 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.16.171207>.
6. World Health Organization. *Guidance on Regulations for the Transport of Infectious Substances 2015-2016*. Geneva, 2015. Available online at http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_2015.2/en/.
7. World Health Organization. *Emergency Use Assessment and Listing (EUAL) Procedure for Zika Virus Disease (IVDs)* [Webpage]. Accessed 20 Feb 2016. Available online at http://www.who.int/diagnostics_laboratory/eual-zika-virus/zika/en/.

© Organisation mondiale de la Santé 2016

Tous droits réservés. Les publications de l'Organisation mondiale de la Santé sont disponibles sur le site Web de l'OMS (www.who.int) ou peuvent être achetées auprès des Éditions de l'OMS, Organisation mondiale de la Santé, 20 avenue Appia, 1211 Genève 27 (Suisse) (téléphone : +41 22 791 3264 ; télécopie : +41 22 791 4857 ; courriel : bookorders@who.int). Les demandes relatives à la permission de reproduire ou de traduire des publications de l'OMS – que ce soit pour la vente ou une diffusion non commerciale – doivent être envoyées aux Éditions de l'OMS via le site Web de l'OMS à l'adresse http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html.

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation mondiale de la Santé aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les traits discontinus formés d'une succession de points ou de tirets sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé, de préférence à d'autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'Organisation mondiale de la Santé a pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le matériel publié est diffusé sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit matériel incombe au lecteur. En aucun cas, l'Organisation mondiale de la Santé ne saurait être tenue responsable des préjudices subis du fait de son utilisation.

Annexe 1. Algorithmes de dépistage

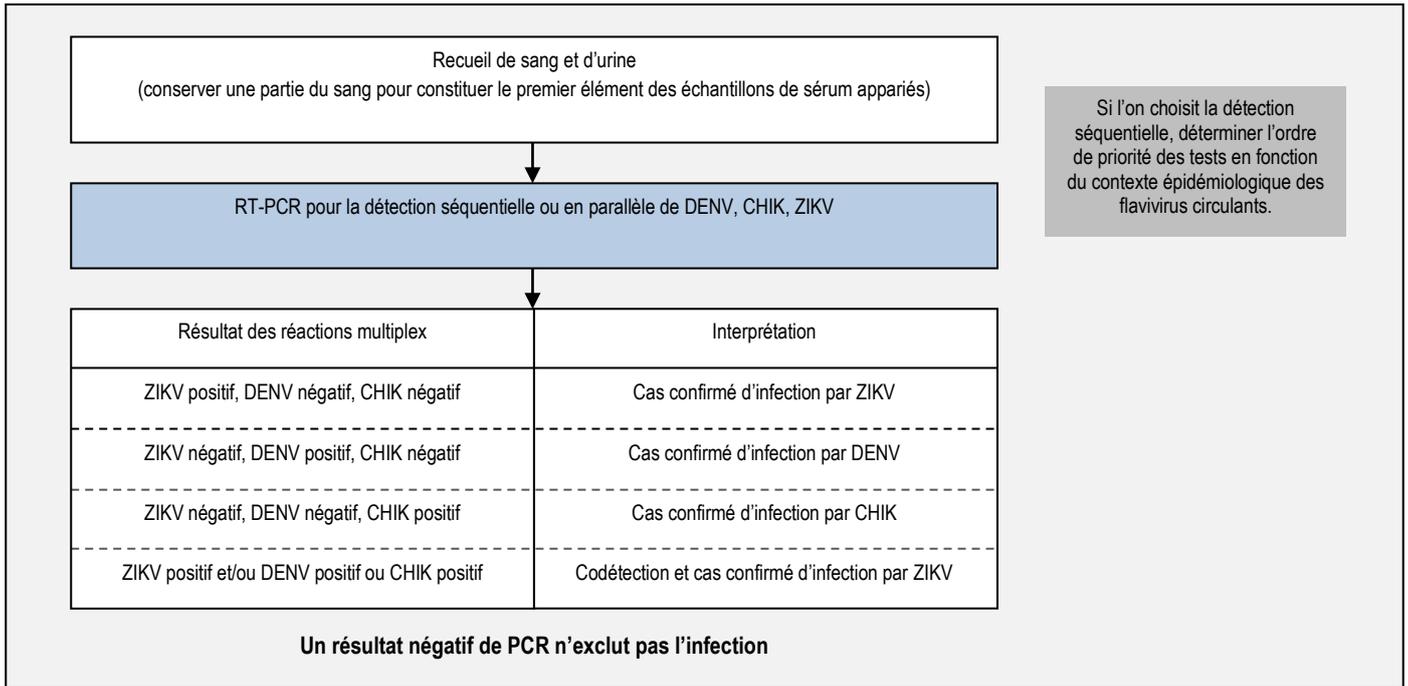


Figure 1. Algorithme de dépistage proposé pour les cas suspects d'infection par arbovirus identifiée dans les sept jours suivant l'apparition des symptômes

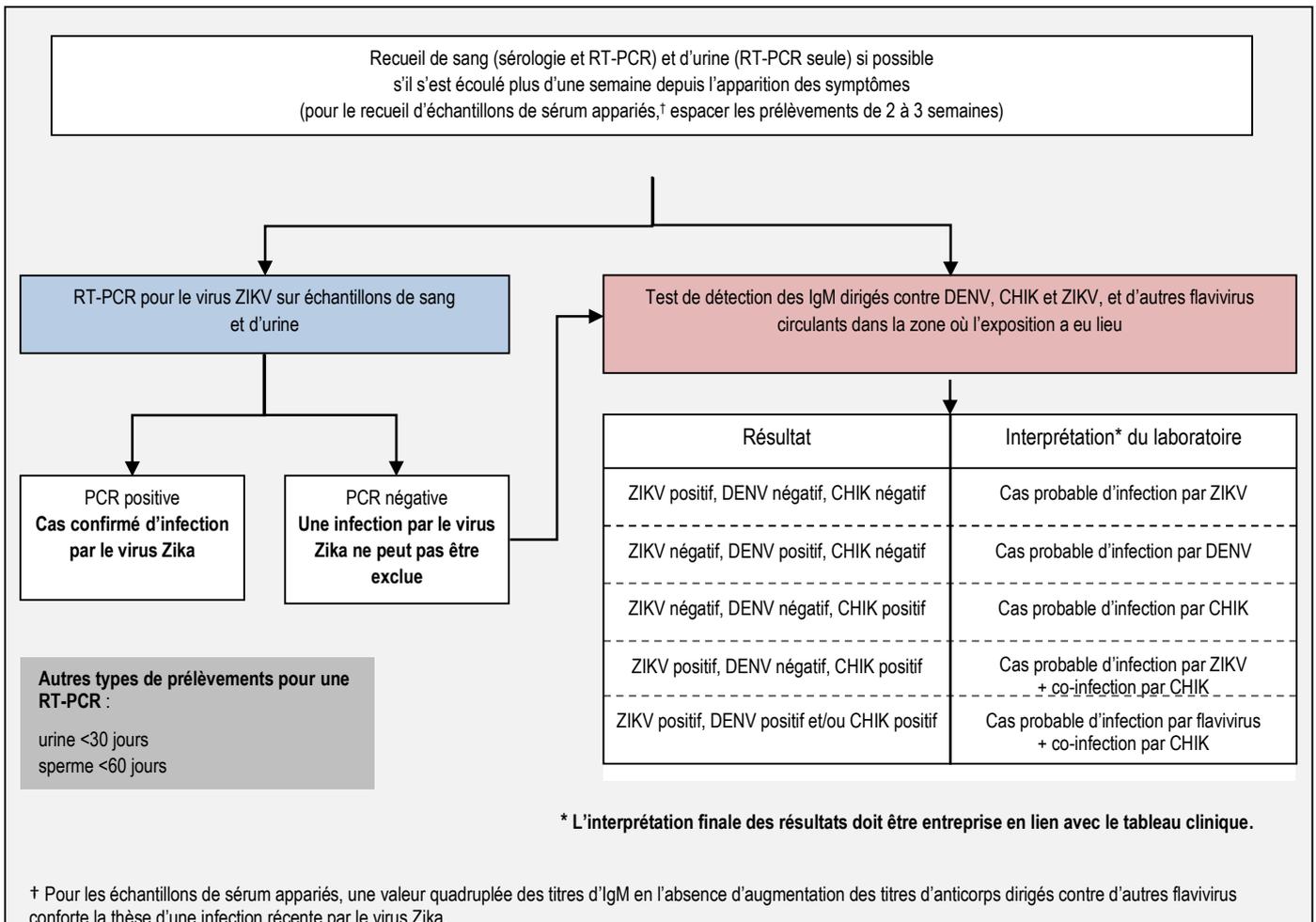


Figure 2. Algorithme de dépistage proposé pour les cas suspects d'infection par arbovirus identifiée plus de sept jours après l'apparition des symptômes