



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ARGUMENTAIRE

Détection par RT-PCR du virus Zika dans le sang et les urines

Mars 2016

Cet argumentaire est téléchargeable sur
www.has-sante.fr

Haute Autorité de Santé

Service communication - information

5, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine Cedex

Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

Sommaire

Abréviations et acronymes	4
1. Saisine	5
2. Contexte	6
2.1 Épidémiologie de l'infection - Situation épidémique actuelle	6
2.2 Modes de transmission.....	6
2.3 Symptomatologie clinique - Augmentation de l'incidence des microcéphalies et syndromes de Guillain-Barré associée à l'épidémie.....	6
2.4 Techniques diagnostiques de l'infection par le virus Zika.....	7
2.5 Traitement et prévention.....	9
3. Méthode.....	11
4. Analyse des recommandations de bonne pratique (RBP)	12
5. Position du Centre national de référence (CNR) des arbovirus	19
6. Conclusion	21
Annexe 1. Kits commerciaux permettant la détection par RT-PCR du virus Zika et possédant ou en cours d'acquisition d'un marquage CE	22
Annexe 2. Recherche des recommandations de bonne pratique (RBP).....	23
Annexe 3. Recherche sur la base de données <i>Medline</i> des publications portant sur la détection du virus Zika par RT-PCR.....	25
Annexe 4. Principales publications actuellement disponibles portant, ou apportant des données, sur la détection de l'infection Zika par RT-PCR	26
Annexe 5. Compte rendu de l'entretien téléphonique avec le CNR des arbovirus	28
Références	30
Fiche descriptive	32

Abréviations et acronymes

ACOG	<i>American College of Obstetricians and Gynecologists</i>
ADNc.....	ADN complémentaire
ANSM.....	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CIRE	Cellule de l'institut de veille sanitaire en région
CNPGO.....	Conseil national professionnel de gynécologie et obstétrique
CNR	Centre national de référence
DFA.....	Départements français d'Amérique
ECDC.....	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
ELISA.....	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i> (test immunoenzymatique)
HAS.....	Haute Autorité de santé
HCSP	Haut conseil de la santé publique
HPS.....	<i>Health Protection Scotland</i>
IF.....	Immunofluorescence
IgG	Immunoglobuline G
IgM.....	Immunoglobuline M
LA.....	Liquide amniotique
LAP	Liste des actes et prestations
NABM.....	Nomenclature des actes de biologie médicale
OAHP	<i>Ontario Agency for Health Protection and Promotion</i>
PAHO/WHO.....	<i>Pan American Health Organization/World Health Organization</i> (Organisation panaméricaine de la santé / Organisation mondiale de la santé)
PHE.....	<i>Public Health England</i>
RCM.....	<i>Royal College of Midwives</i>
RCOG	<i>Royal College of Obstetricians and gynecologists</i>
RBP.....	Recommandations de bonne pratique
RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction</i> (transcription inverse - amplification par polymérisation en chaîne)
SGB	Syndrome de Guillain-Barré
SMFM	<i>Society for Maternal Foetal Medicine</i>

1. Saisine

Le **virus Zika** est un *flavivirus* transmis par piqûre de moustiques appartenant au genre *Aedes*, qui a notamment été à l'origine d'une importante épidémie en Polynésie française en 2013. En **mai 2015**, une importante **épidémie due à ce virus s'est déclarée au Brésil**. Depuis l'épidémie s'est **répandue rapidement** et affecte aujourd'hui plus de 20 pays et territoires d'Amérique du Sud et Centrale, ainsi que les Caraïbes. Des cas autochtones sont rapportés depuis décembre 2015 dans les départements français d'Amérique (DFA), en particulier la Martinique et la Guyane, aujourd'hui en situation épidémique. La Guadeloupe et Saint-Martin sont en stade de circulation virale débutante. Quelques cas importés ont été détectés en France métropolitaine.

La majorité des personnes infectées ne présentent pas de symptômes (70-80 %) et dans les cas symptomatiques, la maladie est habituellement bénigne. Cependant, une **augmentation importante des cas de microcéphalies fœtales ou néonatales** contemporaine à l'épidémie par le virus Zika a été rapportée par le Brésil et la Polynésie française (épidémie de 2013), ainsi qu'une augmentation inhabituelle des cas de **syndromes de Guillain-Barré (SGB)**. Le lien de causalité entre ces augmentations d'incidence et l'épidémie du virus Zika n'est pas formellement démontré. Néanmoins, celui entre les microcéphalies et l'infection par le virus Zika est considéré comme « fortement suspecté » par l'OMS qui dans ce contexte a déclaré le 1^{er} février 2016 que l'épidémie de virus Zika constituait une « **urgence de santé publique de portée internationale** ».

Compte tenu du surrisque potentiel de malformations congénitales et de maladies neurologiques, associé à l'infection par le virus Zika, de la situation épidémiologique actuelle de l'infection dans les DFA, et du risque potentiel en métropole lié à l'arrivée de l'été dans les régions où le vecteur *Aedes* est présent, la HAS a été **saisie par la Ministre des Affaires Sociales, de la Santé et des Droits de la Femme** pour l'obtention en urgence d'un **avis concernant le test de détection directe du virus par recherche de son ARN (RT-PCR) dans le sang et les urines**. Cet avis lui **permettra l'inscription pour raison de santé publique de ce test à la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM)**. Ce test peut en effet permettre de confirmer ou infirmer le diagnostic d'infection par le virus Zika chez un sujet suspecté d'être infecté du fait de la survenue de certains symptômes évocateurs¹.

¹ Le HCSP a défini les critères identifiant un « cas suspect » : exanthème maculopapuleux avec ou sans fièvre, avec au moins deux des symptômes suivants : hyperhémie conjonctivale, arthralgies, myalgies en l'absence d'une autre étiologie (1).

2. Contexte

2.1 Épidémiologie de l'infection - Situation épidémique actuelle

Le virus Zika appartient à la famille des *Flaviviridae* du genre *Flavivirus* comme ceux de la dengue et de la fièvre jaune. Il est transmis par piqûre de moustiques appartenant au genre *Aedes*, également vecteurs des virus de la dengue et du chikungunya (2, 3).

Le virus Zika a été découvert chez un singe Rhésus en Ouganda en 1947, puis isolé chez l'homme en 1952 et a connu une transmission endémique en Afrique et en Asie, avant de se propager plus récemment en Océanie, dans le Pacifique, provoquant plusieurs épidémies. Lors d'une épidémie affectant la **Micronésie** en **2007**, 75 % de la population a été infectée (4). **Entre 2013 et 2015**, quelques épidémies sont survenues sur les îles et les archipels de la région du **Pacifique**, dont une importante épidémie en **Polynésie française** en **2013**. Puis, en **mai 2015**, le **Brésil** a rapporté son premier cas de transmission locale du virus Zika. Depuis le virus s'est répandu rapidement, dans la plupart des pays d'Amérique du Sud et d'Amérique Centrale du Paraguay au Mexique, dans les Caraïbes, ainsi que dans d'autres pays extérieurs à cette région (5). Une liste, et carte associée, des pays affectés par la transmission du virus Zika est disponible et régulièrement actualisée sur le site internet de l'*European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC)². Les départements français d'Amérique (DFA) ont rapporté leurs premiers cas autochtones mi-décembre 2015. Dans son point épidémiologique du 18 février 2016, la Cellule de l'institut de veille sanitaire en région (CIRE) Antilles-Guyanes décrivait la situation comme épidémique en Martinique et Guyane, en phase de circulation virale débutante en Guadeloupe et à Saint-Martin, et aucun cas à ce jour identifié à Saint-Barthélemy (3, 6).

2.2 Modes de transmission

L'infection par le virus Zika est une arbovirose. La transmission du virus est presque exclusivement vectorielle par des **moustiques du genre *Aedes***, en particulier *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* (2, 3). Si l'hôte est piqué par un moustique alors qu'il est virémique, il peut infecter le moustique, contribuant ainsi au cycle de transmission (2).

Une **transmission verticale entre la mère et son fœtus** a été documentée. Elle peut vraisemblablement se produire tout au long de la grossesse (2, 7).

La transmission par **transfusion** de produits sanguins a été rapportée au Brésil. Enfin, le virus a été détecté dans le sperme et plusieurs cas de **transmission sexuelle** ont été signalés (2, 8).

2.3 Symptomatologie clinique - Augmentation de l'incidence des microcéphalies et syndromes de Guillain-Barré associée à l'épidémie

Un grand nombre de personnes infectées ne présentent **aucun symptôme (de l'ordre de 70-80 %)** (2, 9).

Les **symptômes**, lorsqu'ils sont présents, se caractérisent généralement par une **éruption cutanée (exanthème maculopapuleux) avec ou sans fièvre** (peu élevée et transitoire). D'autres signes ont été décrits tels que : fatigue, **douleurs musculaires et articulaires**, **hyperhémie conjonctivale**, maux de tête et douleurs rétro-orbitaires, et plus tardivement œdèmes des extrémités. Après la piqûre par le moustique infecté, les **symptômes** apparaissent généralement **en 3 à 12 jours**. Les infections à virus Zika évoluent habituellement en des maladies cliniques bénignes.

² http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/zika_virus_infection/zika-outbreak/Pages/Zika-information-travellers.aspx

Les symptômes **durent entre 4 et 7 jours** et la guérison intervient au bout de quelques jours dans la grande majorité des cas. Les cas de décès sont exceptionnels (3, 10).

Cependant, des **complications graves inhabituelles** constituent, à l'heure actuelle, la **préoccupation majeure** associée à l'épidémie en cours. Une **augmentation d'incidence des microcéphalies³ et d'autres anomalies du développement cérébral intra-utérin** a en effet été rapportée par le Brésil. La Polynésie française, suite à l'épidémie de 2013, aurait connu le même phénomène. Une augmentation des cas de **syndrome de Guillain-Barré (SGB)**, maladie caractérisée par une atteinte des nerfs périphériques, a également été rapportée dans les zones touchées par le virus au Brésil et, plus tôt, en Polynésie française (2, 6).

L'**association** entre microcéphalie et infection Zika est **soutenue par des éléments forts** dont le regroupement spatial et temporel de cas de microcéphalies chez les enfants naissant dans le contexte de la survenue de l'épidémie du virus et a été étayée dans un petit nombre de cas par la détection du génome viral du virus Zika dans le liquide amniotique, le placenta et les tissus des fœtus et des nouveau-nés touchés. Il reste **néanmoins beaucoup d'incertitudes quant à cette association**, qui n'est notamment pas retrouvée à ce jour en Colombie (2, 6). En outre, il a récemment été mis en évidence un phénomène de surdéclaration au Brésil des atteintes neurologiques chez les fœtus et nouveau-nés liée à l'alerte sanitaire, complexifiant l'interprétation des données (3). La possibilité de l'incrimination d'un pesticide, le pyriproxyfène, déversé au Brésil dans les réservoirs d'eau pour lutter contre le moustique vecteur, notamment dans les zones où une augmentation des malformations congénitales a été observée, a été récemment évoquée (11). Des efforts importants sont actuellement déployés pour confirmer ou infirmer l'existence éventuelle d'un lien de causalité et la présence éventuelle d'autres facteurs de risque contributifs (co-infection ou infection en série avec d'autres virus, état nutritionnel, autres facteurs environnementaux) (2). Actuellement, il n'existe pas non plus de preuve formelle de l'association entre SGB et infection par le virus Zika.

2.4 Techniques diagnostiques de l'infection par le virus Zika

2.4.1 Diagnostic direct : détection de l'ARN du virus par RT-PCR

Principe de la RT-PCR

Le virus peut être détecté directement dans différents types d'échantillons biologiques par technique de RT-PCR, pour *Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction* (transcription inverse - amplification génique par polymérisation en chaîne). La PCR est une technique d'amplification des fragments d'ADN mais le virus Zika est un virus à ARN. Par conséquent, pour détecter l'ARN viral par PCR, il faut passer par une étape intermédiaire, la **transcription inverse**, qui transforme l'ARN en son ADN complémentaire (ADNc). Le brin d'ADNc est ensuite amplifié au cours de la PCR. L'ensemble des deux réactions est appelé RT-PCR. Actuellement, la phase de PCR est toujours une **PCR en temps réel**, où amplification et détection sont réalisées conjointement.

Techniques utilisées

La RT-PCR pour la détection du virus Zika avait jusqu'à récemment été réalisée uniquement par des techniques dites « maison » (généralement méthodes publiées par Lanciotti *et al.* (12) et Faye *et al.* (13)), mais depuis fin janvier, **un premier kit commercial disposant d'un marquage CE** est disponible, le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 commercialisé par la firme Altona Diagnostics (Hambourg, Allemagne). Selon les informations fournies par l'ANSM le 23 février 2016, trois autres kits commerciaux sont en cours de marquage CE⁴ (cf. Annexe 1). La notice de janvier 2016

³ Le terme microcéphalie désigne un volume de crâne inférieur à celui des individus de même sexe et de même âge.

⁴ Pour ce genre de kit, le marquage CE est un automarquage.

du kit RealStar® indique une sensibilité analytique de 0,61 copies/µl d'« éluat »⁵. Les données de validation n'ont donc vraisemblablement pas été obtenues avec des échantillons biologiques (la notice ne fait mention que de l'utilisation d'ARN de virus Zika), et les types de prélèvements auxquels l'usage du test est destiné ne sont *a fortiori* pas précisés non plus. La spécificité analytique a été évaluée par rapport à un panel d'ARN génomiques d'*alphavirus* et autres pathogènes, et la détection de tous les génotypes de recherche pertinente des lignées asiatiques et africaines est revendiquée.

Utilisation de la RT-PCR dans le sang et les urines

La durée de la détectabilité du virus dans le sang est vraisemblablement courte. Elle serait comprise entre trois jours et une semaine après le moment de survenue des symptômes. Celle de la détectabilité du virus dans les urines serait supérieure, de l'ordre de dix jours ou un peu plus. L'objectif de la RT-PCR dans ces deux prélèvements est donc le **diagnostic précoce de l'infection, dans les dix jours environ qui suivent l'apparition des symptômes**. Les problématiques attendant à l'utilisation et aux conditions de réalisation du test dans ces prélèvements font l'objet du présent argumentaire et sont donc développées dans la suite de ce document.

Autres prélèvements

- **Salive** : le virus n'y est apparemment pas détectable plus longtemps que dans le sang. Dans l'état actuel des choses, ce prélèvement ne présenterait pas réellement de valeur ajoutée au regard du prélèvement sanguin et il n'est pas recommandé dans les recommandations de bonne pratique (RBP) (3, 14).
- **Liquide amniotique (LA)** : dans la plupart des RBP disponibles actuellement⁶, il est indiqué qu'un prélèvement de LA est à envisager pour rechercher une infection Zika lorsque les résultats de RT-PCR sur sang et/ou urines sont positifs (ou indéterminés) chez une femme enceinte ou si une microcéphalie fœtale ou anomalie cérébrale (calcifications intracrâniennes notamment) est diagnostiquée par échographie, en zone d'endémie ou retour de zone d'endémie à virus Zika. Cette possibilité, plus qu'une réelle préconisation actuellement, est présentée avec une grande prudence et le nombre d'inconnues à ce jour est souligné. En effet, les performances de la recherche du Zika par RT-PCR dans le LA ne sont pas connues, de même que le risque de microcéphalie ou autre anomalie congénitale si le virus est détecté dans le LA (5, 7, 15). L'amniocentèse étant de plus associée à un risque de fausse couche et d'accouchement prématuré, une prise en charge par des professionnels de médecine fœtale pour une évaluation du bénéfice/risque est avant tout recommandée (5).
- **Sang de cordon, placenta, urines du nouveau-né** : ces prélèvements sont préconisés dans certaines RBP en cas d'infection maternelle par le virus Zika confirmée pendant la grossesse et/ou d'anomalie échographique évocatrice d'une infection par le virus Zika observée en cours de grossesse (1, 16, 17).

2.4.2 Diagnostic indirect : détection des anticorps spécifiques IgM +/- IgG anti-Zika

Les IgM spécifiques du virus Zika peuvent être détectées par technique ELISA ou immunofluorescence dans le sérum des patients infectés, environ cinq jours après la survenue des symptômes et **peuvent permettre un diagnostic de l'infection plus tardif** que la RT-PCR sur sang et urines. Le problème majeur de l'utilisation de cette recherche sérologique, avec les techniques disponibles actuellement, est son manque de fiabilité du fait de l'existence de **réactions croisées** entre les anticorps anti-Zika et ceux résultant des infections par d'autres *flavivirus*, en particulier le virus de la dengue qui co-circule très souvent avec le virus Zika. En d'autres termes, un résultat positif pour la recherche d'IgM anti-Zika ne prouve pas spécifiquement une infection par le virus Zika et un titrage des anticorps neutralisants (*a minima* ceux des virus Zika et de la dengue) par **séroneutralisation** doit compléter la recherche sérologique pour porter un diagnostic (5, 9, 18). Cependant, il

⁵ L'éluat est issu de la procédure d'extraction (finalisée par une élution) des acides nucléiques à partir de l'échantillon initial.

⁶ Dont celles sélectionnées pour analyse dans le présent document.

faut souligner que le test de séroneutralisation lui-même est parfois difficile d'interprétation, en particulier chez les sujets antérieurement infectés par un autre *flavivirus* ou vaccinés contre un *flavivirus*, tel que le virus de la fièvre jaune (7). En outre, cette technique est assez lourde et complexe (laboratoire sécurisé), rendant difficile une mise en œuvre en diagnostic de routine (9, 19).

Depuis fin janvier 2016, deux tests commerciaux marqués CE, un test ELISA et test d'immunofluorescence indirecte, sont disponibles auprès du laboratoire Euroimmun (Luebeck, Allemagne) pour la recherche des IgM et IgG anti-Zika. Le fabricant revendique une spécificité élevée de ces tests pour la recherche des anticorps anti-Zika, donc une absence de réactions croisées avec les autres *flavivirus*. Cependant, à ce jour, aucune donnée de validation de performances diagnostiques n'est disponible sur le site (aucune notice, ni autre document présentant des données attestant de la spécificité revendiquée).

2.4.3 Prise en charge financière par la collectivité des tests diagnostiques de l'infection par le virus Zika

La saisine de la ministre vise à inscrire le test de RT-PCR sur la NABM pour qu'il soit pris en charge lorsqu'il est réalisé par un laboratoire de biologie médicale privé de ville.

Actuellement, il existe dans la liste complémentaire de la Mission d'enseignement, de recherche, de référence et d'innovation (MERRI) G03 du Référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN), deux libellés permettant la prise en charge de cet acte lorsqu'il est réalisé en établissement. Il s'agit des libellés N138 (« RT-PCR temps réel qualitative simplex en 1 étape sur ARN infectieux ») et N139 (« RT-PCR temps réel quantitative simplex en 1 étape ARN infectieux ») du sous-chapitre 14-02 de cette liste : « 14-02-Détection du génome infectieux (applicables aux détections de génomes bactériens, viraux, parasitaires ou fongiques) ».

Par ailleurs, il existe sur la NABM un libellé pour la recherche des IgG et des IgM anti-Zika. Il s'agit de l'acte 1253 « Recherche des IgM et des IgG par EIA » du paragraphe « Arboviroses (autres que les infections par les virus de la dengue ou du chikungunya) » du sous-chapitre 7-06 « Sérologie virale ».

2.5 Traitement et prévention

2.5.1 Traitement

Il n'existe **pas actuellement de traitement spécifique** de l'infection à virus Zika. Le **traitement est symptomatique** :

- repos, hydratation ;
- paracétamol si fièvre ou douleurs, anti-inflammatoires contre-indiqués et acide salicylique à éviter en raison de la coexistence de la dengue dans les zones où circule le virus Zika ;
- anti-histaminique si éruption prurigineuse (1, 20).

Des mesures de protection individuelle doivent être appliquées par le patient et son entourage pour rompre la chaîne de transmission pendant toute la durée de ces symptômes (protection contre les piqûres) (20).

2.5.2 Prévention

Il n'existe à ce jour **pas de vaccin**. La prévention de l'infection passe par la **lutte antivectorielle**.

Au niveau individuel

Les moustiques associés au virus Zika sont actifs à la fois pendant le jour et la nuit ; les piqûres sont néanmoins plus fréquentes le matin et en fin d'après-midi.

Ces mesures s'adressent aux personnes se rendant, résidant ou revenant d'une zone de circulation du virus.

- Privilégier le port de vêtements longs et clairs.
- Utiliser des répulsifs cutanés.
- Utiliser des moustiquaires (de lit et de berceau), de préférence imprégnées.
- Imprégner tissus et vêtements par un insecticide (20, 21).

Dans son avis de janvier 2016 actualisant celui de juillet 2015 « relatif à la prise en charge médicale des personnes atteintes par le virus Zika », le HCSP présente dans ces annexes une liste de répulsifs cutanés assortie des modalités d'utilisation chez l'enfant et la femme enceinte, ainsi qu'une liste de produits biocides insecticides, à base de perméthrine, pour l'imprégnation des vêtements, tissus et moustiquaires (1).

Au niveau communautaire

La prévention collective vise à réduire le nombre de moustiques en diminuant le nombre de sites de pontes (soucoupes de plantes, fossés, réservoirs d'eau, pneus abandonnés, etc.) en les asséchant, en les isolant ou en les traitant par des insecticides (21).

3. Méthode

Pour répondre dans les délais souhaités à cette demande s'intégrant dans un contexte d'urgence de santé publique, la HAS a pris en considération :

- d'une part, les **recommandations de bonne pratique (RBP)** d'agences et organisations de santé, sociétés savantes, nationales et internationales, recherchées de manière exhaustive (méthode en Annexe 2), comportant des préconisations pour le diagnostic biologique de l'infection Zika et positionnant clairement l'utilisation de la RT-PCR Zika sur sang +/- urines dans la stratégie diagnostique ;
- et d'autre part **la position du Centre nationale de référence (CNR) des arbovirus**⁷ rattaché à l'Institut de recherche biomédicale des armées (Hôpital Laveran, Marseille) dont la synthèse rédigée par la HAS se trouve au chapitre 5 et le compte rendu *in extenso* en Annexe 5.

Le diagnostic d'infection par le virus Zika par RT-PCR sur tout autre type de prélèvement ainsi que les tests sérologiques ont été considérés hors champ d'évaluation.

Il n'y a pas eu de sélection des RBP sur critères de qualité méthodologique compte tenu de la contrainte actuelle commune à toutes les organisations de santé de devoir se baser sur très peu de connaissances publiées, et des données en cours d'évolution. La **méthode des RBP** disponibles à ce jour **consiste** ainsi globalement à **se baser « sur les connaissances actuelles »**, en se présentant comme publiées sous un **statut provisoire**, et susceptibles d'être actualisées sur la base de l'arrivée de nouvelles données.

⁷ Interrogé en tant que partie prenante au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013 et conformément à la procédure de consultation des parties prenantes de la HAS, juin 2014.

4. Analyse des recommandations de bonne pratique (RBP)

Note préliminaire : l'infection par le virus Zika sera parfois nommée « infection Zika » dans la suite de ce document.

La recherche systématique a permis d'identifier onze RBP.

L'analyse des documents est présentée dans le Tableau 1. Les onze RBP présentées émanent de sept organisations de santé, ou consortiums d'organisations de santé, nationaux et internationaux : les sociétés savantes *American College of Obstetricians and Gynecologists / Society for Maternal Fœtal Medicine (ACOG/SMFM)*, le *Centers for Disease Control and Prevention* américains (CDC), le Conseil national professionnel de gynécologie et obstétrique (CNPGO), le Haut conseil de santé publique (HCSP), les organisations internationales *Pan American Health Organization / World Health Organization (PAHO/WHO)*, l'*Ontario Agency for Health Protection and Promotion (OAHPP)* et le consortium britannique *Royal College of Obstetricians and gynecologists / Royal College of Midwives / Public Health England / Health Protection Scotland (RCOG/RCM/PHE/HPS)*. Neuf RBP sur les onze datent de janvier ou février 2016, et huit d'entre elles sont des documents présentés comme provisoires, en rapport avec les données en constante évolution dans le contexte épidémique actuel. Les deux documents datés de 2015 comportent des préconisations de stratégie diagnostique qui n'ont pas été modifiées au cours des versions actualisées qui les ont suivis.

La synthèse de l'analyse des documents est présentée ci-dessous, sous la forme de plusieurs points abordés dans toutes les RBP et apparaissant donc être des points « clés ».

► Consensus sur l'intérêt de la RT-PCR Zika sur sang et urines pour le dépistage en phase précoce de l'infection

La RT-PCR sur sang et urines est préconisée pour le diagnostic de l'infection Zika en phase précoce par toutes les organisations de santé à l'origine des RBP. Il n'y a pas de définition précise identifiée de la phase dite « précoce », mais elle correspond globalement au moment où la virémie et/ou la virurie sont susceptibles d'être positive(s).

► Conditions de prescription d'une demande de RT-PCR Zika sur sang et/ou urines

L'ensemble des organisations de santé s'accorde à ne préconiser le diagnostic de l'infection par le virus Zika par RT-PCR que chez des **sujets en zone de transmission du virus ou de retour récent de zone d'endémie**. La limite de temps depuis le retour de zone à risque est généralement fixée à **deux semaines** (5, 15, 16, 18, 22, 23). La raison en est vraisemblablement que le délai d'apparition des symptômes après la piqûre par *Aedes* est estimé entre 3 et 12 jours. L'apparition de symptômes évocateurs au-delà de 12 jours (soit environ deux semaines) après le retour, doit donc faire rechercher une autre cause qu'une infection par le virus Zika.

L'ensemble des organisations de santé s'accorde également pour ne préconiser le diagnostic de l'infection par le virus Zika par RT-PCR sur sang/urines **que chez les sujets symptomatiques**, compte tenu des courtes durées de la virémie et de la virurie. Ces recherches permettent **d'infirmier ou confirmer une suspicion d'infection Zika sur la base de symptômes** identifiant un « **cas suspect** », ainsi défini par le HCSP : exanthème maculopapuleux avec ou sans fièvre avec au moins deux des symptômes suivants : hyperhémie conjonctivale, arthralgies, myalgies en l'absence d'une autre étiologie (1).

Enfin, il faut relever que **six RBP sur les onze** sélectionnées sont **dédiées** au diagnostic de l'infection uniquement chez la **femme enceinte**, en rapport avec le risque fortement suspecté de lien entre l'infection par le virus Zika et l'augmentation de l'incidence des microcéphalies fœtales/néonatales.

► Délai maximal entre le moment de survenue des symptômes et le (ou les) prélèvement(s) (sang, urines) pour la détection du virus Zika en RT-PCR

Il apparaît une hétérogénéité concernant les délais maximaux préconisés entre le moment de survenue des symptômes et la réalisation des prélèvements de sang et urines permettant une détection virale par RT-PCR.

- La **RT-PCR sur sang** est préconisée **jusqu'à cinq jours** (HCSP, PAHO/WHO) **ou sept jours** (CDC, ACOG, CNPGO, OAHPP, RCOG) en fonction des RBP.
- La **RT-PCR sur urines** est préconisée **jusqu'à sept jours** par le consortium RCOG/RCM/PHE/HPS **ou dix jours** par trois organisations de santé (HCSP, CNPGO, OAHPP) ; pour les organisations PAHO/WHO, la RT-PCR Zika peut être réalisée **quelques jours de plus dans les urines que dans le sang**, sans plus de précisions. Le CDC ne précise aucun délai pour les prélèvements d'urines.

► Recommandations relatives à la co-circulation fréquente des virus Zika, de la dengue et du chikungunya

Compte tenu des localisations géographiques souvent associées et des présentations cliniques proches des virus Zika, de la dengue et du chikungunya, il est recommandé par toutes les organisations ou consortiums d'organisations de santé ici considérés que les patients présentant des symptômes évoquant une infection Zika soient également dépistés pour le virus de la dengue et le chikungunya. En fonction des organisations de santé, la recherche des différents virus est préconisée simultanément (RT-PCR pour les trois virus sur sérum en parallèle (7)) ou séquentiellement (24).

► Discussion sur la littérature actuellement disponible

L'analyse des **références citées dans les recommandations**, lorsque des références sont citées, pour justifier les délais maximaux préconisés entre le moment de survenue des symptômes et la réalisation des prélèvements montre que les **articles sources sont très peu nombreux et similaires entre les RBP**. Au vu de la rareté des références, une interrogation de la base de données *Medline* a été réalisée afin de vérifier l'absence d'autre(s) article(s) d'intérêt potentiel (méthode en Annexe 3). Une recherche de tout type de publication sans limite de temps concernée par le diagnostic de l'infection Zika par RT-PCR a été réalisée. Cette recherche a identifié 27 articles, puis un tri avec élimination sur titre et abstract des articles considérés comme hors sujet⁸ et des *case-reports*, n'a permis de conserver que **six articles**. Les principales données apportées en matière de diagnostic par RT-PCR par ces six publications sont résumées dans le tableau en Annexe 4.

Seuls **trois articles** parmi les six **apportent des données sur la virémie** (12, 14, 25). Dans les trois publications, les **virémies sont détectables lorsque les prélèvements ont été réalisés jusqu'à environ trois jours après le moment de survenue des symptômes**. Dans une des trois études, l'effectif est très faible (six patients dont quatre positifs en RT-PCR) ; il est un peu plus important dans les deux autres (157 échantillons dont 17 positifs et 182 patients dont 103 positifs). **Un des trois articles rapporte des données** concernant la **durée de la virurie**, celui portant sur **six patients** (25). Cet article rapporte une virurie **détectable jusqu'à J15** en moyenne après le moment de survenue des symptômes (valeurs extrêmes : J10 à > J20) après le moment de survenue des symptômes. Ces trois articles sont ceux cités dans les RBP, ainsi que des *case-reports*, pour justifier des durées de détectabilité de virémie et virurie.

In fine, il existe clairement **très peu de données dans la littérature concernant la durée de détectabilité de la virémie et de la virurie**, ce qui explique en partie l'hétérogénéité des délais maximaux de prélèvements post-survenue des symptômes proposés dans les RBP, qui reposent alors tout ou partie sur l'expertise de professionnels ayant l'expérience de la RT-PCR Zika et la connaissance de données non publiées.

⁸ Articles ne portant pas sur le diagnostic biologique de l'infection Zika ; tout article portant sur le diagnostic biologique a été conservé pour lecture intégrale quelle que soit la modalité technique mise en avant dans le titre/abstract, soit six articles.

Enfin, **deux facteurs** sont **sans doute impliqués dans la variabilité** des durées de détectabilité de virémie rapportés dans les publications et de délais maximaux de prélèvements après la survenue des symptômes préconisés dans les recommandations :

- **l'évolution des techniques de PCR**, détaillée plus loin dans le document avec le CNR. Dans les trois articles susmentionnés, les techniques de RT-PCR étaient des techniques « maison », basées sur la technique décrite par Lanciotti *et al.* (12), vraisemblablement moins sensible que les kits commerciaux arrivant sur le marché (cf. compte rendu en Annexe 5) ;
- **la probable variabilité de datation de moment de survenue des symptômes** : l'estimation de la durée de détectabilité du virus dans le sang (ou dans les urines) part du principe que le moment de survenue des symptômes est correctement évalué, ce qui n'est pas nécessairement toujours le cas. En l'occurrence, Gourinat *et al.* notent avoir inclus les patients de leur étude sur les symptômes les plus évocateurs de l'infection par le virus Zika, dont l'exanthème. Or, certains patients ont déclaré *a posteriori* avoir connu une phase faiblement fébrile (de deux-trois jours) avant l'apparition du rash, qui constituait donc le premier signe. Ce retard de détection des premiers symptômes peut amener à mesurer une virémie déjà en phase décroissante au moment du rash (25). **Bien repérer le début des symptômes semble donc essentiel pour optimiser la possibilité de détecter la virémie et la virurie**, même si la durée de la virurie est *a priori* un peu plus longue.

Tableau 1. Principales recommandations nationales et internationales disponibles en février 2016 portant sur l'utilisation de la RT-PCR pour la détection du virus Zika dans le sang et les urines.

Date limite d'inclusion des nouvelles publications : 22/02/2016

Auteur	Date	Pays	Titre	Recommandations concernant l'utilisation de la RT-PCR pour la détection du virus Zika
<i>American College of Obstetricians and Gynecologists / Society for Maternal Fœtal Medicine (ACOG/SMFM)</i> (23)	Février 2016	Etats-Unis	<i>Practice Advisory: Interim Guidance for Care of Obstetric Patients During a Zika Virus Outbreak</i>	Pour les femmes enceintes développant des symptômes pendant un voyage ou dans les deux semaines suivant leur retour d'une zone endémique , ces sociétés savantes renvoient aux modalités diagnostiques du CDC « <i>Updated diagnostic testing for Zika, chikungunya, and dengue viruses in US Public Health Laboratories</i> » (janvier 2016, se reporter à cette référence dans ce tableau).
<i>Centers for Disease Control and Prevention (CDC)</i> (15)	Janvier 2016	Etats-Unis	<i>Interim Guidelines for Pregnant Women During a Zika Virus Outbreak United States, 2016</i>	<p>Le dépistage de l'infection Zika⁹ est indiqué pour les femmes enceintes répondant aux critères suivants : historique de voyage dans une zone de transmission de Zika ET deux symptômes ou plus cohérents avec une infection Zika (survenue aiguë de fièvre, rash maculopapulaire, arthralgie, ou conjonctivite) durant ou au cours des deux semaines ayant suivi le retour du voyage OU qui présentent des anomalies échographiques de type microcéphalie fœtale ou calcifications intracrâniennes¹⁰.</p> <p>⇒ Dépister une infection Zika n'est pas indiquée chez une femme n'ayant pas d'historique de voyage dans une zone de transmission du virus.</p> <p>Lorsque les symptômes ont eu lieu dans la semaine précédant le prélèvement, la recherche de l'infection Zika peut être réalisée par RT-PCR¹¹ sur sérum maternel.</p> <p>Remarque : du fait des localisations géographiques souvent associées et des présentations cliniques proches des virus Zika, de la dengue et du chikungunya, il est recommandé que les patients présentant des symptômes évoquant une infection Zika soient également dépistés pour la dengue et le chikungunya.</p>

⁹ Dans ce tableau, l'« infection par le virus Zika » sera parfois nommée « infection Zika ».

¹⁰ Chez la femme asymptomatique présentant des anomalies échographiques, la RT-PCR sur sang/urines n'est plus indiquée compte tenu des faibles durées de virémie/virurie. Le diagnostic d'infection Zika sera recherché par test sérologique.

¹¹ RT-PCR, *reverse transcription - polymerase chain reaction*.

Auteur	Date	Pays	Titre	Recommandations concernant l'utilisation de la RT-PCR pour la détection du virus Zika
Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (7)	Février 2016	Etats-Unis	<i>Interim Guidelines for Health Care Providers Caring for Pregnant Women and Women of Reproductive Age with Possible Zika Virus Exposure United States, 2016</i>	Ces recommandations complètent les recommandations de janvier 2016 (« <i>Interim Guidelines for the Evaluation and Testing of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection</i> ») notamment en intégrant les femmes enceintes résidant en zone de transmission du virus : femmes enceintes symptomatiques ayant voyagé <u>ou résidant</u> dans une zone de transmission du virus. La recommandation de détection virale par RT-PCR chez les femmes enceintes symptomatique dans la semaine précédant le prélèvement du document de janvier 2016, qui ne concernait que les femmes « ayant voyagé dans une zone de transmission du virus » s'étend aux femmes « résidant » dans une zone de transmission du virus.
Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (18)	Janvier 2016	Etats-Unis	<i>Updated diagnostic testing for Zika, chikungunya, and dengue viruses in US Public Health Laboratories</i>	Pour les patients qui présentent des symptômes évocateurs (une fièvre aiguë, un rash, une myalgie, une arthralgie) et qui ont voyagé au cours des deux précédentes semaines dans une zone de transmission de ces virus souvent associés, une recherche conjointe d'infection récente par les virus Zika, chikungunya, et dengue doit être envisagée. Pendant les sept premiers jours de ces infections , l'ARN viral peut souvent être identifié dans le sérum et la RT-PCR sur sérum est le test à privilégier pour les trois virus, en parallèle. Les urines sont une alternative, mais le sérum est préféré.
Conseil national professionnel de gynécologie et obstétrique (CNPGO) (16)	Février 2016	France	Virus ZIKA et femme enceinte ou en âge de procréer	Femme enceinte en zone d'endémie ou de retour de zone d'endémie (< 2 semaines) et suspecte d'une infection par le virus ZIKA : - RT-PCR Zika dans le sang et dans les urines entre J1 et J7 après le début des symptômes, seulement dans les urines entre J8 et J10 - si en zone d'endémie ou au retour de zone d'endémie, associer une recherche de la dengue et du chikungunya.
Haut conseil de santé publique (HCSP) (1)	Janvier 2016	France	Actualisation avis du HCSP du 28 juillet 2015 relatif à la prise en charge des personnes atteintes par le virus Zika	femmes enceintes en cas de suspicion¹² d'infection à virus Zika dans une zone de transmission de ce virus : La stratégie diagnostique est identique à celle proposée en juillet 2015 pour toute personne suspecte d'infection par le virus Zika en zone de transmission du virus (cf. recommandation concernée).

¹² **Cas suspect** : exanthème maculopapuleux avec ou sans fièvre avec au moins deux des symptômes suivants : hyperhémie conjonctivale, arthralgies, myalgies en l'absence d'une autre étiologie ; **Cas confirmé** : RT-PCR Zika positive sur le sang, l'urine ou tout autre prélèvement biologique (définitions HCSP) (1).

Auteur	Date	Pays	Titre	Recommandations concernant l'utilisation de la RT-PCR pour la détection du virus Zika
Haut conseil de santé publique (HCSP) (26)	Juillet 2015	France	Avis relatif à la prise en charge médicale des personnes atteintes par le virus Zika	<p>Le HCSP souligne la difficulté du diagnostic biologique de l'infection Zika, notamment du diagnostic direct par RT-PCR du fait de la virémie de courte durée (la virurie de durée légèrement supérieure).</p> <p>Il propose dans ce document une stratégie de diagnostic simultané des infections par les virus dengue, chikungunya et Zika.</p> <p>En cas de suspicion d'infection à virus Zika en zone de transmission du virus, il est recommandé de rechercher l'ARN du virus par RT-PCR sur sérum et urines de J0 à J5 après la date de début des signes. Entre J6 et J10 après le début des signes cliniques, le virus peut encore être recherché par RT-PCR dans les urines¹³</p> <p>Le diagnostic des infections dengue et chikungunya repose sur la stratégie de diagnostic nationale pour ces infections (prélèvement de sérum et détection du génome viral par RT-PCR de J0 à J7 après la date de début des signes et détection des IgM et des IgG à partir de J5).</p>
<i>Pan American Health Organization / World Health Organization (PAHO/WHO)</i> (10)	Janvier 2016	International	<i>Provisional remarks on Zika virus infection in pregnant women: Document for health care professionals</i>	<p>Le diagnostic virologique de l'infection Zika repose sur l'identification de l'ARN viral par RT-PCR. Le type d'échantillon requis dépend du délai écoulé entre le moment du prélèvement et la survenue des symptômes. L'ARN viral peut être détecté dans le sérum et la salive jusqu'à environ cinq jours après la survenue des symptômes, et quelques jours de plus dans les urines.</p>
<i>Pan American Health Organization / World Health Organization (PAHO/WHO)</i> (24)	Juin 2015	International	<i>Zika virus (ZIKV) Surveillance in the Americas: Interim guidance for laboratory detection and diagnosis</i>	<p>En présence d'un cas suspect d'infection Zika, si le prélèvement peut être réalisé dans les un à cinq jours (J1 à J5) suivant le début des symptômes, l'OMS recommande de rechercher l'ARN du virus par RT-PCR sur sérum en priorité, urines en alternative.</p> <p>Il faut noter que dans le cadre de ces recommandations, dédiées au continent américain où la dengue et/ou le chikungunya sont présents dans beaucoup de pays, la PAHO/WHO propose une stratégie globale séquentielle où le diagnostic d'infection Zika est un diagnostic d'exclusion. Les infections par la dengue et/ou le chikungunya sont d'abord recherchées sur le sérum prélevé entre J1 et J5 et si les résultats sont négatifs pour ces infections, alors seulement une infection Zika est recherchée.</p>

¹³ Ce protocole est celui actuellement appliqué aux Antilles et en Guyane (27).

Auteur	Date	Pays	Titre	Recommandations concernant l'utilisation de la RT-PCR pour la détection du virus Zika
<p><i>Ontario Agency for Health Protection and Promotion (OAHPP)</i> (22)</p>	<p>Février 2016</p>	<p>Canada</p>	<p><i>Zika Virus - Testing Information</i></p>	<p>Patients concernés par le dépistage d'infection Zika : patients développant des symptômes d'infection Zika en zone endémique, ou dans les deux semaines suivant leur retour.</p> <p>La détection du virus Zika peut être réalisée par RT-PCR dans le sérum jusqu'à sept jours et dans l'urine jusqu'à dix jours après la survenue des symptômes.</p> <p>La sensibilité de la RT-PCR est optimale lorsque les échantillons sont collectés le plus tôt possible au moment de la survenue des symptômes.</p> <p>Le chikungunya et la dengue sont également recherchés sur le sérum (RT-PCR). Si l'un des virus est détecté, la recherche de Zika n'est pas réalisée.</p>
<p><i>Royal College of Obstetricians and gynecologists / Royal College of Midwives / Public Health England / Health Protection Scotland (RCOG/RCM/PHE/HPS)</i> (5)</p>	<p>Février 2016</p>	<p>Royaume-Uni</p>	<p><i>Interim RCOG/RCM/PHE/HPS clinical guidelines Zika virus infection and pregnancy</i></p>	<p>Le dépistage de l'infection Zika est indiqué pour les femmes enceintes répondant aux critères suivants : revenant d'Amérique du Sud ou Centrale, des Caraïbes ou de la région Pacifique, et qui ont développé une fièvre et/ou d'autres symptômes, suggérant une infection par le virus Zika, pendant leur voyage ou dans les deux semaines suivant leur retour au Royaume-Uni.</p> <p>Pour les femmes présentant des symptômes dans la semaine précédant le prélèvement, il est recommandé de rechercher le virus Zika par RT-PCR sur sérum et urines.</p>

5. Position du Centre national de référence (CNR) des arbovirus

La HAS a recueilli le 15 février 2016, la position du CNR des arbovirus sur différents aspects de la détection du virus Zika par RT-PCR dans le sang et/ou les urines.

Le compte rendu de l'entretien est présent en Annexe 5 et a été validé par le CNR. Une synthèse de cet entretien rédigée par la HAS est présentée ci-dessous.

Depuis le mois de janvier 2016, ce CNR a reçu **plus de 2 000 prélèvements** pour demande de diagnostic d'infection par le virus Zika. Le CNR dispose par conséquent de **données de pratique professionnelle actuellement non disponibles dans la littérature**, en cours de recueil dans les pays concernés par l'épidémie.

Le CNR **confirme l'intérêt diagnostique de la RT-PCR dans le sang et les urines**, en préconisant différentes conditions et modalités pour l'utilisation du test.

► Conditions justifiant les demandes de RT-PCR Zika sur sang et/ou urines

Le CNR souligne l'importance du respect des conditions justifiant la demande du test par les prescripteurs, afin d'éviter un excès de demandes de recherches du virus Zika inutiles, ces conditions étant :

- **sujet en zone de transmission du virus Zika ou de retour de zone de transmission ;**
- **et « suspect » d'infection par le virus Zika**, selon la définition du HCSP : exanthème maculopapuleux avec ou sans fièvre avec au moins deux des symptômes suivants : hyperhémie conjonctivale, arthralgies, myalgies en l'absence d'une autre étiologie (1).

► Délai maximal entre le moment de survenue des symptômes et les prélèvements de sang et/ou urines

Concernant le délai maximal entre le moment de survenue des symptômes et le prélèvement pouvant permettre une détection du virus dans le sang ou les urines, le CNR **confirme qu'il existe actuellement peu de connaissances** sur la durée de la virémie et de la virurie, et qu'elles sont **en cours d'acquisition** et d'évolution rapide compte tenu du contexte.

Le CNR explique que l'évolution de la sensibilité des techniques de PCR utilisées est susceptible d'expliquer en partie la différence entre le délai maximal de détectabilité de virémie rapporté dans les quelques publications disponibles (trois jours environ), où des techniques « maison » ont été utilisées, et les délais maximaux de prélèvement globalement plus longs préconisés actuellement dans les recommandations (cinq ou sept jours). Ainsi, le CNR explique que le **kit commercial** aujourd'hui utilisé serait **environ 100 fois plus sensible** que les techniques « maison » utilisées antérieurement. Dans ces conditions, la virémie, comme la virurie, sont détectables quelques jours de plus qu'auparavant. Ainsi, le CNR estime que la **virémie est actuellement détectable jusqu'à environ sept jours après le début des symptômes**. Concernant la **virurie**, le CNR confirme qu'elle est détectable plus longtemps que la virémie, mais ne peut pas donner précisément d'estimation de durée maximale car il reçoit le plus souvent des prélèvements associés « urines et sang » précoces et rarement des urines plus tardives seules. Dans ce contexte de manque actuel de connaissances, le **CNR se positionne en accord avec le délai de dix jours** retrouvé dans plusieurs RBP (1, 16, 22).

► Qualités requises pour la technique utilisée

- La technique utilisée **doit détecter les deux types de lignages, asiatique et africain**, car bien que l'épidémie internationale actuelle soit dominée par la lignée asiatique, la lignée africaine circule en Afrique et pourrait émerger lors de la période d'activité du vecteur en France métro-

politaine, en fonction de la compétence réelle du vecteur *Aedes albopictus* présent sur le sol français.

- **Plus la sensibilité du test est bonne, plus il est possible d'allonger les délais de détection de la virémie et la virurie.** Le CNR a précisé estimer, à partir d'une gamme de particules infectieuses de virus Zika quantifié en culture cellulaire, la sensibilité du kit RealStar® pour la lignée asiatique et la lignée africaine du virus Zika autour de 0,2 et 1 particule infectieuse/ml respectivement. Sur ce point, le CNR a relevé qu'il n'existait **pas actuellement de kit commercial permettant une calibration standardisée**, tout à fait reproductible d'un laboratoire à un autre. Actuellement, le CNR fournit une gamme de particules infectieuses aux laboratoires souhaitant réaliser la détection du virus Zika par RT-PCR.

► Conditions de réalisation de la technique

- Pour le sang, le CNR recommande l'utilisation de **sérum** sur tube sec ou **plasma** sur tube EDTA, indifféremment.
- Selon le CNR, le **stockage** et le **transport** des prélèvements (sang et urines) ne présentent pas de difficultés. Le CNR recommande un **maintien à 4°C**, le virus serait stable plusieurs jours dans ces conditions (milieu riche en protéines).
- Le CNR préconise de **réserver la détection moléculaire du virus Zika aux établissements en capacité de rechercher** également en **pratique courante** les virus **dengue et chikungunya**, du fait de la co-circulation fréquente de ces virus.

► Rendu des résultats

L'expression des résultats est qualitative : positive ou négative. Le CNR indique ne pas préciser de seuil de détection sur le compte rendu des résultats de RT-PCR Zika. En l'occurrence, **dans le contexte actuel** où il n'existe pas de système disponible permettant une standardisation interlaboratoire de la calibration (kit commercial avec gamme calibrée, contrôle qualité externe), **un seuil de détection identique entre les laboratoires est difficile à envisager.**

6. Conclusion

L'intérêt de la détection du virus Zika par RT-PCR dans le sang et les urines est **consensuellement reconnu**, aussi bien dans les RBP identifiées que par le CNR des arbovirus.

Cependant, un élément essentiel n'est pas consensuel, en l'absence de connaissances suffisantes, celui de la durée de détectabilité du virus après le moment de survenue des symptômes dans le sang comme dans les urines, durée déterminant le délai maximal de prélèvement permettant la détection du virus. L'expérience du CNR l'amène à recommander un **délai maximal de sept jours pour les prélèvements de sang**, et cinq organisations de santé (ou consortiums d'organisations) françaises ou internationales parmi les sept considérées dans cette évaluation recommandent également un délai de sept jours. Ce délai fait donc l'objet d'un **consensus relatif, bien que de niveau de preuve faible**. Il en est de même pour le **délai maximal de dix jours pour les prélèvements d'urines** proposé par trois organisations de santé et validé par le CNR.

Sur cette base, la HAS donne un **avis favorable à l'inscription à la NABM de la détection du virus Zika par RT-PCR** sur la Liste des actes et prestations de cet acte dans l'indication suivante :

- **suspicion d'une infection par le virus Zika chez un patient :**
 - **symptomatique** ; pour rappel, les signes d'une infection à Zika sont un exanthème maculopapuleux avec ou sans fièvre, avec au moins deux des symptômes suivants : hyperhémie conjonctivale, arthralgies, myalgies en l'absence d'une autre étiologie,
 - **et se trouvant en zone de transmission du virus Zika ou de retour de zone de transmission** dans une limite de deux semaines suivant ce retour ;
- **pour le prélèvement sanguin jusqu'à sept jours entre le moment de survenue des symptômes et la réalisation du prélèvement ; dans les urines jusqu'à dix jours entre le moment de survenue des symptômes et le recueil des urines.**

La HAS souligne que les « délais limites » de sept et dix jours reposent sur de **faibles niveaux de preuve** et que ces délais pourraient être révisés sur la base de nouvelles données disponibles.

Du fait de la brièveté probable de la virémie et de la virurie et de **la difficulté à parfois dater le premier jour des symptômes**, un résultat négatif des RT-PCR doit être interprété avec précaution avant d'infirmier définitivement le diagnostic d'infection par le virus Zika.

Cet avis est assorti des **préconisations suivantes** :

- la **technique** utilisée doit être capable de **détecter les deux types de lignées** du virus Zika, **asiatique et africaine** ;
- **dans les zones où peuvent circuler les virus de la dengue et/ou du chikungunya, la détection moléculaire du virus Zika doit** associer la recherche de ces deux autres virus et donc **être réservée aux laboratoires en capacité de rechercher également en pratique courante les virus dengue et chikungunya** ;
- l'**indication** du test doit être **respectée** par les prescripteurs et rappelée dans leur demande (présence de symptômes et leur date de survenue) ;
- concernant les prélèvements sanguins, **sérum ou plasma** (sur tube EDTA) peuvent être indifféremment utilisés ; la conservation se fait à **+ 4°C** (sang et urines).

Enfin, il faut souligner que si le présent avis est favorable dans le contexte de santé publique actuel, des **réserves importantes** existent concernant :

- les durées de détectabilité de la virémie et de la virurie, dont dépendent les délais maximaux de prélèvements sanguins et urinaires suite à la survenue des symptômes ;
- l'absence de calibration standardisée qui ne permet pas à l'heure actuelle de définir un seuil de détection homogène entre les laboratoires ; le résultat est donc uniquement qualitatif.

Annexe 1. Kits commerciaux permettant la détection par RT-PCR du virus Zika et possédant ou en cours d'acquisition d'un marquage CE

Source ANSM 2302/2016. L'ANSM a autorisé la publication de ces données dans le présent document.

Nom du dispositif	Fabricant	Marqué CE ? (date)	NOTICE					
			Type d'échantillon	Procédure d'extraction mentionnée ?	Mode opératoire mentionné ?	Liste des autres dispositifs à utiliser précisée ?	Sensibilité et spécificité analytiques mentionnées ?	Etudes cliniques (sensibilité et spécificité diagnostiques) mentionnées ?
Real Star® Zika Virus	Altona (Allemagne)	OUI 27/01/16	Non précisé	QIAamp Viral RNA® (QIAGEN)	OUI	OUI	1) OUI 0,61 copie/μl d'éluat 2) Plusieurs autres souches virales testées	NON
FTD Zika Virus®	Fast-Track-diagnostics (Luxembourg)	NON (en cours)	Sérum, urine, salive (pas de plasma sur tube hépariné)	OUI	OUI	OUI	NON	NON
Eurobioplex Zika Virus® v2.0	Eurobio (France)	NON (en cours)	Non précisé	InnuPREP Blood RNA® kit (Eurobio) ou autre	OUI	OUI	OUI 30 copies/μl d'éluat 2) Spécificité non précisée	NON
LightMix Modular Zika Virus FAM®	TIB - Molbiol (Allemagne) Distributeur ROCHE	NON (en cours)	Sang, plasma, urine	Modular Dx Extraction Protocols	OUI	OUI	1) <1 copie/μl d'éluat 2) Bonne spécificité évoquée mais non détaillée	NON

Annexe 2. Recherche des recommandations de bonne pratique (RBP)

La recherche a porté sur les RBP comportant des préconisations pour le diagnostic biologique de l'infection Zika et positionnant clairement l'utilisation de la RT-PCR Zika sur le sang et/ou les urines dans la stratégie diagnostique. Cette recherche a été limitée aux publications en langue anglaise et française et a porté sur la période allant du 01/01/2010 au 22/02/2016.

Les sources suivantes ont été interrogées :

- pour la littérature internationale : la base de données *Medline* ;
- la *Cochrane Library* ;
- les sites internet publiant des recommandations, des rapports d'évaluation technologique ;
- les sites internet des sociétés savantes compétentes dans le domaine étudié.

Base de données bibliographiques *Medline*

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

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

Le tableau ci-dessous présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données *Medline*. Le **nombre total de références obtenues** par interrogation de cette base de données bibliographiques est **cinq**. Parmi ces références, deux seulement étaient susceptibles d'être incluses mais constituaient des doublons avec des références déjà identifiées sur le site internet du CDC. *In fine*, **aucune référence issue de *Medline* n'a été incluse**.

Sujet/Type d'étude		Période
Termes utilisés		
Virus Zika : recommandations, méta-analyses et revues systématiques		01/01/2010-22/02/2016
Etape 1	(Zika Virus OR Zika Virus Infection)/de OR (zika OR ZIKV)/ti,ab	
ET		
Etape 2	(recommendation* OR guideline* OR statement* OR consensus OR position paper)/ti OR health planning guidelines/de OR (practice guideline OR guideline OR Consensus Development Conference OR Consensus Development Conference, NIH)/pt OR (metaanalys* OR meta-analys* OR meta analysis OR systematic review* OR systematic overview* OR systematic literature review* OR systematical review* OR systematical overview* OR systematic literature review* OR systematic literature search)/ti OR meta-analysis/pt OR cochrane database syst rev/ta	

de : descriptor ; *ti* : title ; *ab* : abstract ; *ta* : journal title ; *pt* : publication type ; *!* : explosion du terme générique ; *ot* : mots clés de l'auteur ; *sc* : concept supplémentaire

Liste des sites internet consultés

La **recherche sur sites internet** (listés ci-dessous) a sélectionné **onze références** comportant le type de préconisations recherchées dans le cadre de cette évaluation. **Ces onze références constituent le nombre total de références incluses pour l'évaluation**.

Liste des sites internet d'institutions de santé et sociétés savantes consultés :

Agence régionale de santé Océan Indien
Catalogue et index des sites médicaux francophones - CISMeF
Collège national des gynécologues et obstétriciens français - CNOG
Comité d'évaluation et de diffusion des innovations technologiques - CEDIT
Conseil national professionnel de gynécologie et obstétrique - CNPGO
Evaluation des technologies de santé pour l'aide à la décision - ETSAD
Haut conseil de santé publique - HCSP
Haute Autorité de santé - HAS
Institut national de veille sanitaire - INVS
Institut Pasteur
Institut scientifique de santé publique
Ministère de la santé
Société de pathologie infectieuse de langue française - SPILF
Société française de médecine générale - SFMG

Agence de la santé publique du Canada - ASPC
Agency for Healthcare Research and Quality - AHRQ
American College of Physicians - ACP
Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada - AMMI
Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health - CADTH
Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases - CACMID
Canadian Task Force on Preventive Health Care
Centers for Disease Control and Prevention - CDC
Centre fédéral d'expertise des soins de santé
Centre for Reviews and Dissemination
Cochrane Library
European Centre of Disease Prevention and Control - ECDC
European Commission - EC
European Information Network on New and Changing Health Technologies
European Medicines Agency - EMA
European Network for Diagnostics of "Imported" Viral Diseases - ENIVD
European Network for Health Technology Assessment
Euroscan
Government of India
Guidelines International Network - GIN
Health Services Technology Assessment Text - HSTAT
Health Technology Assessment International
International Network of Agencies for Health Technology Assessment - INAHTA
Infectious Diseases Society of America - IDSA
Institut de médecine tropicale - IMT
Ministry of Health (Brésil)
National Coordinating Centre for Health Technology Assessment - NCCHTA
National Guideline Clearinghouse - NGC
National Health Service - NHS
National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE
National Institute of Allergy and Infectious Diseases - NIAID
New Zealand Ministry of Health - NZMH
NHS Evidence
Pan American Health Organization - PAHO
Société des obstétriciens et gynécologues du Canada - SOGC
The American College of Obstetricians and Gynecologists - ACOG
Tripdatabase
U.S. Preventive Services Task Force
World Health Organization - WHO

Annexe 3. Recherche sur la base de données *Medline* des publications portant sur la détection du virus Zika par RT-PCR

Une recherche sur la base de données *Medline* a été réalisée sans limite de temps jusqu'au 22/02/2016, limitée aux publications en langue française et anglaise. Le tableau ci-dessous présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation.

Sujet/Type d'étude		Période
Termes utilisés		
Diagnostic par PCR d'une infection par le virus ZIKA / Tous types d'études		Sans limite - 22/02/2016
Etape 1	(Zika Virus OR Zika Virus Infection)/de OR (zika OR ZIKV)/ti,ab	
ET		
Etape 2	Polymerase Chain Reaction/de OR (Polymerase Chain Reaction OR Real-Time Polymerase Chain Reaction OR PCR OR RT-PCR)/ti,ab	

de : descriptor ; *ti* : title ; *ab* : abstract ; *ta* : journal title ; *pt* : publication type ; *!* : explosion du terme générique ; *ot* : mots clés de l'auteur ; *sc* : concept supplémentaire.

Le **nombre total de références** obtenues par interrogation de cette base de données bibliographiques a été de **28**. Un **tri** avec élimination sur titre et abstract des articles ne portant pas sur le diagnostic biologique de l'infection par le virus Zika, ainsi que des *case-reports*, **n'a conservé que six articles**. Les principales données apportées par ces articles concernant la détection du virus Zika par RT-PCR sont présentées en Annexe 4.

Annexe 4. Principales publications actuellement disponibles portant, ou apportant des données, sur la détection de l'infection Zika par RT-PCR

Auteur	Date	Titre	Principales données d'intérêt en termes de diagnostic par RT-PCR de l'infection par le virus Zika
Faye <i>et al.</i> (28)	2008	<i>One Step RT-PCR method for detection of Zika virus</i>	- Article présentant les données de validation d'une technique de RT-PCR Zika sur échantillons non cliniques .
Faye <i>et al.</i> (13)	2013	<i>Quantitative real-time PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught Mosquitoes</i>	- Article présentant les données de validation d'une technique de RT-PCR identifiant un large panel de souches de virus Zika d'Afrique et d'Asie avec une grande spécificité. Aucun échantillon clinique testé .
Balm <i>et al.</i> (29)	2012	<i>A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus</i>	- Article présentant les données de validation d'une technique de RT-PCR Zika sur échantillons non cliniques. - Puis, sur 88 échantillons de sérums de patients présentant des symptômes « <i>dengue-like</i> » mais négatifs pour la détection de dengue et de chikungunya, aucun résultat positif de RT-PCR Zika n'a été trouvé.
Gourinat <i>et al.</i> (25)	2015	<i>Detection of Zika Virus in Urine</i>	- Détection par RT-PCR de la virémie et virurie par RT-PCR chez n=6 patients . - Le moment de survenue des symptômes a été défini rétrospectivement par interrogatoire des patients, inclus sur la base de l'apparition du rash, une phase fébrile de 2-3 jours ayant selon les patients en réalité précédé l'apparition de ce signe. - Virémie détectable chez 4 patients sur 6 jusqu'à J2-J3 après le moment de survenue des symptômes . - Virurie positive chez les 6 patients jusqu'à ≤ J15 en moyenne (valeurs extrêmes : J10 à > J20) après le moment de survenue des symptômes .
Lanciotti <i>et al.</i> (12)	2008	<i>Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007</i>	- Parmi 157 échantillons de sérums de patients prélevés en « phase aiguë » d'infection Zika prouvée ¹⁴ (< J10 par rapport au moment de survenue des symptômes), 17 échantillons présentaient une virémie positive ; 15 sur 17 avaient été collectés ≤ 3 jours avant le moment de survenue des symptômes .

¹⁴ *A priori*, sérologiquement pour tous les prélèvements négatifs ou équivoques en RT-PCR, mais cela n'est pas clairement expliqué dans la publication.

Auteur	Date	Titre	Principales données d'intérêt en termes de diagnostic par RT-PCR de l'infection par le virus Zika
Musso <i>et al.</i> (14)	2015	<i>Detection of Zika virus in saliva</i>	<ul style="list-style-type: none"> - 855 patients présentant des symptômes évocateurs d'infection Zika ; 182 ont eu conjointement un prélèvement de sang et de salive. - 103 patients sur les 182 ont eu au moins un prélèvement positif en RT-PCR Zika. Le nombre de jours entre la survenue des symptômes et les prélèvements était (moyenne +/- SD) : <ul style="list-style-type: none"> ○ sang positif seul : 3,3 +/- 1,8, ○ salive positive seule : 3,5 +/- 1,5, ○ sang + salive : 2,6 +/- 1,3.

Annexe 5. Compte rendu de l'entretien téléphonique avec le CNR des arbovirus

COMPTE RENDU

Type de réunion : Entretien téléphonique

Titre : Détection par RT-PCR du virus Zika dans le sang et les urines

Date : 15/02/2016

Participants :

Dr Isabelle LEPARC-GOFFART, directrice du CNR des arbovirus (Hôpital Laveran, Marseille)

Dr Michèle MORIN-SURROCA, chef de service SEAP

Dr Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service SEAP

Dr Carole GIRAUD, chef de projet SEAP

L'entretien a porté sur le test de détection du virus Zika par RT-PCR dans le sang et les urines, qui fait l'objet de la saisine de la ministre de la santé à la HAS ; l'objectif étant de recueillir le retour d'expérience du CNR quant à l'utilisation de ce test ainsi que ses préconisations pour en faire une utilisation optimale.

Le CNR nous informe avoir reçu **plus de 2 000 prélèvements** pour demande de diagnostic d'infection par le virus Zika depuis le mois de janvier 2016, essentiellement des prélèvements **précoces** en matière de délais par rapport à la survenue des symptômes de l'infection. Le **délai maximal entre le moment de survenue des symptômes et le prélèvement** pour permettre une détection du virus dans le sang ou les urines constitue en l'occurrence la principale interrogation de la HAS. Ce délai est en effet hétérogène dans les recommandations et très peu documenté dans la littérature. Le CNR explique qu'il est actuellement difficile de répondre à cette question du fait, effectivement, du manque initial de connaissances et de l'évolution actuelle rapide des données, de plus difficiles à analyser en contexte épidémique. Ainsi, le CNR travaillait initialement avec une technique de RT-PCR dite maison, avec lequel la virémie observable était très courte (de l'ordre des trois jours, comme rapporté dans certaines publications). Puis, la transition vers le **kit marqué CE RealStar® (Altona)**, pour lequel le CNR rapporte une sensibilité 100 fois supérieure à celle de la technique maison¹⁵ a permis d'observer des **virémies** détectables quelques jours de plus. *In fine*, le CNR estime que la virémie serait détectable jusqu'à environ **sept jours** après le début des symptômes aujourd'hui. Il faut noter néanmoins que les niveaux de virémie restent vraisemblablement plus faibles que ceux de la dengue et du chikungunya. Concernant la **virurie**, le CNR la confirme détectable plus longtemps que la virémie, mais ajoute qu'il est difficile de donner une estimation de durée maximale notamment car il reçoit essentiellement des prélèvements (urines et sang) « précoces » et rarement des urines « tardives » seules¹⁶. Dans ce contexte de manque actuel de connaissances, le CNR se positionne en accord avec le délai de **dix jours** trouvé dans les recommandations.

¹⁵ Lors de la validation du compte rendu, le CNR a précisé ses données de validation de sensibilité du test RealStar® (données du fabricant : 0,6 copie/µl d'éluat). À partir d'une gamme de particules infectieuses de virus Zika quantifié en culture cellulaire, le CNR estime la sensibilité du kit RealStar® pour la lignée asiatique et la lignée africaine du virus Zika autour de 0,2 et 1 particule infectieuse/ml respectivement.

¹⁶ Lors de la validation du compte rendu, le CNR rappelle la difficulté, susceptible d'entraîner un biais, de la datation du moment de survenue des symptômes. Ainsi, si un fébricule précède la survenue d'un exanthème mais passe inaperçu, il est possible que la virémie soit déjà décroissante au moment de l'apparition de l'exanthème.

L'expression des résultats est **qualitative** : positive ou négative¹⁷.

Le CNR souligne l'**importance** :

- **de disposer d'une technique capable de détecter les deux types de lignées du virus Zika, asiatique et africaine**, car bien que l'épidémie internationale actuelle soit dominée par la lignée asiatique, la lignée africaine circule en Afrique et l'expérience de l'émergence du chikungunya à Montpellier vécue pendant l'été 2014 suggère que la lignée africaine du virus Zika pourrait également émerger lors de la période d'activité du vecteur en France métropolitaine, en fonction de la compétence réelle du vecteur *Aedes albopictus* présent sur le sol français (l'épidémie au Cap-Vert pourrait être due à la lignée africaine). En l'occurrence, le kit RealStar® détecte bien ces deux lignées, ce qui n'est pas toujours le cas des techniques maisons, dont la technique de Lanciotti *et al.* encore assez fréquemment utilisée ;
- **de réserver la détection moléculaire du virus Zika aux établissements en capacité de rechercher également en pratique courante les virus dengue et chikungunya**, compte tenu du fait que ces virus partagent le même vecteur que le virus Zika et de leur co-circulation ;
- **de bien (re)préciser les conditions indiquant une demande du test** afin d'éviter un excès de demandes de recherches du virus Zika inutiles :
 - **sujet en zone de transmission du virus Zika ou de retour de zone de transmission,**
 - **et « suspect » d'infection par le virus Zika** : exanthème maculopapuleux avec ou sans fièvre avec au moins deux des symptômes suivants : hyperhémie conjonctivale, arthralgies, myalgies en l'absence d'une autre étiologie¹⁸.

Le **stockage et le transport** des prélèvements ne posent **pas de problèmes particuliers**. Le CNR recommande un maintien à 4°C, le virus serait stable plusieurs jours dans ces conditions (milieu riche en protéines). Pour le sang, les prélèvements recommandés sont sérum sur tube sec ou plasma sur tube EDTA.

Selon le CNR, la **salive** en tant que type de prélèvement ne présente *a priori* pas d'intérêt particulier car le virus n'y serait pas détectable plus longtemps que dans le sang. Les demandes de test dans la salive reçues par le CNR actuellement le sont à des fins de recherche.

Une **réflexion** sur la détection du virus dans le **liquide amniotique et le sperme** sera certainement nécessaire **dans un proche avenir**, bien que non encore d'actualité, du fait de plusieurs cas récemment publiés de détection virale dans ces liquides biologiques, et de recommandations en cours d'élaboration dont le CNR a connaissance.

Conclusions

Concernant la détection du virus Zika par RT-PCR dans le sang et/ou les urines, la position actuelle du CNR des arbovirus en réponse aux interrogations de la HAS est la suivante :

- les données sur la virémie et virurie sont actuellement en cours d'acquisition, les connaissances évoluent ;
- avec un test de bonne sensibilité, la détection du virus Zika par RT-PCR dans le sang jusqu'à sept jours et dans les urines jusqu'à dix jours entre le moment de survenue des symptômes et la réalisation des prélèvements, peut être préconisée ;
- le résultat de ce test est qualitatif ;
- pour le sang, les prélèvements recommandés sont le sérum sur tube sec ou le plasma sur tube EDTA ; la conservation se fait à + 4°C (sang et urines) ;
- le test utilisé doit détecter les deux types de lignages, asiatique et africain ;
- le test doit être réalisé dans un établissement en capacité de rechercher également les virus dengue et chikungunya en pratique courante ;
- les conditions d'indication du test doivent être bien précisées aux prescripteurs (zone d'endémie, définition d'un cas suspect).

¹⁷ Lors de la validation du compte rendu, le CNR indique ne pas préciser de seuil de détection pour le rendu des résultats de RT-PCR Zika.

¹⁸ Définition donnée par le HCSP dans son rapport de juillet 2015.

Références

1. Haut Conseil de la santé publique. Avis relatif à l'actualisation de l'avis du HCSP du 28 juillet 2015 relatif à la prise en charge médicale des personnes atteintes par le virus Zika. Paris: HCSP; 2016. <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=532>
2. Agence de la santé publique du Canada. Recommandations canadiennes pour la prévention et le traitement du virus Zika. Ontario: ASPC; 2016. http://www.canadiensante.gc.ca/publications/diseases-conditions-maladies-affections/committee-statement-treatment-prevention-zika-declaration-comite-traitement-prevention/index-fra.php?_ga=1.220696861.481652380.1454948675
3. Haut Conseil de la santé publique. Avis relatif à l'inscription sur la liste des maladies à déclaration obligatoire de l'infection par le virus Zika. Paris: HCSP; 2016. <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=539>
4. Pan American Health Organization, World Health Organization. Question and answers: Zika and pregnancy. Washington: PAHO ; WHO; 2016.
5. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Interim RCOG/RCM/PHE/HPS clinical guidelines Zika Virus Infection and Pregnancy. Information for Healthcare Professionals London: RCOG; 2016. <https://www.rcog.org.uk/en/news/interim-clinical-guidelines-on-zika-virus-infection-and-pregnancy/>
6. Cellule interrégionale d'Epidémiologie Antilles-Guyane, Agence régionale de santé Guadeloupe Guyane Martinique Saint-Martin Saint-Barthélemy, Institut de veille sanitaire. Emergence du virus Zika aux Antilles Guyane. Situation épidémiologique. Point épidémiologique du 18 février. Le Point Epidémiol 2016;(6):1-7.
7. Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services. Update: Interim Guidelines for Health Care Providers Caring for Pregnant Women and Women of Reproductive Age with Possible Zika Virus Exposure — United States, 2016. MMWR 2016;65.
8. Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services. Interim Guidelines for Prevention of Sexual Transmission of Zika Virus — United States, 2016. MMWR 2016;65.
9. Haut Conseil de la santé publique. Prise en charge médicale des personnes atteintes par le virus Zika. Paris: HCSP; 2015. <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=517>
10. Pan American Health Organization, World Health Organization. Provisional remarks on Zika virus infection in pregnant women: Document for health care professionals. Washington: PAHO ; WHO; 2016. http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=33003
11. Physicians in the Crop-Sprayed Villages. Report from Physicians in the Crop-Sprayed Villages regarding Dengue-Zika, microcephaly, and mass-spraying with chemical poisons [En ligne] 2016. http://www.reduas.com.ar/wp-content/uploads/downloads/2016/02/Informe-Zika-de-Reduas_TRAD.pdf
12. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, *et al*. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. Emerg Infect Dis 2008;14(8):1232-9.
13. Faye O, Faye O, Diallo D, Diallo M, Weidmann M, Sall AA. Quantitative real-time PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught mosquitoes. Virol J 2013;10:311.
14. Musso D, Roche C, Nhan TX, Robin E, Teissier A, Cao-Lormeau VM. Detection of Zika virus in saliva. J Clin Virol 2015;68:53-5.
15. Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services. Interim Guidelines for Pregnant Women During a Zika Virus Outbreak — United States, 2016 MMWR 2016;65(2):30-3.
16. Conseil national professionnel de gynécologie et obstétrique. Virus Zika et femme enceinte ou en âge de procréer. Paris: CNPGO; 2016. http://www.cnpgo.org/1/upload/virus_zika_et_grossesse_cnpgo_version_1.3_recos.pdf
17. Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services. Interim Guidelines for the Evaluation and Testing of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection — United States, 2016 MMWR 2016;65(3):63-7.
18. Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services. Memorandum. Updated diagnostic testing for Zika, chikungunya, and dengue viruses in US Public Health Laboratories Atlanta: CDC; 2016. <http://www.cdc.gov/zika/pdfs/denvchikvzikk-testing-algorithm.pdf>
19. World Health Organization. Guidelines for plaque reduction neutralization testing of human antibodies to dengue viruses. Geneva: WHO; 2007. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69687/1/who_ivb_07.07_eng.pdf
20. Institut national de prévention et d'éducation pour la santé, Institut de veille sanitaire. Infection à virus : Zika. Saint-Maurice: INVS; 2016. http://www.inpes.sante.fr/CFESBases/catalogue/pdf/17_08.pdf

21. Institut de veille sanitaire. Virus Zika. Polynésie 2013 - 2014. Ile de Yap, Micronésie 2007 (janvier 2014). Saint-Maurice: INVS; 2014.
<http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Points-epidemiologiques/Tous-les-numeros/International/Virus-Zika-en-Polynesie-2013-2014-et-ile-de-Yap-Micronesie-2007-Janvier-2014>
22. Public Health Ontario. Zika Virus. Toronto: PHO; 2016.
<https://www.publichealthontario.ca/en/ServicesAndTools/LaboratoryServices/Pages/Zika-Virus.aspx>
23. American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Advisory: Interim Guidance for Care of Obstetric Patients During a Zika Virus Outbreak. Washington: ACOG; 2016.
<http://www.acog.org/About-ACOG/News-Room/Practice-Advisories/Practice-Advisory-Interim-Guidance-for-Care-of-Obstetric-Patients-During-a-Zika-Virus-Outbreak>
24. Pan American Health Organization, World Health Organization. Zika virus (ZIKV) Surveillance in the Americas: Interim guidance for laboratory detection and diagnosis. Washington: PAHO ; WHO; 2015.
25. Gourinat AC, O'Connor O, Calvez E, Goarant C, Dupont-Rouzeyrol M. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis* 2015;21(1):84-6.
26. Haut Conseil de la santé publique. Avis relatif à la prise en charge médicale des personnes atteintes par le virus Zika. Paris: HCSP; 2015.
<http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clef r=517>
27. Cellule interrégionale d'Epidémiologie Antilles-Guyane, Agence régionale de santé Guadeloupe Guyane Martinique Saint-Martin Saint-Barthélemy, Institut de veille sanitaire. Emergence du virus Zika aux Antilles Guyane. Situation épidémiologique. Point épidémiologique du 4 février. *Le Point Epidémio* 2016;(5):1-6.
28. Faye O, Faye O, Dupressoir A, Weidmann M, Ndiaye M, Alpha Sall A. One-step RT-PCR for detection of Zika virus. *J Clin Virol* 2008;43(1):96-101.
29. Balm MN, Lee CK, Lee HK, Chiu L, Koay ES, Tang JW. A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus. *J Med Virol* 2012;84(9):1501-5.

Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Analyse des recommandations de bonne pratique nationales et internationales et interrogation du CNR des arbovirus (Marseille)
Date de mise en ligne	Mars 2016
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur www.has-sante.fr
Objectif(s)	Donner un avis pour l'inscription à la NABM de la détection par RT-PCR du virus Zika dans le sang et les urines
Professionnel(s) concerné(s)	Médecins généralistes, infectiologues, biologistes, gynécologues-obstétriciens
Demandeur	Ministre des affaires sociales, de la santé et des droits de la femme
Promoteur	Haute Autorité de santé (HAS), Service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Carole GIRAUD, chef de projet, SEAP (chef de service : Michèle MORIN-SURROCA, adjoint au chef de service : Denis Jean DAVID) Secrétariat : Suzie DALOUR, assistante, SEAP
Participants externes	Dr Isabelle LEPARC-GOFFART, responsable du Centre national de référence des arbovirus (CNR ; Marseille)
Recherche documentaire	De janvier 2000 au 25 février 2016 Réalisée par Marie GEORGET, documentaliste, avec l'aide de Yasmine LOMBRY, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGES, chef du service documentation - veille, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Carole GIRAUD, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Collège de la HAS : mars 2016
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr
Documents d'accompagnement	Avis de la HAS (mars 2016) disponible sur www.has-sante.fr

La HAS remercie le CNR des arbovirus et sa responsable Mme la Dr Isabelle LEPARC-GOFFART, pour son implication dans cette évaluation dans un contexte de très forte sollicitation du CNR. La HAS remercie également l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), en particulier Mmes les Dr Gaëlle LE BRUN et Marianne DESCHENES de la Direction des dispositifs médicaux de diagnostics et des plateaux techniques, pour les informations sur les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*.

~

HAS

Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur
www.has-sante.fr