



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

RAPPORT D'ÉVALUATION TECHNOLOGIQUE

Test d'amplification des acides nucléiques pour le diagnostic biologique de la rougeole

Juin 2019

Ce rapport d'évaluation technologique, réalisé en vue d'une prise en charge par l'assurance maladie obligatoire, 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
Résumé	5
Introduction	7
1. Contexte	9
1.1 Source d'information.....	9
1.2 L'infection de rougeole	9
1.3 Stratégie diagnostique préconisée en France	16
1.4 Technique de RT-PCR pour la détection de l'ARN viral de la rougeole	18
1.5 Conditions actuelles de la prise en charge par l'assurance maladie	19
2. Méthode d'évaluation	21
2.1 Champ de l'évaluation	21
2.2 Objectifs de l'évaluation.....	21
2.3 Recherche documentaire	21
2.4 Sélection des documents identifiés.....	23
2.5 Analyse de la qualité méthodologique de la littérature sélectionnée.....	24
2.6 Recueil du point de vue argumenté des professionnels	25
2.7 Interrogation de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)	26
3. Résultats de l'évaluation	27
3.1 Analyse des données publiées.....	27
3.2 Réponse de l'ANSM	33
4. Résultats de l'évaluation – point de vue des parties prenantes	34
4.1 Intérêt de la détection de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR dans la stratégie diagnostique	34
4.2 Conditions de réalisation	35
4.3 Pratiques actuelles en France.....	36
4.4 Avantages et inconvénients de l'inscription de l'acte de détection de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR à la NABM	37
4.5 Questions sur la version intermédiaire de l'argumentaire de la HAS	37
Conclusion	38
Annexe 1. Recherche documentaire.....	41
Annexe 2. Listes des tableaux, graphiques, organigrammes, schémas, etc.....	45
Annexe 3. Caractéristiques et principales conclusions des recommandations / guides de bonne pratique traitant du diagnostic biologique de la rougeole et notamment de la place de la RT PCR	46
Annexe 4. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponses des parties prenantes	66
Annexe 5. Contribution de l'ANSM	76
Références	79
Fiche descriptive	81

Abréviations et acronymes

ADN :	acide désoxyribonucléique
ARN :	acide ribonucléique
ARS :	Agence régionale de santé
AVIQ :	Agence pour une vie de qualité
BC CDC :	<i>British Columbia Centre for Disease Control</i>
CCDR :	<i>Canada Communicable Disease Report</i>
CDC :	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CHU :	Centre hospitalo-universitaire
CNPBAIHH ..	Conseil national Professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière
CNR :	Centre national de référence
EIA :	technique immuno-enzymatique
HCSP :	Haut Conseil de santé publique
HSE :	<i>Health Service Executive of Ireland</i>
IDSA:	<i>Infectious Diseases Society of America</i>
IFI :	immunofluorescence indirecte
IgG :	immunoglobuline G
IgM :	immunoglobuline M
IHA :	immuno-hémagglutination
InVS :	Institut de veille sanitaire
JX :	correspond au nombre de jour avant (-X) ou après (+X) le début de l'éruption
LCS :	liquide cérébro spinal
MeVA :	<i>measles vaccine strains</i>
NABM :	Nomenclature des actes de biologie médicale
OMS :	Organisation mondiale de la santé
PESS :	panencéphalite sclérosante subaigüe
PHE :	<i>Public Health England</i>
RIHN :	Référentiel des actes innovants hors nomenclature
ROR :	Rougeole – Oreillons – Rubéole
RT-PCR :	<i>reverse transcriptase – polymerase chain reaction</i>
TAAN :	tests d'amplification des acides nucléiques

Résumé

Objectif(s)

Suite à la demande d'évaluation du Ministère et en vue d'une inscription à la NABM dans le cadre de l'article L.162-1-7 du code de la sécurité sociale, l'objectif de l'évaluation était de déterminer si la recherche de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR a une place dans le diagnostic biologique de la rougeole, notamment afin de confirmer plus rapidement les cas et de mettre en place les mesures préventives individuelles et collectives et de limiter la diffusion du virus. Aussi, la prise en charge par l'Assurance maladie permettra l'accès de cette technique aux laboratoires de ville, cette détection étant faite actuellement principalement par le CNR.

Méthode

La méthode d'évaluation a consisté :

- en une analyse critique de la littérature traitant du diagnostic biologique de la rougeole, issue d'une recherche systématique suivie d'une sélection sur des critères explicites, soit six recommandations de bonne pratique, un manuel, un document concernant les normes de surveillance, un avis administratif et trois fiches pratiques destinées aux professionnels de santé ;
- à recueillir l'avis argumenté des professionnels de santé concernés par le sujet, interrogés en tant que parties prenantes, soit le Centre national de référence Rougeole-Oreillons-Rubéole et le CNP d'Infectiologie-Fédération Française d'Infectiologie (CNP-FFI).

Conclusion

Sur la base de l'analyse de la littérature et de l'avis des organismes professionnels, il peut être conclu que la RT-PCR détectant l'ARN viral de la rougeole présente, dans le cadre de son éventuelle inscription sur la NABM, un intérêt dans les situations suivantes :

- patient présentant des signes cliniques de rougeole :
 - hors foyer épidémique actif ;
 - en phase précoce de rougeole, idéalement dans les premiers jours de la phase éruptive (au-delà de ces premiers jours, la RT-PCR perd de son intérêt et l'examen à effectuer est la recherche des anticorps sériques) ;
- patient ayant préalablement été immunisé (naturellement ou par vaccination avec une ou deux doses), immunodéprimé ou non, et présentant des signes cliniques de rougeole :
 - hors foyer épidémique actif ;
 - en phase précoce de rougeole, idéalement dans les premiers jours de la phase éruptive (sauf pour les patients immunodéprimés chez lesquels la fenêtre de détection est plus longue) ;
 - en complément de la recherche des anticorps sériques ;
- personne récemment vaccinée (7-14 jours) développant une éruption de type rougeoleuse :
 - avec une notion de contagion ou de circulation du virus ;
 - sans recherche concomitante d'anticorps sériques ;
 - préférentiellement par une RT-PCR identifiant uniquement le génotype A vaccinal, à défaut par une RT-PCR suivie d'un génotypage (approche plus longue).

Dans ces trois situations :

- le prélèvement à privilégier est un prélèvement oro-pharyngé par écouvillonnage ;
- chaque prélèvement doit obligatoirement être accompagné de renseignements cliniques (voir fiche de renseignements du CNR), notamment :
 - date et lieu présumés du contagion ;
 - date de début de la phase éruptive ;
 - statut vaccinal (date et nombre de doses) ;

- ▶ nature précise du prélèvement ;
- ▶ existence d'une immunosuppression et précisions sur sa nature et son importance ;
- l'examen utilisé doit être en mesure de détecter les génotypes en circulation ;
- compte tenu de la forte contagiosité de ce virus, le résultat doit pouvoir être transmis très rapidement, idéalement dans les 24 heures, au maximum dans les 48 heures ;
- en cas de résultat positif, le résultat et les renseignements cliniques doivent être transmis au CNR afin que celui-ci remplisse ses missions de surveillance.

Introduction

La rougeole est une infection très contagieuse causée par un virus du genre *Morbilivirus*. Elle se manifeste par des signes généraux (fièvre, asthénie), des signes oculo-respiratoires (toux, conjonctivite, rhinite), ainsi que par une éruption de type maculo-papuleuse. La période de contagiosité s'étend de 3 à 5 jours avant le début de l'éruption et persiste jusqu'à 5 jours après. Certaines complications sont potentiellement mortelles (pneumonie, encéphalite), notamment chez les nourrissons de moins d'un an, les adultes de vingt ans ou plus, ainsi que les personnes immunodéprimées et les femmes enceintes.

Si le nombre de cas a fortement diminué au niveau mondial depuis la mise en place en 1974 par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) du programme élargi de vaccination, la situation reste toutefois instable, notamment en Europe où on assiste à une résurgence du nombre de cas. Ainsi, en France, sur la période 2008-2018, environ 27 500 cas ont été déclarés dont 23 décès. Les personnes décédées étaient principalement des personnes non vaccinées, ou non ciblées par la vaccination et ne pouvant donc être protégées que si leur entourage est immunisé contre la maladie.

En France, depuis 2018, le nouveau calendrier vaccinal rend la vaccination contre la rougeole obligatoire dans le cadre de la vaccination à trois valences (rougeole-oreillons-rubéole), à partir de 12 mois pour la première dose et à 16-24 mois pour la deuxième, notamment dans le but d'obtenir une couverture vaccinale à 95 % à 2 ans comme préconisé dans les recommandations de l'OMS, afin d'avoir une protection individuelle mais également une immunité de groupe.

La déclaration obligatoire des cas de rougeole à l'Agence régionale de santé (ARS) permet au niveau national de surveiller l'évolution de l'incidence de la rougeole, de détecter et de mettre en œuvre les investigations épidémiologiques pour les cas groupés ou en situation d'épidémie et d'entreprendre les mesures préventives au niveau individuel et autour du cas.

Les critères diagnostiques sont cliniques et/ou biologiques. La confirmation biologique des cas cliniques est cependant un élément essentiel de la surveillance.

Actuellement le test de référence en routine pour le diagnostic biologique de rougeole est la sérologie pour la détection des IgM et des IgG anti-rougeoleux. Il existe également un test salivaire pour la détection des anticorps salivaires, ainsi que pour celle de l'ARN du virus par amplification génique (le plus souvent par *reverse transcriptase polymerase chain reaction*, RT-PCR). Ce test salivaire est en pratique envoyé au Centre national de référence (CNR). La détection de l'ARN viral par RT-PCR est aussi possible sur d'autres échantillons (gorge, nez, urine, sang total). Elle n'est pas prise en charge par l'Assurance maladie lorsqu'elle est réalisée par les laboratoires de ville. Une prise en charge hospitalière est cependant possible *via* plusieurs codes génériques du référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN) et de la Liste complémentaire.

La HAS a été saisie par le Ministère de la santé le 28 mars 2019 afin d'évaluer l'intérêt de la RT-PCR dans le diagnostic biologique des cas de rougeole, afin d'envisager une prise en charge par l'Assurance maladie de cet examen lorsqu'il est réalisé dans les laboratoires de ville *via* son inscription à la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM).

L'évaluation aura pour objectif de déterminer si la recherche directe de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR a une place dans le diagnostic biologique de cette infection, notamment dans le but de confirmer plus rapidement les cas suspects afin de mettre en place les mesures préventives autour d'eux et de limiter la diffusion du virus. L'interprétation de la sérologie est en effet décrite comme étant parfois délicate en raison des antécédents vaccinaux et du stade de la maladie, retardant la confirmation biologique du cas, ainsi que les mesures de prévention. Aussi, l'inscription de cet examen sur la NABM permettra l'accès de cette technique à un plus grand nombre de laboratoire dont les laboratoires de ville.

La méthode d'évaluation comprendra une analyse critique de la littérature synthétique identifiée par une recherche documentaire systématique, ainsi que le recueil de la position des organismes professionnels impliqués dans le diagnostic et la prise en charge des cas de rougeole. Le rapport d'évaluation technologique contenant l'analyse des données ainsi collectées et ses conclusions seront ensuite soumis au Collège de la HAS pour validation.

1. Contexte

1.1 Source d'information

Ce chapitre de contexte a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus des revues générales, des ouvrages didactiques, des recommandations, des bulletins épidémiologiques et des avis administratifs.

1.2 L'infection de rougeole

1.2.1 Généralités

La rougeole est une maladie très contagieuse potentiellement mortelle causée par un virus dont la transmission se fait principalement par les sécrétions, de façon directe par voie aérienne auprès d'un malade ou indirecte en cas de persistance du virus dans l'air ou une surface contaminée par des sécrétions naso-pharyngées. Le virus peut rester actif et contagieux dans l'air ou sur les surfaces contaminées ; le maintien de l'infectiosité est variable et dépend de la température, du degré d'hygrométrie et de l'environnement protéique (présence de mucus).

Après une période d'incubation de 10 à 12 jours suivant le contage, succède une phase d'invasion durant de 2 à 4 jours qui se manifeste par des signes généraux (fièvre supérieure à 38,5°C, asthénie) et des signes oculo-respiratoires (toux, conjonctivite, rhinite). L'éruption de type maculo-papuleuse avec érythème généralisé débute après la phase d'invasion et touche initialement le visage et le haut du cou, puis s'étend de haut en bas sur tout le corps et dure entre 5 et 6 jours (1). L'éruption survient donc en moyenne 14 jours après l'exposition au virus, dans un intervalle de 7 à 18 jours. Il est décrit classiquement à la 36^{ème} heure du début de la phase d'invasion, l'apparition sur le sillon gingivo-jugal en regard des deuxième molaires de petites taches blanches de 2-3 mm sur fond érythémateux (signe de Köplik) ; cependant ce signe serait inconstant et son caractère pathognomonique n'est pas vérifié en pratique courante.

Initialement, lors du contage, le virus infecte les cellules épithéliales nasales et de la conjonctive ; puis le virus se multiplie dans ces cellules et atteint les ganglions lymphatiques. Deux à trois jours après le contage, survient la virémie primaire. Une virémie secondaire apparaît 5 à 7 jours suivant le contage et du 7^{ème} au 11^{ème} jour, le virus se dissémine par la suite dans les autres organes *i.e.* les voies respiratoires, la peau, les reins, le tractus gastro-intestinal et le foie où le virus se réplique dans les cellules épithéliales et endothéliales ainsi que dans les monocytes, les macrophages et les lymphocytes (2). A ce moment-là débute la phase prodromale (qui dure de 2 à 4 jours), puis la phase éruptive à partir du 14^{ème} jour après le contage (1). L'ARN viral peut être détecté dans la salive, le nez, la gorge et l'urine d'environ 3-5 jours avant le début de l'éruption jusqu'à 10-12 jours après. La période optimale de détection dans le sang, la salive, le nez ou la gorge s'étend du début de l'éruption jusqu'à 5 jours après (3).

Les anticorps anti-rougeoleux, IgM et IgG, sont détectables dans le sérum et dans la salive.

Les IgM apparaissent dès le début de l'éruption, leur concentration est maximale 7-10 jours après puis elle décroît rapidement ; ils persistent pendant 1 à 2 mois avant de disparaître complètement. Les IgM sont donc potentiellement détectables du premier jour de l'éruption (J0) jusqu'à environ deux mois après mais la période optimale de détection pour les IgM est de J+3 à J+28¹. Les IgM peuvent donc être négatives pendant les trois premiers jours de l'éruption.

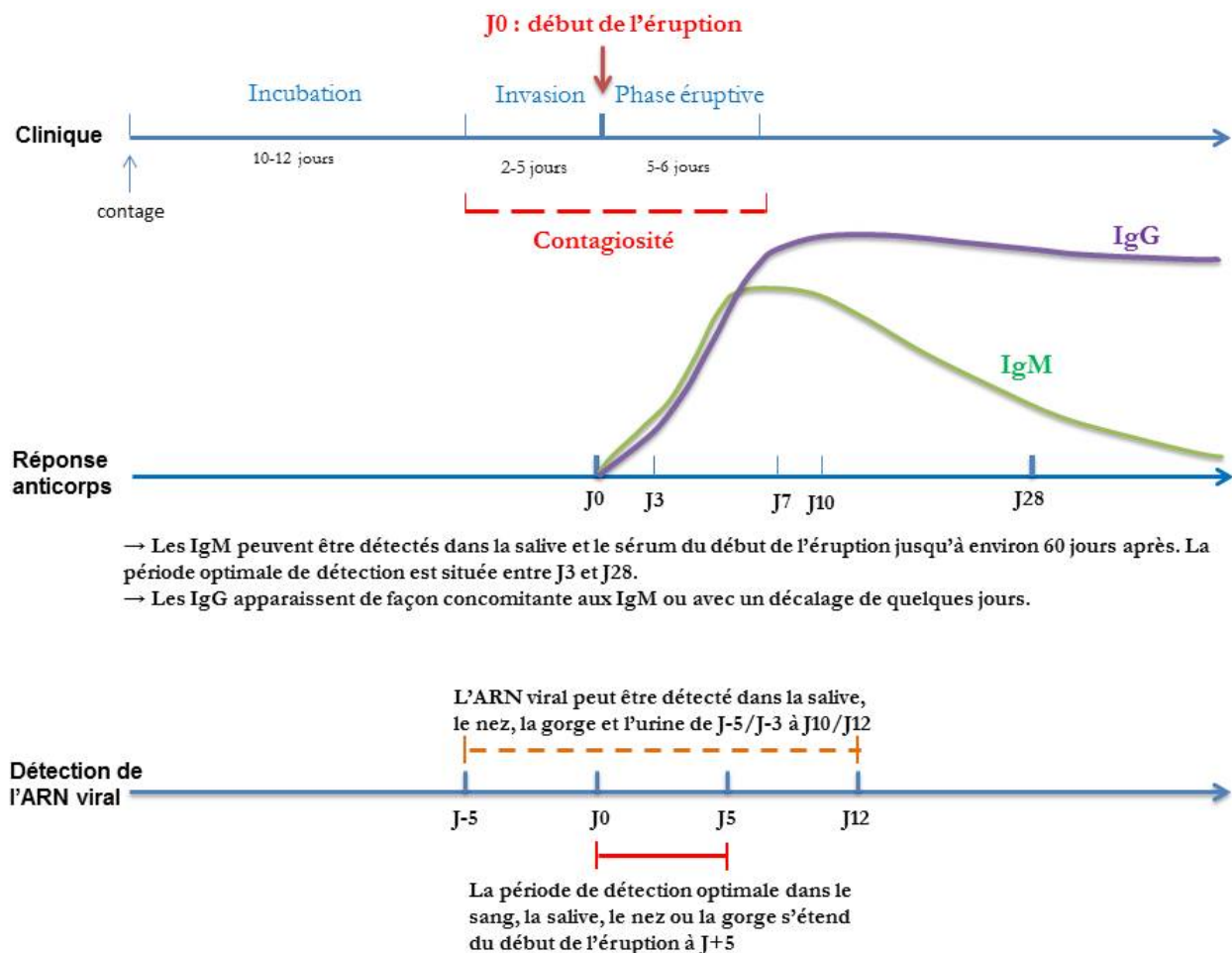
¹ Par convention, J0 est considéré comme le jour du début de l'éruption. La dénomination J+X correspond donc au X^{ème} jour suivant le début de l'éruption.

Les IgG sont détectables quelques jours après les IgM, puis augmentent de façon importante pour atteindre un pic vers environ 3 semaines, puis leur concentration décroît mais ils persistent longtemps après l'infection (4).

La période de contagiosité s'étend de 3 à 5 jours avant l'éruption et persiste jusqu'à 5 jours après. Elle est maximale durant la phase catarrhale. Elle est très importante et en moyenne une personne infectée peut en contaminer entre 15 et 20 (5). C'est l'une des infections les plus contagieuses au monde (4).

La Figure 1 ci-dessous schématise la réponse anticorps et la période de détection de l'ARN viral en parallèle avec les manifestations cliniques de la rougeole.

Figure 1. Clinique, contagiosité et résultats de laboratoire pour l'infection par le virus de la rougeole



Les complications sont plus fréquentes et plus sévères chez les nourrissons de moins d'un an, les patients immunodéprimés et chez les patients âgés de 20 ans et plus.

L'otite moyenne survient dans 7 à 9 % des cas et est due à une surinfection bactérienne.

Les complications immédiates les plus sévères sont la pneumonie, notamment chez l'enfant (2 à 7 %), et l'encéphalite aiguë (0,05 à 0,1 %) potentiellement létale (10 à 30 %) et invalidante (épilepsie, retard mental, ...). À moyen terme (1 à 6 mois), l'encéphalite à inclusions est une complication chez l'immunodéprimé dont la létalité est très élevée. À plus long terme, la panencéphalite sclérosante subaiguë (PESS), qui survient en général 4 à 10 ans après l'infection initiale, touche un cas sur 10 000 pour les rougeoles survenues avant l'âge de 12 mois (dont les rougeoles congénitales)

et se caractérise par l'apparition progressive de troubles neurologiques (démence, troubles du comportement, troubles moteurs, ...) ; le pronostic est très sombre.

Les autres complications sévères sont la cécité, des diarrhées importantes susceptibles d'entraîner une déshydratation, des hépatites et des infections auriculaires.

La femme enceinte non immunisée peut également présenter une forme grave et accroît le risque de complication de la grossesse (interruption précoce), ainsi que la survenue d'une rougeole congénitale aux complications potentiellement graves.

Rougeole chez des personnes anciennement immunisées

Cette situation se rencontre essentiellement chez des personnes ayant été immunisées par la vaccination mais ayant perdu cette immunisation avec le temps (échec vaccinal secondaire).

Les personnes immunodéprimées (selon le type d'immunodépression, c.à.d. les neutropénies, un déficit de l'immunité cellulaire ou humorale...) ayant été immunisées peuvent également développer une infection.

Les symptômes sont moins intenses, sans présence obligatoire de la toux, de la rhinite et/ou de la conjonctivite ; l'éruption peut se présenter de façon atypique et ne pas suivre la progression habituelle. Aussi, la maladie est plus courte car les anticorps neutralisants sont produits plus rapidement et moins contagieuse, notamment par absence de toux ou de toux légère non productive (5, 6). Cependant, la maladie peut également se présenter sous sa forme typique.

Les personnes les plus exposées sont les personnels de santé, notamment en cas de contact prolongé avec des cas confirmés (4). L'intensité de l'exposition joue un rôle important.

1.2.2 Le virus de la rougeole

Le virus de la rougeole est un virus à ARN monocaténaire enveloppé, de sens négatif, qui appartient au genre *Morbillivirus* et à la famille des *Paramyxoviridae*. Les humains sont l'hôte naturel de ce virus même si le singe peut être infecté (1).

Le génome contient 15 984 nucléotides et code 8 protéines, dont une hémagglutinine (H) et une protéine de fusion (F) qui sont des protéines de surface importantes pour la pénétration dans la cellule. L'infection confère une immunité à vie que l'on attribue aux anticorps neutralisants de l'hémagglutinine. Il existe 24 génotypes différents attribués à huit principaux groupes (A à H) qui sont utiles pour l'observation de la transmission et la vérification de l'élimination (7). Les laboratoires de surveillance identifient systématiquement le génotype afin de détecter d'éventuels cas importés² et de surveiller les progrès de l'élimination (5). Ces génotypes se distinguent par un fragment variable de 450 nucléotides (N-450) codant pour la terminaison carboxyle de la protéine de la nucléocapside (N). En complément, il est possible de déterminer la séquence complète du gène de la protéine N et du gène H afin d'identifier des variants au sein d'un même génotype. Durant la période 2005-2015, onze génotypes ont été détectés et en 2017, seuls cinq génotypes (B3, D4, D8, D9 et H1) ont été détectés et reportés sur la *measles nucleotide surveillance database* (MeaNS)³. Ainsi, la circulation des différents génotypes du virus et leur distribution varient selon les zones géographiques (8) ; cependant, toutes les données ne sont pas disponibles et d'autres génotypes peuvent circuler, notamment dans la région Afrique et le sud-est asiatique.

² Voyageur de retour au pays ou visiteur exposé à la rougeole hors du pays pendant la période de 7 à 23 jours avant le début de l'éruption cutanée et soutenu par des preuves épidémiologiques et virologiques.

³ Cette base est disponible sur le site de l'OMS et comprend les séquences des échantillons soumis par les laboratoires du réseau mondial de la rougeole ; il y a un accès public et un accès pour les membres du réseau qui permet notamment de soumettre une séquence et d'avoir accès aux séquences proposées par les autres laboratoires.

1.2.3 Prévention primaire

S'il est admis que l'immunité conférée suite à une infection naturelle persiste toute la vie, la rougeole peut être prévenue grâce à une immunisation avec un vaccin vivant atténué appartenant à un génotype qui a disparu (génotype A), pouvant contenir également les valences pour la rubéole et les oreillons (vaccin ROR). La vaccination induit une réponse humorale et cellulaire identique à celle induite par l'infection naturelle. Les anticorps apparaissent 12 à 15 jours après la vaccination et un pic se produit entre 21 et 28 jours. Les IgM apparaissent transitoirement dans le sang, les IgA prédominent dans les sécrétions muqueuses et les IgG persistent dans le sang pendant plusieurs années (2). L'immunité suite à la vaccination peut persister pendant de très longue durée (20-30 ans), même après disparition des anticorps sériques (9). Si les titres d'anticorps induits par la vaccination diminuent avec le temps et peuvent être indétectables, une réponse immunitaire persiste et après une exposition au virus de la rougeole, la plupart des personnes vaccinées produisent une réponse immunitaire spécifique sans développer de symptômes cliniques.

L'efficacité du vaccin est estimée à 90 % pour une dose et à 95 % pour deux doses, l'infection a donc plus de chances de survenir si une seule dose a été administrée (4, 5).

Depuis le 1^{er} janvier 2018, le nouveau calendrier vaccinal français (10) rend la vaccination pour les trois valences (rougeole-oreillons-rougeole) obligatoire à partir de 12 mois pour la première dose et à 16-24 mois pour la deuxième, notamment dans le but d'obtenir une couverture vaccinale de 95 % à 2 ans comme préconisé dans les recommandations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), afin d'avoir une protection individuelle mais également une immunité de groupe (10).

Les dernières données concernant la couverture vaccinale avec le vaccin trivalent datent de 2017 (avant l'obligation de la vaccination) et montrent dans la population des enfants âgés de 24 mois sur l'année 2017 une couverture vaccinale estimée à 89,6 % pour une dose et de 80,3 % pour deux doses⁴.

Le vaccin contre la rougeole est associé à de la fièvre dans 5 à 15 % des cas et un rash transitoire dans 5 % des cas, typiquement 7 à 14 jours après la vaccination. Les complications potentiellement graves sont exceptionnelles, une thrombocytopenie transitoire peut survenir dans 1 sur 25 000 à 2 millions des cas, une encéphalite dans moins de 1 cas sur 1 million.

Il est à noter que l'immunité conférée par les anticorps maternels transplacentaires protège l'enfant jusqu'à l'âge de 6-9 mois.

Comme mentionné précédemment, l'immunité conférée par la vaccination peut diminuer avec le temps : c'est l'échec vaccinal secondaire, c'est à dire la perte avec le temps de l'immunité acquise via la vaccination. Pour rappel, un échec vaccinal primaire est le fait de ne pas développer d'immunité après vaccination (mésusage lors de la vaccination, absence de production d'anticorps neutralisants).

Il existe plusieurs techniques pour mesurer les anticorps protecteurs contre le virus de la rougeole mais toutes ne mesurent pas les anticorps protecteurs ou fonctionnels. Le gold standard est le titrage des anticorps anti-rougeoleux par test de séroneutralisation sur plages de lyse, qui est le plus adapté pour mesurer le taux d'anticorps protecteurs. Il est cependant complexe et difficilement réalisable en routine. Il est possible d'utiliser une technique immuno-enzymatique de type ELISA pour mesurer le taux d'IgG, car les résultats sont obtenus plus rapidement et elle nécessite une plus faible quantité de sérum ou plasma par rapport à la séroneutralisation. Cependant, la plupart des anticorps détectés ne sont pas des anticorps protecteurs et l'ELISA est moins sensible aux faibles taux d'anticorps. De plus les seuils de protection clinique ne sont pas standardisés selon les kits commerciaux (2).

⁴<http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Couverture-vaccinale/Donnees/Rougeole-rubeole-oreillons>.

1.2.4 Contexte épidémiologique

Au niveau mondial, le nombre de cas de rougeole en 1974, année de la mise en place du programme élargi de vaccination de l'OMS, était estimé à 130 millions par an dont 8 millions de décès.

Le plan stratégique mondial de l'OMS contre la rougeole et la rubéole a pour objectif d'éliminer la rougeole dans cinq régions de l'OMS d'ici 2020. Pour la rougeole, ce plan comprend la mise en œuvre par les Etats membres d'une surveillance efficace pour identifier et caractériser les zones où persiste une transmission du virus rougeoleux. Cette surveillance repose sur un système de détection, de notification et d'investigation des cas (11), sur la promotion de la vaccination (campagnes de vaccination de masse...), ainsi que sur le renforcement d'un réseau mondial de laboratoires afin de garantir un diagnostic rapide et pouvoir suivre la propagation internationale du virus pour permettre une approche plus coordonnée de ciblage des activités de vaccination et de réduire les décès dus à cette maladie.

Depuis la mise en place de ce programme, on assiste à une diminution globale de cas et de décès dans le monde. Entre 2000 et 2016, la vaccination anti-rougeoleuse aurait évité 20,4 millions de décès dans le monde. L'incidence mondiale est passée de 146 cas par million d'habitants en 2000 à 19 en 2016 ; le nombre de décès à l'échelle mondiale attribuable à l'infection de rougeole est passé de 550 100 en 2000 à 89 780 en 2016, soit une diminution de 84 % (12). La majorité des décès survient dans les pays où le revenu par habitant est faible et l'infrastructure sanitaire fragile (12). Les pays les plus touchés sont l'Afrique subsaharienne, l'Inde, l'Indonésie, la Chine et ceux d'Europe de l'Est.

Aux Etats-Unis et au Canada, si la rougeole a été déclarée comme éliminée, notamment grâce aux campagnes de vaccination, il existe toujours des cas sporadiques, notamment des cas importés, ainsi que dans les communautés refusant la vaccination (13).

Au niveau européen, la situation est instable, notamment en raison d'une couverture vaccinale insuffisante. Plusieurs pays européens ont connu une résurgence de cas : Allemagne, Italie, Roumanie, France, Espagne et le Royaume uni. Entre 2010 et 2012, une épidémie de rougeole a touché tous les pays de l'Union européenne, avec plus de 30 000 cas en 2010 et plus de 28 000 cas en 2011. Si le nombre de cas était faible en 2016 (5273), 41 000 cas ont été reportés dans la région OMS Europe durant les six premiers mois de l'année 2018, dont 37 décès (1).

Contexte épidémiologique français

L'introduction d'une dose de vaccin anti-rougeoleux dans le calendrier vaccinal français en 1983, ainsi que d'une deuxième dose en 1997 a fait progressivement baisser le nombre de cas de rougeole. Ainsi, le nombre de cas de rougeole estimé par le réseau Sentinelles de l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) (unité 707), qui réalisait la surveillance entre 1985 et 2005, était de 331 000 cas en 1986 et de 4 448 cas en 2004.

Depuis 2005, dans le cadre du plan d'élimination de la rougeole (OMS pour la région Europe), suite aux recommandations du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF) de 2003 (14) et en raison de la baisse du nombre de cas reportés par le réseau Sentinelles, la déclaration de la rougeole est obligatoire (décret n°2005-162 du 17 février 2005 et arrêté du 24 juin 2005 relatif à la notification des cas de rougeole), notamment afin d'identifier les cas et mettre en place les mesures préventives visant à stopper la propagation du virus autour d'un cas ou en situation de cas groupés⁵, puis suivre les progrès vers l'élimination. En 2006 et en 2007, la circulation du virus était très limitée, avec moins de 50 cas déclarés par an.

⁵ Un cas groupé se définit comme la survenue de trois cas ou plus de rougeole, parmi lesquels au moins un cas a été confirmé biologiquement dans une même zone géographique (commune, arrondissement, département), sur une période de temps limitée (quelques jours, voire quelque semaines). Le nombre de cas est ramené à deux cas ou plus si les cas fréquentent une même collectivité (école, colonie de vacances, crèche...).

Cependant, sur la base de ces déclarations, une forte recrudescence a été observée sur la période 2008-2011, avec plus de 22 000 cas déclarés sur cette période, avec un pic atteint pour l'année 2011 avec 14 969 cas, dont seize ont présenté une complication neurologique et 714 une pneumopathie grave. Dix décès ont été déclarés sur cette période et après l'identification d'autres décès attribuables à la rougeole par l'Inserm (certificat de décès CépiDC), le nombre total de décès sur la période 2008-2014 a été estimé à dix-neuf. De 2012 à 2016, on a assisté à une baisse du nombre de cas déclarés (859 en 2012 et 79 en 2016).

Cette recrudescence de 2008-2011 était prévisible (15), notamment en raison de la couverture vaccinale insuffisante permettant la constitution d'un réservoir de personnes réceptives au virus dans la population. Ainsi, la couverture vaccinale était estimée en 2005-2006 chez les enfants de 5-6 ans en grande section de maternelle à 93,3 % pour une dose et 44,3 % pour deux doses. Sur les enfants de 11 ans scolarisés en CM2, en 2004-2005, la couverture vaccinale était estimée à 95,7 % pour une dose et 74,2 % pour deux doses.

Une nouvelle épidémie est observée depuis le dernier trimestre de 2017, avec 519 cas déclarés en 2017 et environ 3 000 en 2018 dont trois décès.

Au total, sur la période 2008-2018, environ 27 500 cas ont été déclarés, avec 23 décès. Le taux d'incidence montre que l'incidence est la plus élevée chez les enfants de moins d'un an non ciblés par la vaccination et ne pouvant être protégés que si leur entourage est immunisé contre la maladie (10,7 / 100 000).

Il est à noter qu'en moyenne, les cas déclarés correspondent à des cas cliniques dans 40-45 % des cas, qu'ils sont confirmés biologiquement dans 45-50 % des cas et épidémiologiquement dans 10 % des cas. Il semble également que les chiffres pourraient être sous-estimés par rapport à l'incidence réelle (16). Cependant, les données témoignent qu'une circulation active du virus se poursuit en France.

Le bulletin du 19 juin 2019 de l'Agence nationale de santé publique (ANSP) montre que, depuis le 1^{er} janvier 2019, 1697 cas de rougeole ont été déclarés aux agences régionales de santé (ARS) (contre 2493 cas en 2018 sur la même période), dont 501 ont été hospitalisés (29 %) et dont un décès par encéphalite subaiguë chez un sujet immunodéprimé. Ce bulletin précise que, sur l'ensemble des cas déclarés à cette période pour l'année 2019, 87 % des cas sont survenus chez des personnes non vaccinées contre la rougeole ou mal vaccinées, c'est-à-dire avec une dose. Le pourcentage important d'hospitalisations peut s'expliquer par le fait que la rougeole touche aujourd'hui une population plus susceptible aux complications sévères (immunodéprimés, adultes) du fait d'une insuffisance d'immunisation pendant l'enfance.

Concernant le génotypage, les données du CNR sur la période du 1^{er} octobre 2011 au 30 septembre 2018 pour 1 096 échantillons positifs pour le virus de la rougeole (16) indiquent la présence des génotypes D8 (663 cas), D4 (200 cas) et B3 (176 cas). D'autres génotypes plus rares ont été rapportés (D9, H1, B2). Il est à noter que le génotype A (génotype vaccinal) a été identifié à douze reprises chez des personnes ayant reçu une dose de vaccin dans les deux semaines précédant l'éruption ; cette identification a ainsi permis le diagnostic différentiel entre un rash post-vaccinal et une infection de rougeole à virus sauvage.

1.2.5 Prise en charge

► Prise en charge individuelle

La prise en charge individuelle des cas de rougeole passe par l'identification précoce des cas, notamment afin de faire le diagnostic différentiel avec d'autres pathologies éruptives (rubéole, HSV6, parvovirus B19, scarlatine, réactions médicamenteuses, maladie de Kawasaki...) (17) et également afin de surveiller les éventuelles complications.

Il n'existe pas de traitement spécifique de la rougeole.

Le traitement de la forme commune de la rougeole est symptomatique (antipyrétiques, anti-inflammatoires..).

Le traitement des complications sévères (pneumonies, encéphalites) nécessite une prise en charge hospitalière.

Les antiviraux comme la ribavirine et l'interféron ne sont pas utilisés en routine, mais peuvent être employés pour traiter la maladie chez les immunodéprimés (1).

Un isolement du malade est également recommandé pour éviter la propagation de l'infection.

► Conduite à tenir autour d'un cas en France (3)

La déclaration obligatoire des cas de rougeole à l'ARS (18) (19) permet au niveau national de surveiller l'évolution de l'incidence de la rougeole, de détecter et de mettre en œuvre les investigations épidémiologiques pour les cas groupés ou en situation d'épidémie et d'entreprendre les mesures préventives au niveau individuel et autour du cas.

La procédure comprend le signalement de ce cas à l'ARS du lieu d'exercice. Les critères sont cliniques et/ou biologiques. La confirmation biologique des cas cliniques est un élément essentiel de la surveillance. Le signalement est suivi par l'envoi de la fiche de notification obligatoire sur laquelle le médecin déclarant aura complété la description du cas. Les données sont transmises par la suite à l'OMS.

A l'issue du signalement, les cas retenus sont classés en :

- **cas clinique** : cas présentant les critères cliniques, et 1/ pour lequel il n'y a pas eu d'analyse biologique et qui n'est pas lié épidémiologiquement à un autre cas de rougeole confirmé ou 2/ pour lequel les résultats biologiques ne permettent pas d'exclure le diagnostic (faux négatifs) ;
- **cas confirmé biologiquement** : patient ayant présenté des signes évocateurs de rougeole et pour lequel un ou plusieurs critères de confirmation biologique sont présents, c'est-à-dire :
 - ▶ détection en l'absence de vaccination dans les deux mois précédant le prélèvement d'IgM spécifiques de la rougeole dans un prélèvement sanguin ou salivaire ;
 - ▶ séroconversion ou élévation (en l'absence de vaccination dans les deux mois précédant) de quatre fois le titre des IgG sériques entre la phase aiguë et la phase de convalescence ;
 - ▶ détection virus par amplification génique (RT-PCR) sur prélèvements sanguin, salivaire, rhinopharyngé ou urinaire ;
 - ▶ culture positive sur prélèvements sanguin, salivaire, rhinopharyngé ou urinaire ;
- **cas confirmé épidémiologiquement** : cas répondant à la définition d'un cas clinique et ayant été en contact dans les 7 à 18 jours avant le début de l'éruption avec un cas de rougeole confirmé biologiquement ou épidémiologiquement (chaîne de transmission).

Les mesures à prendre autour d'un cas sont (3)

- **isolement** strict du malade et éviction du sujet source des collectivités pendant toute la période de contagiosité ;
- **identification de la source** de contamination ;
- **recherche des « sujets contacts »** :

Un sujet est dit « contact » s'il a été exposé de façon directe ou indirecte avec une personne infectée la veille du début de la phase d'invasion et jusqu'à 5 jours après le début de l'éruption (9, 20). Les contacts proches (entourage familial, personnes de la même section en crèche ou en halte-garderie, au domicile de garde d'une assistante maternelle) et ceux dans les autres collectivités (personnes ayant fréquenté les mêmes locaux au sein de la même école, collège, lycée, internat, lieu de travail...) sont concernés.
- **vérification du statut immunitaire ou vaccinal des sujets contacts** ;
- **vaccination des sujets contacts non immunisés ou non vaccinés** ;

La vaccination doit idéalement être réalisée dans les 72 h suivant le contage et si ce délai est respecté, elle peut éviter la survenue de la maladie. Même si ce délai est dépassé, la mise à jour du statut vaccinal reste préconisée :

- ▶ **pour les contacts proches**, vaccination si contact à un cas clinique ou confirmé ;
- ▶ **dans les autres collectivités**, vaccination si contact à un cas confirmé biologiquement ;
- ▶ **situation de cas groupés** : la plupart des cas sont confirmés épidémiologiquement (VPP⁶ plus élevée du diagnostic clinique) dans cette situation et la vaccination est ainsi recommandée aux contacts proches et en collectivité sans attendre les résultats de laboratoire ;
- ▶ **pour les nourrissons de 6 à 11 mois révolus (non immunisés)** : il est impératif de confirmer le cas index biologiquement et de respecter le délai de 72 h pour la vaccination. Au-delà de 72 h après l'exposition, si la vaccination n'a pas pu être réalisée, il est recommandé d'administrer des immunoglobulines (cf. *infra*) ;
- **administration d'immunoglobulines** : dans les 6 jours suivant le contage, l'administration aux sujets à risque de développer une rougeole grave n'ayant pas été vaccinées (délai > 72h) ou ne pouvant l'être (personnes immunodéprimées, nourrissons de moins de 6 mois et femmes enceintes) est évaluée au cas par cas et se fait après exposition à un cas confirmé biologiquement ou épidémiologiquement.

1.3 Stratégie diagnostique préconisée en France

L'instruction n° DGS/SP/SP1/2018/205 du 28 septembre 2018 relative à la conduite à tenir autour d'un ou plusieurs cas de rougeole précise les modalités de diagnostic biologique de la rougeole et insiste sur la nécessité de confirmation biologique des cas, notamment dans les situations de cas isolés.

Le but est la détection précoce des cas afin :

- **au niveau individuel**, de faire le diagnostic différentiel avec d'autres pathologies éruptives et de surveiller la survenue de complications potentiellement mortelles (pneumonies, encéphalites) ;
- **autour d'un cas de rougeole**, de prendre les mesures préventives au niveau des sujets contacts, notamment des personnes à risque de développer une rougeole grave (nourrissons de moins de 6 mois, personnes immunodéprimées, femmes enceintes).

Le diagnostic virologique repose sur des techniques indirectes (anticorps anti-rougeoleux) dans le sang et la salive, ainsi que des techniques directes (détection du virus de la rougeole) dans différents types de prélèvements (salive, naso-pharynx, urines, sang total).

Il est à noter que selon le HCSP, la confirmation biologique n'est pas recommandée pour les cas cliniques en lien épidémiologique à un cas confirmé et pour les cas groupés de rougeole dans une collectivité pour lesquels au moins un cas a été confirmé biologiquement (19). Cependant, dans les pays/régions où l'incidence est faible, la confirmation biologique est la norme (1).

Selon l'instruction du 28 septembre 2018 (3), l'avis du HCSP (19) et le document de l'InVS (21), la confirmation biologique des cas comprend :

▶ **Le diagnostic indirect par recherche des anticorps sériques (IgM ou IgG) sur prélèvement de sang (tube sec)**

En ville ou en milieu hospitalier, c'est l'examen réalisé avec la technique ELISA le plus accessible pour réaliser le diagnostic de rougeole, et celui dont dispose la plupart des laboratoires. C'est actuellement l'approche recommandée en médecine communautaire et la technique de référence pour le diagnostic de la rougeole.

⁶ Probabilité que la personne soit malade sachant que le test (ici la clinique) soit « positif » (ici les signes évocateurs de rougeole).

Les IgM peuvent être détectés depuis le début de l'éruption jusqu'à environ 60 jours après. Ils sont le plus souvent positifs entre J+3 et J+28. Leur détection dans un contexte d'éruption morbilliforme permet d'établir le diagnostic de la rougeole.

NB : Il est cependant possible d'avoir des faux positifs, soit en raison de la présence d'une autre éruption morbilliforme (IgM anti-rubéole, anti-parvovirus B19...) (1) ou en cas de vaccination récente (22).

Les IgG apparaissent avec un décalage de quelques jours par rapport aux IgM. Afin de faire le diagnostic d'une infection de rougeole, il est recherché une séroconversion des IgG (c'est-à-dire le passage d'un résultat négatif à un résultat positif) entre deux prélèvements séparés de 10 jours d'intervalle⁷. Elle reste cependant peu adaptée au diagnostic d'une infection aiguë.

L'absence d'IgG et d'IgM sur un prélèvement réalisé **au cours des trois premiers jours** de l'éruption ne permet pas d'éliminer le diagnostic et un second prélèvement peut être effectué 8 jours plus tard en cas de négativité.

La présence d'IgG seules en début d'éruption signe une rougeole antérieure ou un antécédent de vaccination (même incomplète). Elle ne permet toutefois pas d'attester de l'immunisation contre la rougeole du fait de l'absence de corrélation entre le taux d'anticorps et la protection contre la rougeole (la preuve d'une immunisation nécessite un dosage des anticorps neutralisants).

Dans le cas de personnes récemment vaccinées contre la rougeole, la détection des IgM et des IgG spécifiques ne permet pas de différencier une rougeole vaccinale d'une rougeole « sauvage ».

► **La détection directe de l'ARN viral par RT-PCR**

Cette détection est possible sur des échantillons de liquide buccal (salive), rhino-pharyngés, nasopharyngés, respiratoires, urinaires ou de sang total, prélevés pendant la période virémique.

L'ARN viral peut être détecté dans ces prélèvements de 5 à 3 jours avant le début de l'éruption jusqu'à 10-12 jours après l'éruption, voire plus pour l'urine. La période de détection optimale dans le sang, la salive, le nez ou la gorge s'étend de l'apparition de l'éruption jusqu'à J+5. Sa présence signe donc l'infection virale en cours. Comme mentionnée précédemment, l'excrétion du virus dans les urines semble être plus longue ; ce type d'échantillon permet donc une détection plus tardive après l'éruption.

En complément de la recherche de l'ARN viral, une analyse de la séquence génomique peut être réalisée sur les prélèvements positifs et permet l'identification du génotype viral qui permet de faire le diagnostic différentiel entre une souche vaccinale et une souche sauvage et permet aussi le suivi épidémiologique des cas de rougeole, ainsi que l'identification de cas importés ou liés à une importation. Elle est systématiquement réalisée par le CNR.

Cet examen n'est actuellement pas remboursé en ville mais uniquement en établissement (code RIHN générique). Il est donc réalisé en établissement de santé (CHU) et par le CNR. Le CNR a développé une technique maison à partir des recommandations de l'OMS mais des tests commerciaux sont également disponibles. La recherche de l'ARN viral peut également être réalisée à partir du LCS ou d'une biopsie cérébrale dans le cadre du bilan étiologique d'une encéphalite.

► **Diagnostic à partir d'un prélèvement salivaire (kit salivaire)**

C'est l'approche recommandée actuellement dans le cadre du plan d'élimination de la rougeole. Le kit est envoyé au CNR dans le but d'effectuer une détection de l'ARN viral par RT-PCR, ainsi qu'une identification des IgM/IgG spécifiques salivaires (les IgM apparaissant dans la salive à peu

⁷ L'élévation d'un facteur 4 du titre des IgG entre le sérum de la phase aiguë et le sérum de la phase de convalescence (prélevé entre 10 et 30 jours après le premier) n'est pas mentionnée dans ces documents. Selon le CNR c'est plutôt un argument diagnostique que de confirmation car l'interprétation peut être délicate, notamment en cas d'infection intercurrente pouvant être à l'origine d'une réactivation polyclonale non spécifique.

près en même temps que dans le sang). Une analyse génomique sera également effectuée, notamment afin d'identifier l'origine géographique des souches virales (cf. *supra*).

Ces kits salivaires sont fournis par le CNR et distribués par les ARS. Une seule trousse commerciale a été validée réglementairement dans cette indication ; les autres trousse ne peuvent pas être utilisées sur des échantillons de salive.

► **Autres : culture cellulaire et détection des antigènes par immunofluorescence**

Ces techniques ne sont pas utilisées en routine mais plutôt dans les laboratoires de recherche.

1.4 Technique de RT-PCR pour la détection de l'ARN viral de la rougeole

La technique de RT-PCR, pour *reverse-transcriptase-polymerase chain reaction*, permet l'amplification d'un extrait d'ARN.

L'ARN pur est obtenu par lyse cellulaire puis par une déprotéinisation.

L'amplification comprend une étape de transformation de l'ARN en son ADN complémentaire par l'enzyme RT ; cette enzyme recopie la séquence de 5' vers 3' et nécessite une amorce qui reconnaît l'ARN. L'ADN complémentaire est par la suite amplifié par une ADN polymérase ; il existe une enzyme la *Thermus thermophilus* (Tth) ADN polymérase ayant à la fois une activité RT et d'ADN polymérase (23).

La détection des ARN amplifiés est différente selon le type de PCR mis en œuvre :

PCR conventionnelle « en point final » : la détection de la séquence se fait à partir du produit final de l'amplification ; par rapport à PCR en temps réel (cf. *infra*). La sensibilité est moins bonne et le délai d'exécution est important car il est nécessaire de soumettre les amplicons⁸ à un gel d'agarose pour l'identification. Dans la rougeole, certains laboratoires utilisent l'amplification de la séquence N-450 pour confirmer les cas ; d'autres laboratoires ciblent le gène N ou H pour la détection de l'ARN et/ou le génotypage (limite basse de détection 1000/10 000 copies par réaction) (8).

PCR temps réel : la mesure de la quantité d'ADN polymérisé se fait au fur et à mesure de l'amplification grâce à des amorces fluorescentes ; la sensibilité et la spécificité sont améliorées par rapport à la PCR conventionnelle, ainsi que la rapidité de la technique même si l'équipement est plus cher que pour la PCR conventionnelle. La sonde d'oligo-nucléotides doit être marquée. Le risque de contamination est amoindri par rapport à la PCR conventionnelle car il n'y a pas de manipulation post-PCR. En effet, combiner la *reverse transcriptase* et l'amplification dans une même réaction permet de diminuer le risque de contamination croisée (24). Il est toutefois nécessaire de respecter une organisation stricte au niveau des pièces et du matériel ainsi que d'intégrer des contrôles négatifs lors de l'amplification. Un autre avantage de la technique, notamment pour la rougeole, est la possibilité de détecter plusieurs cibles (multiplexe rougeole/rubéole). Les tests ciblent la région du gène H ou N (limite basse de détection 10/100 copies par réaction) et peuvent donner des résultats quantitatifs (8).

D'autres protocoles peuvent être utilisés pour la détection du virus et le génotypage, avec des techniques maison ou des kits commerciaux. Ces techniques doivent cependant répondre à des standards, avec des caractéristiques de performance bien définies comprenant : une limite inférieure de détection définie, les performances diagnostiques (sensibilité, spécificité), la reproductibilité (variation intra- / inter- essais limitée), présence d'un contrôle positif d'une séquence connue, aptitude à détecter tous les génotypes.

⁸ Fragment d'ADN amplifié par PCR.

Cas particulier de l'identification de la souche vaccinale

En cas de suspicion de rash post-vaccinal, il existe un test RT-PCR en temps réel (test MeVA *measles vaccine strains*) afin d'identifier le génotype vaccinal (génotype A) ; la cible est une séquence du gène H (nucléotides 478-548). Il est possible également d'identifier le génotype *via* la séquence N-450 mais la sensibilité du MeVA serait plus importante (97 %) (8).

Conditions de réalisation (25)

Il est essentiel de prélever l'échantillon au bon moment pendant la période de détection optimale, de respecter les conditions de stockage, de prélèvement, de transport, de conservation, notamment le respect de la chaîne du froid.

A l'arrivée de l'échantillon au laboratoire, il est nécessaire de vérifier son intégrité. S'il n'est pas testé tout de suite, il doit être mis au réfrigérateur (4-8°C) ou congélateur -70°C, selon les standards applicables au type d'échantillon. Il faut éviter de multiplier les cycles de congélation/décongélation afin de préserver l'intégrité de l'ARN.

Aussi, l'extraction de l'ARN d'un échantillon ou d'un lysat cellulaire doit se faire de façon précautionneuse afin d'améliorer le rendement. Il existe des kits commerciaux spécifiques au type de prélèvement.

1.5 Conditions actuelles de la prise en charge par l'assurance maladie

La NABM ne contient actuellement que des actes de sérologie (c.-à-d., la recherche des anticorps sériques antiviral de la rougeole). Il existe deux libellés pour le diagnostic d'une infection récente (en fonction de la technique) et également trois libellés pour le contrôle de l'immunité (voir Tableau 1).

Tableau 1. Nomenclature de la NABM concernant le diagnostic biologique de rougeole

Code NABM	Libellé
Diagnostic d'une infection récente IgG et IgM	
1768	par EIA*
1769	par IFI*
Contrôle de l'immunité IgG ou Ig totale	
1770	par EIA
1771	Par IFI
1772	Par IHA*

* EIA : technique immuno-enzymatique (y compris immunocapture) ; IFI : immunofluorescence indirecte ; IHA : immuno-hémagglutination.

La technique de détection de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR n'est pas inscrite à la NABM.

C'est actuellement le Centre national de référence (CNR) Rougeole-Oreillons-Rubéole qui effectue principalement cette recherche sur des échantillons salivaires majoritairement, mais également sur des échantillons naso-pharyngées, urinaires ou sanguins (lymphocytes).

Il est à noter que les laboratoires de biologie médicale d'établissements de santé peuvent également codifier l'acte de RT-PCR *via* deux codes génériques de la Liste complémentaire du Référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN) (voir Tableau 2).

Tableau 2. Codes RIHN génériques

Code acte liste complémentaire	Libellé de l'acte de la liste complémentaire
Détection du génome infectieux (applicables aux détections de génomes bactériens, viraux, parasitaires ou fongiques)	
N138	RT-PCR temps réel qualitative simplex en 1 étape sur ARN infectieux
N139	RT-PCR temps réel quantitative simplex en 1 étape sur ARN infectieux

2. Méthode d'évaluation

La méthode d'évaluation utilisée dans ce rapport et définie dans la feuille de route (26), est fondée sur :

- l'analyse critique de la littérature synthétique identifiée par une recherche systématique et sélectionnée sur des critères explicites ;
- le recueil du point de vue argumenté d'organismes professionnels interrogés comme parties prenantes : CNR Rougeole-Oreillons-Rubéole, le Conseil national professionnel (CNP) de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNPBAIHH), le CNP d'Infectiologie-Fédération Française d'Infectiologie (CNP-FFI), le Collège de la Médecine Générale (CMG) et le CNP de pédiatrie ;
- la synthèse de ces éléments dans un argumentaire soumis directement au Collège de la HAS pour validation.

2.1 Champ de l'évaluation

L'évaluation portera sur la technique de détection de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR pour le diagnostic biologique de l'infection de rougeole, notamment dans le cadre du plan d'élimination de la rougeole.

2.2 Objectifs de l'évaluation

Conformément à la demande du Ministère, l'objectif de l'évaluation est de déterminer si la recherche directe du virus d'ARN de la rougeole par RT-PCR a une place dans le diagnostic biologique de la rougeole, en vue d'une inscription de la RT-PCR rougeole à la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), ce qui permettra un remboursement de cet examen lorsqu'il sera réalisé dans un laboratoire de ville, notamment afin d'obtenir une confirmation biologique dans un délai plus court qu'avec la recherche d'anticorps, permettant de mettre en place plus rapidement les mesures préventives autour du cas et de limiter la diffusion du virus. Il est en effet habituellement décrit que le virus peut être détecté par RT-PCR plus tôt, idéalement dans les 5 premiers jours suivant le début de l'éruption, que les anticorps, détectés entre le 3^{ème} et le 28^{ème} jour après le début de l'éruption pour les IgM.

En effet, selon la demande, l'interprétation de la sérologie peut être délicate, notamment en raison des antécédents vaccinaux et du stade de la maladie qui, dans ce dernier cas, nécessite de réaliser un second prélèvement pour confirmer le diagnostic retardant les mesures de prévention.

L'évaluation aura également pour but de déterminer quels types d'échantillons sont utilisés et quels sont les fenêtres temporelles de détection optimale du virus.

Aussi, seront déterminées les situations spécifiques où l'utilisation de la détection de l'ARN viral par RT-PCR peut avoir une valeur ajoutée par rapport à la sérologie.

2.3 Recherche documentaire

Compte tenu de la date de réponse souhaitée par le Ministère (30 juin 2019), les documents de la littérature recherchés seront uniquement les documents synthétiques (recommandations de bonne pratique, consensus d'experts, rapports d'évaluation technologique...) et les documents institutionnels traitant de la stratégie de diagnostic biologique des cas de rougeole et précisant la place de la RT-PCR.

2.3.1 Base de données bibliographiques

► Liste des bases interrogées

Les bases bibliographiques suivantes ont été interrogées :

- pour la littérature internationale : les bases de données Medline et Embase ;
- pour la littérature francophone : la base de données Lissa ;
- la *Cochrane Library*.

► Stratégie d'interrogation des bases et résultats

La recherche a porté sur les sujets et les types d'études définis en accord avec le chef de projet et a été limitée aux publications en langue anglaise et française.

Elle a porté sur la période de janvier 2009 à avril 2019. Une veille a été réalisée jusqu'en juin 2019.

La stratégie de recherche dans les bases de données est détaillée dans le tableau en annexe 1.

► Résultats

Le nombre total de références obtenu par la recherche dans les bases de données est de 100.

2.3.2 Sites Internet

Les sites Internet des sociétés savantes et des organismes institutionnels des domaines concernés ont été interrogés en fonction des modalités de recherche propres à chacun : consultation de la liste des publications et/ou requête dans le moteur de recherche avec les mots-clés suivants : measles, rougeole.

Cette recherche s'est faite en avril 2019.

La liste des sites consultés est présentée en annexe 1.

► Résultats

Cette recherche a permis d'identifier 34 documents.

2.3.3 Recherche complémentaire

Elle a été effectuée dans la bibliographie des documents identifiés à l'issue de la recherche dans les bases et de celle sur les sites Internet.

► Résultats

Cette recherche a permis d'identifier deux documents.

2.4 Sélection des documents identifiés



Figure 2. Résultats de la recherche documentaire et de la sélection de la littérature

2.4.1 Première sélection des documents identifiés par la recherche bibliographique

Une première sélection des 136 documents identifiés a été effectuée sur titre et résumé ; seuls ont été retenus les documents traitant du champ de l'évaluation précisé dans le chapitre 2.1.

A l'issue de cette première sélection, 26 documents ont été sélectionnés.

2.4.2 Sélection des documents analysés dans ce rapport

Une seconde sélection a été réalisée suite à une lecture *in extenso* des documents provenant de la première sélection. Quatorze n'ont pas été retenus, soit :

- sept revues générales, ne provenant notamment pas d'un organisme professionnel, une société savante ou d'une institution ;
- six documents provenant d'une institution (OMS, Ministère, centre d'appui, organisme de prévention, Santé publique France) mais ne traitant pas du diagnostic biologique de rougeole ;
- un rapport d'évaluation technologique ne traitant pas du diagnostic biologique de la rougeole.

Au final, douze publications ont été retenues :

- six recommandations datant de 2013 à 2018 ;
- un manuel de 2018 ;
- un document concernant les normes de surveillance de 2018 ;
- un avis administratif datant de 2018 ;

- trois fiches pratiques datant de 2010 à 2014.

Le Tableau 3 ci-dessous présente les documents sélectionnés.

Tableau 3. Présentation des documents sélectionnés

Nature du document	Auteur(s), année, référence
Manuel des examens de laboratoire pour la surveillance de la rougeole, de la rubéole et du syndrome de rubéole congénitale	OMS, 2018 (8)
Normes de surveillance des maladies évitables par la vaccination : Rougeole	OMS, 2018 (27)
Recommandation pour l'utilisation des tests microbiologiques pour le diagnostic des maladies infectieuses	<i>Infectious Diseases Society of America</i> (IDSA), 2018 (13)
Avis administratif (recommandation) relatif à l'évolution de la stratégie de gestion en cas d'épidémie de rougeole importante sur le territoire national	Haut Conseil de la santé publique (HCSP), 2018 (19)
Recommandation concernant la prise en charge de la rougeole	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (CDC), 2018 (28)
Recommandation concernant la prise en charge de la rougeole	<i>Public Health England</i> (PHE), 2017 (5)
Recommandation concernant la prise en charge de la rougeole	Agence pour une vie de qualité (AVIQ), 2016 (29)
Recommandation concernant la prise en charge de la rougeole	<i>British Columbia Centre for Disease Control</i> (BC CDC), 2014 (30)
Fiche pratique pour la prise en charge des cas de rougeole en médecine générale	<i>Government of South Australia, SA Health</i> , 2014 (31)
Recommandation sur les lignes directrices pour la prévention et le contrôle des éclosions de rougeole au Canada	<i>Canada Communicable Disease Report</i> (CCDR), 2013 (32)
Fiche pratique sur la confirmation biologique des cas de rougeole	Institut de veille sanitaire (INVS), 2012 (21)
Fiche pratique sur le diagnostic biologique de l'infection de rougeole	<i>Health Service Executive of Ireland</i> (HSE), 2010 (33)

2.5 Analyse de la qualité méthodologique de la littérature sélectionnée

Ces douze publications ont fait l'objet d'une analyse de leur méthode d'élaboration.

La description de leur méthode d'élaboration est disponible en Annexe 3.

Les six recommandations se présentaient sous forme de revue narrative et sans gradations des recommandations. Quatre de ces recommandations (5, 13, 30, 32) précisaient que la rédaction était effectuée par un ou plusieurs groupe(s) d'experts. Une de ces quatre recommandations comportait également un groupe de lecture (5). La stratégie de recherche documentaire et le processus de sélection de la littérature n'étaient pas précisés dans ces six recommandations. Trois des recommandations comportaient des références bibliographiques indexées dans le texte (5, 13, 28). Deux autres recommandations avaient une bibliographie disponible sans référencement dans le texte (29, 30) et une recommandation ne comportait pas de bibliographie (32).

Au total, ces six recommandations étaient de qualité méthodologique assez faible, notamment par absence de précision sur leur méthode d'élaboration.

Le manuel et les normes de surveillance de l'OMS (8, 27) étaient présentés sous forme de revue narrative et comportait des références bibliographiques indexées dans le texte. Les normes de surveillance de l'OMS comportaient des tableaux, ainsi que des algorithmes décisionnels présentés de façon didactique.

Les trois fiches pratiques destinées aux professionnels de santé ne comportaient ni méthode d'élaboration, ni références bibliographiques (21, 31, 33).

2.6 Recueil du point de vue argumenté des professionnels

2.6.1 Constitution

S'agissant de la technique de RT-PCR pour la détection du virus de la rougeole, les professionnels dont le point de vue est recherché sont ceux qui sont confrontés au diagnostic de la rougeole. Il s'agit de groupes ou personnes concernés, ou susceptibles de l'être, par les conséquences de cette évaluation sur les modifications apportées à la NABM.

Cette consultation a été menée conformément à la procédure de consultation des parties prenantes mise en place par la HAS.⁹

Les organismes professionnels ont été consultés à l'aide d'un questionnaire. La liste des organismes contactés est détaillée dans le Tableau 4 ci-après.

Tableau 4. Organismes professionnels contactés par questionnaire

Disciplines	Organismes
Biologie médicale	Centre national de Référence (CNR) Rougeole-Oreillons-Rubéole
	Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNPBAIHH)
Maladie infectieuses	Conseil national professionnel d'infectiologie - Fédération française d'infectiologie (CNP-FFI)
Médecine générale	Collège de la médecine générale (CMG)
Pédiatrie	Conseil national professionnel de pédiatrie

2.6.2 Modalités de consultation des parties prenantes

En pratique, le président de chacun des organismes concernés a été directement sollicité afin que le groupe professionnel qu'il représente exprime son point de vue argumenté. Il lui a été adressé à cette fin un questionnaire ouvert standardisé rédigé par la HAS, ainsi qu'un exemplaire du document de travail de la HAS (rapport d'évaluation provisoire) contenant une présentation du contexte et les résultats de l'analyse de la littérature.

Cette sollicitation a été envoyée le 24 mai 2019 pour un délai fixé au 10 juin 2019. Seuls ont répondu le CNR et le CNP-FFI.

La réponse des organismes professionnels sont reproduites en Annexe 4.

Une synthèse de ces réponses, réalisée par la HAS, figure au chapitre 4.

⁹ Procédure de consultation des parties prenantes de la HAS, juin 2014. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2014-09/c_2014_0115_adoption_procedure_parties_prenantes.pdf.

2.7 Interrogation de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)

La HAS a interrogé l'ANSM pour connaître les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (DMDIV) permettant de réaliser une RT-PCR pour détecter le virus de la rougeole, ayant un marquage CE et donc potentiellement présents sur le marché français. Il a été demandé à l'ANSM la liste de ces DMDIV, ainsi que leurs principales caractéristiques : prélèvement(s) validé(s), seuil de détection, lignage(s) détecté(s), éventuelles réactions croisées avec des virus proches.

L'ANSM a été interrogée le 18 avril 2019 et a répondu le 20 juin 2019 (voir Annexe 5).

3. Résultats de l'évaluation

3.1 Analyse des données publiées

Suite à la recherche documentaire systématique et à la sélection sur des critères explicites des documents identifiés (voir chapitre 2), douze documents traitant du diagnostic biologique des cas de rougeole et notamment de la détection de l'ARN viral par RT-PCR ont été analysés, soit :

- un manuel de l'OMS de 2018 (8) ;
- les normes de surveillance publiées par l'OMS en 2018 (27) ;
- une recommandation concernant le diagnostic biologique des maladies infectieuses de l'IDSA de 2018 (13) ;
- cinq recommandations de santé publique dans le cadre du plan d'élimination de la rougeole, respectivement, du CDC de 2018 (28), du PHE de 2017 (5), de l'AVIQ de 2016 (29), du BC-CDC de 2014 (30) et du CCDR de 2013 (32) ;
- un avis administratif du HCSP de 2018 (19) ;
- trois fiches pratiques à l'intention des praticiens concernant la conduite à tenir devant un cas de rougeole en général ou pour le diagnostic biologique, respectivement du service de santé d'Australie de 2014 (31), de l'InVS de 2012 (21) et du service de santé d'Irlande de 2010 (33).

Les principales caractéristiques, la méthode d'élaboration et les conclusions de ces douze documents sont disponibles en Annexe 3.

3.1.1 Echantillons

Différents échantillons sont décrits dans les documents sélectionnés ainsi que les fenêtres de prélèvements pour la détection. Selon l'OMS (25), plusieurs échantillons peuvent être prélevés afin d'augmenter la probabilité de détection de l'ARN et l'identification du génotype.

► Écouvillonnage oro-pharyngé

C'est l'échantillon recommandé pour la détection de l'ARN viral par RT-PCR selon l'OMS et le PHE (5, 8). Il est aussi mentionné dans les six autres recommandations (13, 28, 29, 31-33).

Dans ce prélèvement, l'ARN serait détectable du début de l'éruption jusqu'à 7 jours (29), 14 jours (5, 8) ou 21 jours après (31), selon les documents.

La période de détection optimale serait comprise entre le premier jour de l'éruption jusqu'à 4 jours (32), 5 jours (8, 33) ou 6 jours après (5), selon les documents.

► Écouvillonnage naso-pharyngé

Si, selon l'OMS, ce type d'échantillon est plus difficile à collecter (8), il est mentionné dans six autres documents (en plus du manuel de l'OMS) (5, 21, 29, 30, 32, 33).

Dans ce prélèvement, l'ARN serait détectable du début de l'éruption jusqu'à 7 jours (29), 8 jours (30) ou 21 jours après (31), selon les recommandations. Pour l'InVS, l'ARN peut être détectable quelques jours avant l'éruption jusqu'à 12 jours après (21).

La période de détection optimale serait comprise entre J0 et J4 selon le CCDR (32).

► Écouvillonnage nasal¹⁰

Ce prélèvement peut également être utilisé selon quatre documents (8, 28, 29, 32), détectable de J0 à J5 (8), voire J7 (29). La période de détection optimale serait comprise entre J0 et J3 (8), voire J4 (32).

¹⁰ Selon le CNR, ces deux termes sont imprécis car ils n'indiquent pas précisément le lieu anatomique à écouvillonner.

► Aspiration naso-pharyngée

La détection sur un échantillon provenant d'une aspiration naso-pharyngée peut aussi être utilisée selon six documents (5, 8, 19, 27, 31, 32).

Dans ce prélèvement, l'ARN serait détectable du début de l'éruption jusqu'à 6 jours après (5), 7 jours après (32) ou 21 jours après (31), selon les documents. Pour le HCSP, l'ARN peut être détectable quelques jours avant l'éruption jusqu'à 7 jours après (19).

La période de détection optimale serait comprise entre le début de l'éruption et le 4^{ème} jour après (32) ou 5 jours après (8, 27), selon les documents.

► Ecouvillonnage de la muqueuse buccale¹⁰

Le PHE mentionne qu'il est possible d'utiliser un écouvillonnage de la muqueuse buccale pour la détection de l'ARN viral par RT-PCR du début de l'éruption jusqu'à 6 jours après (5). Cependant, un résultat négatif ne permet pas d'exclure le diagnostic sur ce prélèvement. Il est également précisé que ce prélèvement ne peut être utilisé pour distinguer une infection primaire d'une réinfection.

Il est possible aussi, selon le PHE, à la place du kit salivaire (cf. *infra*), d'envoyer au centre de référence un écouvillonnage de la muqueuse buccale pour la détection de l'ARN, ainsi qu'un sérum pour la recherche des anticorps.

► Salive (*oral fluid*)

La détection sur un échantillon de salive (*oral fluid*) peut être réalisée selon huit documents (5, 8, 19, 21, 27-29, 33). Cet échantillon peut être aussi utilisé pour la détection des IgM et IgG.

Dans ce prélèvement, l'ARN serait détectable du début de l'éruption jusqu'à 7 jours après (29) ou 21 jours après (8, 27), selon les recommandations. Pour le PHE, il serait détectable de quelques jours avant le début de l'éruption jusqu'à 14 jours après (5) et selon l'INVS de 3 jours avant jusqu'à 7 jours après l'éruption (19).

La période de détection optimale est comprise entre le début de l'éruption jusqu'à 5 jours après (8, 27, 33).

Les avantages sont la moindre invasivité lors du prélèvement, notamment chez les nourrissons et les jeunes enfants, l'absence de respect d'une chaîne du froid, le coût de transport réduit et la possibilité de faire deux analyses sur un échantillon (recherche des anticorps, détection de l'ARN viral) (27).

Les inconvénients sont la nécessité d'une expédition dans les 24 h avec conservation à température ambiante (27).

En France, un kit salivaire est employé : il permet la recherche des anticorps anti-rougeole et la détection de l'ARN viral par RT-PCR (19, 21) et est à envoyer au CNR pour analyse et à prioriser aux nourrissons et aux patients n'ayant pas d'accès à un laboratoire spécialisé.

Un kit salivaire également employé dans le cadre du programme national de surveillance de la rougeole est disponible au Royaume-Uni et en Belgique pour la détection des anticorps et de l'ARN viral par RT-PCR ; il est à envoyer aux centres de référence.

► Urine

La détection sur un échantillon d'urine peut être employé selon dix documents (5, 8, 13, 19, 21, 27, 28, 30-32).

Dans ce prélèvement, l'ARN serait détectable du premier jour de l'éruption jusqu'à 14 jours après (8, 27) ou 21 jours après, selon les recommandations (31). Selon l'InVS, de quelques jours avant le début de l'éruption jusqu'à 12 jours après (21).

La période de détection optimale est comprise entre le premier jour de l'éruption jusqu'à 4 jours après (32), 5 jours après (8, 27) ou 7 jours après (30), selon les recommandations.

Il serait cependant moins sensible que les autres échantillons, plus difficile à recueillir, à transporter et à traiter et il peut contenir des substances inhibitrices de la RT-PCR selon l'OMS (8, 27).

► Sang total

Selon quatre recommandations, la détection peut aussi se faire dans le sang total avec EDTA, sur les lymphocytes sanguins comme le précise l'InVS (5, 13, 19, 21). L'ARN serait détectable de quelques jours avant le début de l'éruption jusqu'à 12 jours après.

► Liquide cébrospinal (LCS)

L'IDSA et le CCDR (13, 32) mentionne qu'il est possible de rechercher l'ARN viral dans le LCS (cf. *infra*).

► Prélèvements respiratoires profonds

Les prélèvements respiratoires profonds (aspiration trachéale/bronchique ou liquide broncho alvéolaire (LBA)) peuvent être utilisés en cas de suspicion de pneumonie rougeoleuse, avec ou sans syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA) mais ils ne sont pas mentionnés dans les documents analysés.

Au total, le Tableau 5 synthétise les différents types de prélèvements disponibles pour la détection de l'ARN viral par RT-PCR ainsi que les périodes possibles de détection et la période optimale (qui varient selon les documents analysés), leurs avantages et inconvénients.

Tableau 5. Prélèvements disponibles pour la détection de l'ARN viral par RT-PCR

Type de prélèvement	1/ Période de détection possible 2/ Période de détection optimale	Avantages /Inconvénients
Ecouvillonnage oro-pharyngé	1/ De J0 à J7, J14 ou J21 2/ De J0 à J4, J5 ou J6	Echantillon recommandé pour l'OMS. Nécessité d'une chaîne du froid et doit parvenir dans les 48h au laboratoire.
Ecouvillonnage naso-pharyngé	1/ De J0 à J7, J8 ou J21 ou de quelques jours avant l'éruption à J12. 2/ De J0 à J4	Plus difficile à collecter Nécessité d'une chaîne du froid et doit parvenir dans les 48h au laboratoire.
Ecouvillonnage nasal	1/ De J0 à J5, J7 2/ De J0 à J3	Nécessité d'une chaîne du froid et doit parvenir dans les 48 h au laboratoire.
Aspiration naso-pharyngée	1/ De J0 à J7 ou J21 ou de trois jours avant l'éruption à J7 ou J14 2/ De J0 à J5	Nécessité d'une chaîne du froid et doit parvenir dans les 48h au laboratoire.
Ecouvillonnage de la muqueuse buccale	1/ De J0 à J6	Un résultat négatif ne permet pas d'exclure un diagnostic sur ce prélèvement. Ne peut être utilisé pour distinguer une infection primaire d'une réinfection.
Salive	1/ De J0 à J6, J7 ou J21 ou de quelques jours avant l'éruption à J12. 2/ De J0 à J4, J5 ou J6	Moindre invasivité du prélèvement Possibilité de recherche des anticorps Absence de respect d'une chaîne du froid – coût de transport réduit – Expédition dans les 24h Un kit salivaire est disponible en France pour la recherche de l'ARN et la détection des anticorps

Type de prélèvement	1/ Période de détection possible 2/ Période de détection optimale	Avantages /Inconvénients
Urine	1/ J0 à J14, J21 ou de quelques jours avant jusqu'à J12 2/ J0 à J5 voire J7	Plus difficile à recueillir, à transporter et à traiter Peut contenir des substances inhibitrices de la RT-PCR
Sang total (lymphocytes sanguins)	1/ de quelques jours avant le début de l'éruption jusqu'à J12	
LCS		En cas de suspicion d'encéphalite ou de PESS
Prélèvements respiratoires profonds		En cas de suspicion de pneumonie rougeoleuse avec ou sans SDRA.

3.1.2 Intérêt de la RT-PCR dans le diagnostic biologique de la rougeole

Selon neuf documents (5, 8, 13, 19, 27, 29-32), en cas de suspicion de rougeole, la détection de l'ARN viral par RT-PCR est réalisée en combinaison avec une détection des anticorps (sérologie) ; les prélèvements doivent être réalisés en même temps (28, 30). Il est précisé que les prélèvements doivent être envoyés à un centre de référence, dans trois recommandations (5, 19, 29). Ces documents distinguent plusieurs situations dans lesquelles la RT-PCR présente un intérêt :

► Confirmation des cas de rougeole en cas de suspicion clinique

Le BC-CDC indique que la détection de l'ARN viral permet de confirmer les cas de rougeole, notamment dans les situations de cas sporadiques ou suspects et/ou d'incohérence entre les résultats sérologiques, les éléments épidémiologiques et/ou les éléments cliniques. Trois documents précisent ces situations :

- cas sporadique ayant des IgM positives, notamment sans notion de contagé connu, en l'absence de contexte épidémiologique, ni de voyage en zone endémique (8, 32) ;
- cas où les IgM sont négatives, notamment si le prélèvement date des trois premiers jours de l'éruption (8, 30).

Le PHE précise qu'il est donc possible de confirmer ou d'exclure avec certitude le diagnostic (5).

Le CCDD rappelle que la RT-PCR est le test le plus sensible et le plus pertinent pour établir le diagnostic définitif de rougeole (32). La sensibilité peut varier selon le moment du prélèvement, idéalement jusqu'à J4, mais le virus peut être détecté jusqu'à J7. La sensibilité varie aussi selon les conditions de transport, l'intégrité des échantillons, leur conservation et les antécédents vaccinaux (cf. *infra*).

Selon l'OMS (8, 27), la sensibilité serait meilleure dans les trois premiers jours de l'éruption et l'utilisation d'une RT-PCR en temps réel permettrait de l'augmenter, par rapport à une RT-PCR conventionnelle.

► Génotypage

Dix documents (5, 8, 19, 21, 27-30, 32, 33) précisent que l'amplification génique permet aussi d'identifier le génotype, afin de mettre en évidence une chaîne de transmission, dans un contexte épidémique, de détecter les cas importés et de distinguer le génotype vaccinal du génotype sauvage (cf. *infra*).

En France, le génotypage est effectué à partir d'un échantillon positif en PCR et est systématiquement réalisé par le CNR pour le suivi épidémiologique national et mondial (19, 21).

► Cas des personnes récemment vaccinées (7-14 jours) et développant une éruption post-vaccinale de type rougeoleuse

Selon l'OMS, si un test est positif chez une personne vaccinée dans les 7-14 jours avant le début d'une éruption, le résultat peut être causé par le virus vaccinal (8). Cette situation peut se rencontrer notamment si le patient a été exposé à un cas confirmé et a été par la suite vacciné ou a été vacciné dans un contexte épidémique.

Il est donc nécessaire, afin de faire le diagnostic différentiel entre une éruption post-vaccinale et une éruption rougeoleuse, d'effectuer le génotypage, c'est-à-dire l'analyse de la séquence, afin de distinguer la souche vaccinale et la souche sauvage comme l'indiquent huit documents (5, 8, 19, 27-30, 32).

Ainsi, si l'on retrouve la souche vaccinale, le cas est rejeté mais en cas d'identification d'une souche sauvage, le cas peut être confirmé (27, 32).

L'OMS précise qu'il existe une RT-PCR ciblant spécifiquement la séquence nucléotidique du virus vaccinal (8).

► Cas de rougeole chez les personnes antérieurement immunisées

Comme mentionné dans le chapitre 1.2.1, cette situation est possible, notamment chez les personnes vaccinées (échec vaccinal secondaire).

Comme le rappelle l'OMS (8), chez les personnes ayant été immunisées contre la rougeole, le diagnostic sérologique est plus complexe ; en effet, les IgM peuvent ne pas être détectables ou détectables tardivement et l'élévation des IgG est rapide et il est donc difficile de mettre en évidence une élévation importante du titre des IgG entre les deux sérums¹¹.

Dans ce contexte, chez les personnes vaccinées et présentant des signes cliniques de rougeole, la détection de l'ARN viral par RT-PCR permet de confirmer le cas de rougeole, selon quatre documents (5, 8, 27, 32). La fenêtre de détection est cependant plus courte et les prélèvements sont à collecter le plus rapidement possible après le début de l'éruption (5, 8).

Plus généralement, l'OMS recommande deux tests dans cette situation, la mesure d'une haute avidité des IgG et l'identification de l'ARN viral par RT-PCR (8).

► Cas particulier du diagnostic étiologique des encéphalites ou de la panencéphalite sclérosante subaiguë (PESS)

Outre la recherche d'IgM et d'IgG dans le sérum et une recherche de synthèse intra-thécale d'IgG spécifiques, la procédure diagnostique, en cas de suspicion d'étiologie rougeoleuse, comprend également la recherche de l'ARN viral par amplification génique d'acides nucléiques (TAAN) dans le LCS et l'urine selon l'IDSA (13).

Pour le CCDR, le diagnostic de PESS peut être confirmé par la détection des IgG dans le LCS ou dans le sérum et également par détection de l'ARN viral par RT-PCR dans le LCS, même si cette dernière serait plus délicate à effectuer (32).

Il est à noter que pour le CNR (cf. *infra*) le diagnostic des encéphalites à inclusions, c'est la biopsie de la zone cérébrale lésée qui représente le prélèvement de choix.

¹¹ L'OMS précise également la présence d'IgG de forte avidité, ainsi qu'un taux important d'anticorps neutralisants dès le premier jour dans le sérum. Cependant la technique de séroneutralisation sur plages de lyse est longue et complexe à effectuer en routine.

Au total, selon la littérature analysée, la RT-PCR permet, dans le diagnostic biologique de la rougeole :

- **de confirmer ou d'exclure un cas de rougeole, en complément des résultats de la sérologie ;**
- **d'effectuer un génotypage, suite à un résultat positif pour l'ARN viral, notamment afin de mettre en évidence une chaîne de transmission et de détecter les cas importés ;**
- **de distinguer une souche vaccinale d'une souche sauvage, par génotypage, chez les personnes récemment vaccinées contre la rougeole et présentant une éruption de type rougeoleuse ;**
- **de détecter des cas de rougeole chez des personnes antérieurement immunisées contre la rougeole ;**
- **de rechercher une étiologie rougeoleuse, en cas d'encéphalite ou de PESS.**

3.1.3 Interprétation des résultats

Pour interpréter correctement les résultats des tests de laboratoire, le CCDR précise que les informations épidémiologiques et cliniques doivent être croisées avec celles de laboratoire, c'est-à-dire la notion de contagion, les antécédents vaccinaux, une notion de voyage, le moment du prélèvement par rapport au début des symptômes (32).

► En cas de test de détection positif

Pour le CCDR, un test positif permet de confirmer un cas de rougeole, en cas d'éruption cutanée chez les personnes ayant soit une notion de voyage en zone endémique ou un lien épidémiologique avec un autre cas (32).

Le BC-CDC précise qu'un test positif permet de confirmer le cas (30).

L'OMS mentionne qu'un résultat positif indique la présence du virus de la rougeole dans l'échantillon. Elle précise également les possibilités de faux positifs dans les cas de contamination croisée (8).

Après une détection positive, l'analyse de la séquence doit par la suite être réalisée pour identifier et signaler le génotype, selon l'OMS (27).

► En cas de test de détection négatif

Pour le CDC et le CCDR, un résultat négatif ne permet pas d'exclure le diagnostic car le moment du prélèvement de l'échantillon, notamment s'il a été prélevé au-delà de 7 jours après le début de l'éruption, et la gestion de celui-ci, peuvent influencer le résultat. Il est ainsi nécessaire d'évaluer les conditions de transport et de stockage des échantillons (28, 32).

Les cas de faux négatifs, selon l'OMS (8, 27), peuvent s'observer en cas d'échantillon de mauvaise qualité (VADS, notamment), un transport et un traitement inadéquat, une dégradation partielle de l'ARN due à des multiples cycles de congélation/décongélation, un prélèvement dans une période non optimale, un mésusage du test, un problème technique ou une mauvaise extraction de l'ARN.

L'OMS propose la stratégie suivante, en cas de résultat négatif (27) :

- si une autre cause est confirmée par RT-PCR : rejeter le cas ;
- en cas de suspicion de rougeole, si une autre cause n'est pas confirmée ou n'a pas été réalisée, la sérologie doit être effectuée.

Au total, si un test négatif permet d'exclure un cas, en principe, il est toujours à corroborer avec les résultats de la sérologie et les éléments cliniques.

3.2 Réponse de l'ANSM

L'ANSM a fourni les informations concernant deux DM DIV de RT-PCR rougeole ayant le marquage CE et donc potentiellement présents sur le marché français (voir en Annexe 5 les tableaux de l'ANSM).

La sensibilité analytique est de 5 copies par μl , la sensibilité est de 100 % et la spécificité de 100 %. Les souches détectées sont les souches A, B, C, D, E, G et H du virus.

L'échantillon utilisé est le sérum. L'absence de réactions croisées est précisée, notamment avec le HHV6 et la rubéole.

La liste de ces DM DIV peut ne pas être exhaustive selon l'ANSM.

4. Résultats de l'évaluation – point de vue des parties prenantes

Deux des cinq organismes professionnels sollicités ont répondu au questionnaire de la HAS : le Centre national de référence (CNR) Virus de la Rougeole, des Oreillons et de la Rubéole (ROR) et le CNP-FFI (sous la forme de remarques adressées par courriel).

Ces deux réponses sont présentées *in extenso* en Annexe 4 et ont été synthétisées par la HAS dans ce chapitre.

4.1 Intérêt de la détection de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR dans la stratégie diagnostique

Le CNR a confirmé les cinq situations mentionnées dans le rapport où l'utilisation de la RT-PCR est recommandée pour le diagnostic de rougeole. Il apporte des informations complémentaires.

- Concernant la **confirmation biologique des cas de rougeole** : la détection de l'ARN viral par RT-PCR permet, en complément de l'examen clinique, de l'interrogatoire et de la sérologie, de confirmer ou d'infirmer le diagnostic de rougeole, notamment dans les contextes suivants :
 - cas sporadiques ;
 - patients vus précocement, c'est à dire dans les 3 jours suivant l'apparition de l'éruption lorsque le diagnostic sérologique peut être pris en défaut (détection des IgM sériques) ;
 - statut vaccinal imprécis : administration d'une ou de deux doses, absence d'administration ;
 - délai de l'apparition de l'éruption non clairement précisé ;
 - diagnostic différentiel avec une autre pathologie éruptive (HHV6, Parvovirus B19...) ;
 - en cas d'immunodépression dont le niveau est à apprécier par le clinicien.

Les deux analyses (sérologie et biologie moléculaire) sont à réaliser en même temps et permettent d'avoir un diagnostic couvrant toutes les situations, notamment quels que soient le statut vaccinal et les délais de prélèvement, par exemple, sur un prélèvement oro-pharyngé et un sérum. En cas d'envoi au CNR, le kit salivaire est à utiliser ; ils sont cependant peu nombreux et les tests en plaque sont peu appropriés aux tests unitaires.

Cependant, selon le CNR, une recherche concomitante d'anticorps n'est pas systématique. En effet, le résultat de la RT-PCR réalisée sur un échantillon oro-pharyngé correctement prélevé par écouvillonnage avec écouvillon floqué, mis en milieu de transport virologique et transporté au laboratoire dans de bonnes conditions, dans les 3 jours qui suivent l'apparition d'une éruption faisant suspecter une rougeole, est suffisant pour confirmer ou infirmer le diagnostic. Aussi, la RT-PCR peut ainsi être utilisée seule en cas de difficulté à réaliser un prélèvement sanguin, chez les nourrissons notamment. Il est à noter que, pour le CNR, dans les situations de foyer épidémique très actif, des signes cliniques évocateurs, une solide notion de contagion, ainsi que le recueil fiable d'une absence d'administration vaccinale à un moment, l'examen clinique et l'interrogatoire peuvent suffire pour faire le diagnostic.

- Concernant le **génotypage** : sa réalisation n'a pas d'impact sur la prise en charge individuelle du patient. Pour le patient et son entourage, l'intérêt se limite au diagnostic d'une éruption post-vaccinale de génotype A, permettant de confirmer qu'il n'existe pas d'échec vaccinal primaire et donc que le pronostic est meilleur que celui d'une infection par le virus de la rougeole, et aussi une absence de possibilité de transmission. En épidémiologie, la détermination du génotype a une utilité épidémiologique et permet l'étude des chaînes de transmission. Le CNP-FFI se questionne sur l'intérêt d'un génotypage systématique, notamment pour les cas groupés et précise qu'en cas d'épidémie, des génotypages ponctuels peuvent suffire pour suivre l'épidémiologie.

- Concernant la **distinction entre génotype vaccinal et génotype sauvage** : la RT-PCR est la seule analyse permettant cette distinction, notamment chez un patient ayant reçu une dose de vaccin dans les jours précédant l'apparition de l'éruption, et souvent dans un contexte de contact avec un patient index. Elle peut être faite rapidement, sans l'étape de séquençage, par une RT-PCR ciblant de façon spécifique le génotype vaccinal A, disponible au CNR.
- Concernant les **complications neurologiques** (PESS, encéphalite à inclusions) : si la RT-PCR dans le LCS est importante, une recherche de synthèse intra-thécale d'IgG spécifiques doit être aussi réalisée. Aussi, le LCS n'est pas un prélèvement performant pour le diagnostic, notamment des encéphalites à inclusions ; en effet, c'est la biopsie de cerveau dans la zone lésée repérée par imagerie qui représente le prélèvement de choix, car le virus rougeoleux ne peut être trouvé ailleurs dans cette pathologie.

4.2 Conditions de réalisation

Concernant les prélèvements à privilégier, le CNR précise d'adapter le meilleur prélèvement à la situation, il distingue deux situations : une période épidémique basse et en situation épidémique.

En période épidémique basse, pour la surveillance de la rougeole, le prélèvement de salive (fluide oral) est recommandé car il permet la réalisation de toutes les analyses et est facile à réaliser. L'envoi au CNR est simple et gratuit mais seul le CNR peut le prendre en charge du fait de la rareté des trousses salivaires.

En situation épidémique, les différents prélèvements mentionnés par le CNR sont précisés dans le tableau suivant :

Type de prélèvement	Description/Conditions d'utilisation/Indications	Avantages	Inconvénients
Sérum (pour la sérologie) – sang total (pour l'ARN viral)		Simple à prélever.	Difficile chez le nourrisson. Délai à respecter par rapport à la date d'apparition de l'éruption. Difficultés analytiques en cas de sérum lactescent. Le sérum est peu adapté pour le diagnostic direct par RT-PCR : préférer un prélèvement de sang total.
Prélèvement oro-pharyngé par écouvillonnage	Avec un écouvillon floqué. Mise en milieu de transport virologique universel. Période de détection variable (parfois plus de 14 jours) qui dépend de la charge virale, elle-même dépendante de la dose infectante et du niveau de répllication dans l'individu infecté.		
Écouvillonnage naso-pharyngé	Correspond à un écouvillonnage des fosses nasales profondes		Désagrément ressenti plus important que le prélèvement oro pharyngé.
Aspiration naso-pharyngé		Peut servir à diminuer quelques heures la congestion nasale chez l'enfant quand elle existe. Performance serait identique à celle d'un	Délicate à réaliser chez l'adulte

Type de prélèvement	Description/Conditions d'utilisation/Indications	Avantages	Inconvénients
		écouvillonnage naso-pharyngé.	
Salive	Recueilli sur mousse type Oracol™		Difficultés d'approvisionnement
Urine		Utilisée quand le délai de prélèvement par rapport à l'apparition de l'éruption dépasse 7 jours.	

Le CNR mentionne également **les prélèvements respiratoires profonds** (aspiration trachéale/bronchique ou liquide alvéolo-bronchique (LBA)) en cas de suspicion de pneumonie rougeoleuse, avec ou sans syndrome de détresse respiratoire aigüe (SDRA).

Le CNR précise également que les appellations « écouvillonnage nasal » et « écouvillonnage de la muqueuse buccale » ne sont pas appropriées car elles sont imprécises sur la localisation exacte du prélèvement à réaliser.

Selon le CNR, les **fenêtres** indiquées correspondent à celles mentionnées dans le rapport.

Le CNR précise **les renseignements à fournir** pour accompagner le prélèvement :

- le statut vaccinal : absence de vaccination, nombre de doses administrées (une ou deux) avec leurs dates. Parfois le recueil est difficile et peu fiable ;
- l'existence d'une immunodépression du patient ou de son entourage direct ;
- date d'apparition de l'éruption ;
- notion de contagé : date et lieu présumés.

Selon le CNR, il n'existe pas de spécificités dans le **recueil du prélèvement et son transport**, pour ceux utilisés dans la recherche de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR.

Selon le CNR, **les techniques utilisées et les séquences actuellement recherchées** sont :

- **Pour la détection du virus** : la technique de choix est une RT-PCR en temps réel ciblant le gène N. Ce type d'amplification-détection offre des avantages multiples par rapport à la RT-PCR en point final (pas d'ouverture de tube, diminution des risques de contamination croisée, rapidité, sonde spécifique, semi-quantification *via* la valeur du Ct ou *Cycle Threshold*). La séquence amplifiée est de petite taille. Une quantification n'est pas nécessaire et un résultat qualitatif est donc suffisant. Il n'existerait pas d'études établissant une corrélation entre une quantification de l'ARN viral et la sévérité des symptômes et le pronostic (complications tardives).
- **Pour le séquençage déterminant le génotype** : il est réalisé à partir d'une autre amplification en point final et concerne une séquence partielle de 450 nucléotides du gène N qui est celle qui doit être renseignée sur la base MeANS internationale. Elle est par la suite détectée par électrophorèse sur gel d'agarose, purifiée, puis séquencée par méthode Sanger. Les résultats sont ensuite déposés sur la MeANS qui détermine le génotype par méthode BLAST, à partir de ses séquences de référence.

Il est possible dans le cadre de la recherche de réaliser d'autres séquences : gène complet H, région intergénique F-M.

Le délai de réponse souhaitable, afin de mettre en place les mesures préventives individuelles et collectives, pour le CNR, doit être le plus court possible, soit dans un délai de 24 à 48 heures.

4.3 Pratiques actuelles en France

Le CNR confirme l'approche actuelle du diagnostic biologique de la rougeole détaillée dans l'argumentaire. En pratique, le CNR constate la réalisation des sérologies par les laboratoires de

ville puis l'envoi par ces laboratoires d'une recherche de l'ARN viral au CNR en cas de sérologie positive. La recherche d'ARN viral par RT-PCR n'étant actuellement réalisée que par quelques laboratoires en France. Les laboratoires envoient dans la majorité des cas les prélèvements au CNR aussi pour effectuer le génotypage, de façon retardée et groupée, avec les renseignements cliniques, le statut vaccinal et le *cycle threshold* obtenus, si possible. Les prélèvements oropharyngés semblent les plus fréquents.

4.4 Avantages et inconvénients de l'inscription de l'acte de détection de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR à la NABM

Selon le CNR,

L'avantage principal est un rendu de résultat le plus précoce possible, idéalement dans les 24 h, dans le but d'accélérer la prise en charge du patient et des cas contacts et de limiter la diffusion du virus.

Cependant, il précise que cette technique ne sera sans doute pas réalisée par l'ensemble des laboratoires de ville mais seulement par les laboratoires spécialisés car les demandes d'analyse fluctuent en raison du caractère inconstant de la circulation du virus selon les années.

Les inconvénients sont donc le probable manque de disponibilités des renseignements nécessaires à une bonne interprétation des résultats car, selon le CNR, les pratiques dans les laboratoires privés peuvent ne pas inclure ces paramètres (absence de revue de prescription) ; de plus, ces paramètres sont difficiles à obtenir (expérience CNR). Aussi, une formation appropriée sera nécessaire pour l'interprétation des résultats. Une collaboration sera nécessaire entre les laboratoires réalisant le diagnostic et le CNR afin que ce dernier puisse remplir ses missions de surveillance sanitaire dans le cadre du plan d'élimination de la rougeole mis en place et coordonné par l'OMS Europe.

4.5 Questions sur la version intermédiaire de l'argumentaire de la HAS

Le CNR rappelle la pertinence d'évoquer la question des anticorps neutralisants pour évaluer le risque de réinfection rougeoleuse chez les vaccinés 1 ou 2 doses et les immunodéprimés (voir page 12).

Le CNR fait quelques commentaires sur la version provisoire, notamment sur les réinfections chez les personnes immunodéprimées, sur la terminologie précise à utiliser pour les échantillons et sur le diagnostic des encéphalites rougeoleuses (voir question D2 du questionnaire).

Il rappelle que le diagnostic biologique de la rougeole doit être précis et rigoureux et qu'il constitue un véritable enjeu dans le plan d'élimination de cette infection, notamment en raison du caractère explosif des foyers et la potentielle gravité de infections dans la population d'aujourd'hui (32 % d'hospitalisations parmi les cas déclarés en 2018 et 2019) et qui comporte une part significative d'individus à risque (greffés, patients sous thérapie immunosuppressive, obésité...).

Conclusion

La HAS a été sollicitée par le Ministère afin d'obtenir un avis sur la place de la détection de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR dans le diagnostic biologique de la rougeole, en vue d'une inscription sur la NABM dans le cadre de l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale.

L'objectif de l'évaluation était de déterminer si cette recherche a une place dans le diagnostic biologique de la rougeole, notamment afin de confirmer plus rapidement les cas et de mettre en place plus rapidement les mesures préventives individuelles et collectives et donc de limiter la diffusion du virus. Aussi, la prise en charge de cette technique par l'Assurance maladie permettra l'accès de la technique aux laboratoires de ville, cette détection étant faite actuellement principalement par le CNR.

La méthode d'évaluation a consisté en une recherche documentaire de la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, documents institutionnels) traitant de la prise en charge et du diagnostic biologique de la rougeole. Cette recherche a été suivie d'une sélection sur critères explicites, ce qui a abouti à retenir et à analyser d'une manière critique six recommandations de bonne pratique, un manuel, un document concernant les normes de surveillance, un avis administratif et trois fiches pratiques destinées aux professionnels de santé. L'évaluation s'est également basée sur le recueil de la position écrite des organismes professionnels interrogés en tant que parties prenantes, soit le Centre national de référence (CNR) Rougeole-Oreillons-Rubéole et le Conseil national professionnel d'infectiologie – Fédération française d'infectiologie (CNP-FFI), exprimée *via* l'envoi d'un questionnaire.

Au final, l'évaluation ainsi conduite permet d'énoncer les points conclusifs suivants concernant la place de la détection de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR dans le diagnostic biologique de la rougeole.

En cas de suspicion de rougeole, suite à un examen clinique et un interrogatoire permettant de préciser notamment une notion de contage ou un voyage récent dans une zone endémique, la détection de l'ARN viral par RT-PCR permet :

- **de confirmer biologiquement les cas de rougeole**, notamment dans les situations suivantes :
 - cas sporadique, sans notion de contage connu, en l'absence de contexte épidémiologique, ni de voyage en zone endémique ;
 - chez les patients vus précocement, c'est-à-dire dans les trois premiers jours suivant le début de l'éruption, les IgM pouvant ne pas être détectés pendant cette période sur les prélèvements ;
 - en cas d'impossibilité de confirmer le statut vaccinal ou une infection naturelle antérieure ; les résultats de la sérologie pouvant être délicats à interpréter ;
 - chez les patients immunodéprimés dont le niveau est à apprécier par le clinicien ;
 - afin de faire le diagnostic différentiel avec une autre pathologie éruptive si les résultats sérologiques ne sont pas concluants (faux positifs).

La PCR et la sérologie (recherche des anticorps), les prélèvements devant être réalisés idéalement en même temps, permettent ainsi de couvrir toutes les situations, notamment concernant le statut vaccinal et les délais de prélèvement.

En pratique, une recherche concomitante d'anticorps n'est pas systématique si le résultat de la RT-PCR réalisée sur un échantillon oro-pharyngé correctement prélevé par écouvillonnage avec écouvillon floqué, mis en milieu de transport virologique et transporté au laboratoire dans de bonnes conditions, dans les 3 jours qui suivent l'apparition d'une éruption faisant suspecter une rougeole, est suffisant pour confirmer ou infirmer le diagnostic. Ainsi, la RT-PCR peut être utilisée seule en cas de difficultés à réaliser un prélèvement sanguin, chez les nourrissons notamment. Aussi, en situation de cas groupés ou d'épidémie, les éléments cliniques et l'interrogatoire peuvent suffire pour confirmer un cas.

- **d'effectuer un génotypage à visée épidémiologique**, suite à un résultat positif, pour la détection de l'ARN, afin de mettre en évidence une chaîne de transmission, dans un contexte épidémique et de détecter les cas importés ;
- **de distinguer un génotype vaccinal d'un génotype sauvage par génotypage**, dans les situations des personnes récemment vaccinées (7-14 jours) et développant une éruption de type rougeoleuse ; si l'on retrouve le génotype vaccinal, le cas est rejeté mais en cas d'identification d'un génotype sauvage, le cas peut être confirmé. Ainsi, il peut être montré qu'il n'y a pas eu d'échec vaccinal primaire, que le pronostic est meilleur qu'une infection par le virus sauvage et qu'il n'y a pas de possibilité de transmission ;
- **de faire le diagnostic d'une rougeole chez les personnes antérieurement immunisées contre la rougeole**, notamment chez les personnes vaccinées (échec vaccinal secondaire), l'interprétation de la sérologie étant plus complexe (absence possible d'IgM, élévation rapide des IgG). La détection de l'ARN viral permet donc de confirmer le cas de rougeole, la fenêtre de détection est cependant plus courte et les prélèvements sont à collecter le plus rapidement possible après le début de l'éruption. Deux autres tests sont cependant à envisager dans cette situation : la mesure de la haute avidité des IgG et le titrage des anticorps neutralisants par séroneutralisation sur plaques de lyse ;
- **de rechercher chez des patients hospitalisés, une étiologie rougeoleuse, en cas d'encéphalite ou de panencéphalite sclérosante subaigüe (PESS)** : en complément de la recherche d'IgM et d'IgG dans le sérum, ainsi que la recherche d'une synthèse intra-thécale d'IgG, la détection de l'ARN viral par RT-PCR peut être utilisée dans le LCS ou dans l'urine. Il est à noter que pour l'encéphalite à inclusions, la biopsie d'une zone cérébrale lésée est le prélèvement de choix, le virus rougeoleux ne pouvant être trouvé ailleurs.

La séquence majoritairement recherchée en routine est une région du gène N codant pour la protéine de la nucléocapside. Pour la détermination du génotype, ce sont les variants d'une séquence partielle de 450 nucléotides du gène N qui sont identifiés. Il existe néanmoins un test RT-PCR ciblant spécifiquement le génotype vaccinal (génotype A), la cible est une séquence du gène H.

Les principaux prélèvements à utiliser, en situation épidémique, sont des échantillons suite à un écouvillonnage oro- ou naso-pharyngé, une aspiration naso-pharyngée, la salive, l'urine voire le sang total. L'ARN est détectable de quelques jours avant le début de l'éruption jusqu'à 21 jours après. Cependant, la période optimale de détection est comprise entre le premier jour du début de l'éruption jusqu'à 5 jours après, en moyenne. D'autres prélèvements peuvent être réalisés dans le cadre de la recherche d'une étiologie rougeoleuse, tels les prélèvements respiratoires profonds dans la pneumonie rougeoleuse et le LCS pour les encéphalites aiguës et la panencéphalite sclérosante subaigüe. Il est à noter qu'en situation de surveillance, le prélèvement de salive (fluide oral) est recommandé car il est de réalisation simple, peu invasif et il permet d'effectuer toutes les analyses (sérologie et détection de l'ARN viral) ; ce prélèvement est à envoyer au CNR car il est le seul à pouvoir le prendre en charge du fait de la rareté des trousses salivaires.

Afin d'éviter les faux négatifs, il est essentiel de prélever l'échantillon pendant la période de détection optimale, de respecter les conditions de prélèvement, de stockage, de transport, de conservation, notamment le respect d'une chaîne du froid. Aussi, il est nécessaire de prévenir le risque de contamination croisée lors des manipulations, afin de limiter les résultats faussement positifs.

Les renseignements à fournir avec le prélèvement sont le statut vaccinal, l'existence d'une immunodépression du patient ou de son entourage direct, la date de l'apparition de l'éruption et la date et le lieu présumés du contage.

Le délai de réponse souhaitable afin de mettre en place les mesures préventives individuelles et collectives doit être le plus court possible, de l'ordre de 24 à 48 heures.

Une collaboration entre les laboratoires de ville et le CNR permettra à ce dernier d'assurer sa mission de surveillance épidémiologique dans le cadre du plan d'élimination de la rougeole.

Au total, la HAS considère que la RT-PCR détectant l'ARN viral de la rougeole présente, dans le cadre de son éventuelle inscription sur la NABM, un intérêt dans les situations suivantes :

- patient présentant des signes cliniques de rougeole :
 - hors foyer épidémique actif ;
 - en phase précoce de rougeole, idéalement dans les premiers jours de la phase éruptive (au-delà de ces premiers jours, la RT-PCR perd de son intérêt et l'examen à effectuer est la recherche des anticorps sériques) ;
- patient ayant préalablement été immunisé (naturellement ou par vaccination avec une ou deux doses), immunodéprimé ou non, et présentant des signes cliniques de rougeole :
 - hors foyer épidémique actif ;
 - en phase précoce de rougeole, idéalement dans les premiers jours de la phase éruptive (sauf pour les patients immunodéprimés chez lesquels la fenêtre de détection est plus longue) ;
 - en complément de la recherche des anticorps sériques ;
- personne récemment vaccinée (7-14 jours) développant une éruption de type rougeoleuse :
 - avec une notion de contage ou de circulation du virus ;
 - sans recherche concomitante d'anticorps sériques ;
 - préférentiellement par une RT-PCR identifiant uniquement le génotype A, à défaut par une RT-PCR suivie d'un génotypage (approche plus longue).

Dans ces trois situations :

- le prélèvement à privilégier est un prélèvement oro-pharyngé par écouvillonnage ;
- chaque prélèvement doit obligatoirement être accompagné de renseignements cliniques (voir fiche de renseignements du CNR), notamment :
 - date et lieu présumés du contage ;
 - date de début de la phase éruptive ;
 - statut vaccinal (date et nombre de doses) ;
 - nature précise du prélèvement ;
 - existence d'une immunosuppression et précisions sur sa nature et son importance ;
- l'examen utilisé doit être en mesure de détecter les génotypes en circulation ;
- compte tenu de la forte contagiosité de ce virus, le résultat doit pouvoir être transmis très rapidement, idéalement dans les 24 h, au maximum dans les 48 h ;
- en cas de résultat positif, le résultat et les renseignements cliniques doivent être transmis au CNR afin que celui-ci remplisse ses missions de surveillance.

Annexe 1. Recherche documentaire

1 - Bases de données bibliographiques

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.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française. Les tableaux 1 et 2 présentent de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans les bases de données Medline, Embase et Lissa.

Le nombre total de références obtenues par la recherche dans les bases de données bibliographiques est 100.

Tableau 6. Stratégie de recherche dans les bases de données Medline et Embase

	Sujets Termes utilisés	Période
	Détection du virus de la rougeole par PCR	01/2009 – 04/2019
Etape 1	(measles/diagnosis OR measles virus/diagnosis)/de	
	OU	
Tape 2	((measles OR measles virus)/de OR measles/ti) AND (polymerase chain reaction/de OR (diagnos* OR detect*)/ti OR (virus PRE detection OR polymerase chain reaction OR PCR OR RT-PCR)/ti,ab)	
	ET	
Tape 3	(consensus OR guideline* OR position paper OR recommendation* OR statement*)/ti OR (health planning guidelines OR consensus development OR practice guideline)/de OR (consensus development conference OR consensus development conference, NIH OR guideline OR practice guideline)/pt	
	OU	
Tape 4	(meta analys* OR meta-analys* OR metaanalys* OR systematic literature search OR systematic* literature review* OR systematic* overview* OR systematic* review*)/ti OR meta-analysis/de OR (meta-analysis OR systematic review)/pt OR (Cochrane Database Syst Rev)/so	
	OU	
Tape 5	random*/ti,ab OR (cross-over studies OR double-blind method OR random allocation OR single-blind method OR controlled clinical trial OR crossover procedure OR double blind procedure OR multicenter study OR randomization OR randomized controlled trial OR single blind procedure)/de OR (controlled clinical trial OR multicenter study OR randomized controlled trial)/pt	
	OU	
Tape 6	(clinical trial* OR comparative stud* OR versus)/ti OR (clinical trial OR comparative study)/de OR comparative study/pt	

de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract ; pt : publication type

Tableau 7. Stratégie de recherche dans la base de données Lissa

Sujets		Période
Termes utilisés		
	Détection du virus de la rougeole par PCR	01/2009 – 04/2019
Etape 1	rougeole/de OR rougeole/ti	
ET		
Tape 2	(detect* OR test* OR diag* OR PCR)/ti	

de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract ; pt : publication type

2 – Sites consultés

Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé - ANSM

Bibliothèque médicale Lemanissier

Catalogue et index des sites médicaux francophones - CISMef

CNR Rougeole

Haut conseil de la santé publique – HCSP

Haute Autorité de Santé – HAS

Ministère en charge de la santé

Santé Publique France

Société de pathologie infectieuse de langue française - SPILF

Société française de médecine générale - SFMG

Société française de pédiatrie – SFP

Vaccination Info Service

Agence de la santé publique du Canada

Agency for Healthcare Research and Quality - AHRQ

Alberta Medical Association - AMA

American Academy of Family Physicians - AAFP

American Academy of Pediatrics - AAP

American College of Physicians – ACP

American Pediatric Association – APA

Australasian Society for Infectious Diseases – ASID

Australian Clinical Practice Guidelines

BC Centre for Disease Control

BMJ Best Practice

British Infection Association – BIA

Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health - CADTH

Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases - CACMID
Canadian Foundation for Infectious Diseases - CFID
Canadian Task Force on Preventive Health Care - CTFPHC
Centers for Disease Control and Prevention - CDC
Centre fédéral d'expertise des soins de santé - KCE
Centre for Reviews and Dissemination databases
Clinical Practice Guidelines Portal
Cochrane Library
Collège des médecins du Québec - CMQ
College of Physicians and Surgeons of Alberta - CPSA
Department of Health
European Centre for Disease Prevention and Control - ECDC
European Paediatric Association - EPA
European Society for Paediatric Infectious Diseases - ESPID
European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases - ESCMID
Guidelines and Audit Implementation Network - GAIN
Guidelines and Protocols Advisory Committee - GPAC
Guidelines International Network - GIN
Health Protection Surveillance Centre Ireland - HPSC
Horizon Scanning Research & Intelligence Centre - HSRIC
Infectious Diseases Society of America - IDSA
Institut national d'excellence en santé et en services sociaux – INESSS
Institute for Clinical Evaluative Sciences - ICES
Institute for Clinical Systems Improvement - ICSI
International Society for Infectious Diseases - ISID
Medical Services Advisory Committee – MSAC
National Electronic Library of Infection - NELI
National Health Services - NHS
National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE
National Institute for Health Research. Health Technology Assessment programme - NIHR
National Institute of Allergy and Infectious Diseases - NIAID
National Institutes of Health - NIH
New Zealand Guidelines Group - NZGG
NHS Evidence
Organisation mondiale de la santé – OMS
Paediatric Society of New Zealand - PSNZ
Public Health England

Royal College of General Practitioners - RCGP
Royal College of Paediatrics and Child Health - RCPCH
Scottish Intercollegiate Guidelines Network - SIGN
Singapore Ministry of Health
Société canadienne de pédiatrie
Toward Optimized Practice
Tripdatabase
U.S. Preventive Services Task Force – USPSTF

3 – Veille

En complément, une veille a été réalisée jusqu'en juin 2019 sur les sites Internet énumérés ci-dessus. Une mise à jour a été effectuée sur les bases de données jusqu'en juin 2019.

Annexe 2. Listes des tableaux, graphiques, organigrammes, schémas, etc.

Tableau 1. Nomenclature de la NABM concernant le diagnostic biologique de rougeole	19
Tableau 2. Codes RIHN génériques	20
Tableau 3. Présentation des documents sélectionnés	24
Tableau 4. Organismes professionnels contactés par questionnaire	25
Tableau 5. Prélèvements disponibles pour la détection de l'ARN viral par RT-PCR	29
Tableau 6. Stratégie de recherche dans les bases de données Medline et Embase	41
Tableau 7. Stratégie de recherche dans la base de données Lissa	42
Figure 1. Clinique, contagiosité et résultats de laboratoire pour l'infection par le virus de la rougeole	10
Figure 2. Résultats de la recherche documentaire et de la sélection de la littérature	23

Annexe 3. Caractéristiques et principales conclusions des recommandations / guides de bonne pratique traitant du diagnostic biologique de la rougeole et notamment de la place de la RT-PCR

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
<p>Organisation mondiale de la santé (2018) (8)</p>	<p>Manuel concernant la surveillance de la rougeole et de la rubéole dans le réseau de laboratoires d'analyse biologique</p>	<p><u>Echantillons :</u></p> <p>Il est essentiel de respecter les conditions de collecte (formation des personnels), de transport (respect de la chaîne du froid) et de conservation des échantillons.</p> <p>Pour la détection des anticorps IgM et IgG :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>1^{er} et 2^{ème} sérum</u> : le second sérum peut être prélevé en cas de résultat de la PCR pas encore disponible ou équivoque, en cas de résultat négatif devant une forte suspicion de rougeole (notamment, si prélèvement J0-J3 pour les IgM), en cas de suspicion de faux positifs pour les IgM. - <u>salive</u> : permet aussi la détection de l'ARN viral par RT-PCR. <p>Pour l'isolation du virus et la détection moléculaire :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>écouvillonnage oro-pharyngé</u> : c'est l'échantillon recommandé pour la détection de l'ARN par PCR, ainsi que pour l'isolation en culture. ARN détectable de J0 à J14 (optimal : J0-J5). Pour l'isolation du virus : optimal de J0 à J3 (voire J5) ; - <u>écouvillonnage naso-pharyngé</u> : peut détecter l'ARN et isoler le virus ; il est plus difficile à collecter. Pour l'isolation du virus : optimal de J0 à J3 (voire J5) ; - <u>aspiration naso-pharyngée, écouvillonnage nasal</u> : ce sont des méthodes efficaces pour la détection de l'ARN viral et également pour l'isolation du virus : optimal de J0 à J3 (voire J5) ; - <u>salive (« oral fluid »)</u> : permet la détection de l'ARN viral par PCR et également celle des IgM et des IgG. Ne permet pas l'isolement du virus en culture. Peut être positive jusqu'à J21 environ mais prélever idéalement dans les premiers jours de l'éruption ; - <u>urine</u> : moins sensible que les autres échantillons. Permet la détection de l'ARN, ainsi que l'isolation en culture. Pour l'isolation du virus : optimal de J0 à J3 (voire J5). ARN détectable de J0 à J14 (optimal : J0-J7). <p><u>Remarque</u> : il est nécessaire de prélever également un échantillon pour la détection des anticorps car la probabilité de confirmation biologique des cas est améliorée.</p> <p><u>Techniques :</u></p> <p>Détection des IgM/ELISA : prélèvement idéal = J3-J28</p> <p>Devant un cas suspect,</p>	<p>Sous forme de revue générale avec références bibliographiques</p>

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>- <u>IgM négatif</u> : exclusion du diagnostic de rougeole, si l'échantillon est prélevé au bon moment ;</p> <p>- <u>IgM faux négatif</u> : prélèvement dans les trois premiers jours de l'éruption ;</p> <p>- <u>IgM positif</u> : confirmation du diagnostic, si l'échantillon est prélevé au bon moment ;</p> <p>- <u>IgM faux positif</u> :</p> <p>* autres infections éruptives (rubéole, parvovirus B19, entérovirus, Zika, dengue...), présence de facteur rhumatoïde</p> <p>* Attention aux faux positifs causés par une vaccination récente (> 30 jours) : la sérologie ne permet pas de distinguer une réponse immunitaire à une infection naturelle par rapport à une réponse immunitaire vaccinale, il est préférable de réaliser un test moléculaire pour déterminer le génotype. Cependant, des critères cliniques existent pour une éruption associée à la vaccination : éruption après 7-14 jours post-vaccination avec/sans fièvre, absence de symptômes respiratoires, échantillon positif aux IgM collecté 8-56 jours post-vaccinal, pas de cas de rougeole/rubéole dans l'entourage ni de mise en évidence d'une chaîne de transmission et les investigations n'ont pas identifié d'autres causes possibles d'une éruption.</p> <p>- <u>IgM indéterminée</u> : faire un second sérum pour confirmer.</p> <p>En l'absence d'un échantillon adéquat, les cas sont confirmés épidémiologiquement ou cliniquement.</p> <p>Détection des IgG / ELISA :</p> <p>- <u>mise en évidence d'une séroconversion des IgG</u> entre un premier sérum (aigu, prélevé dans les 7 jours après le début de l'éruption) et un autre sérum (collecté 10-21 jours après) ;</p> <p>- <u>élévation du titre des IgG</u> entre le sérum à la phase aiguë (< 7 jours) et un sérum à la phase de convalescence (10-21 jours). Tester les deux sérums en parallèle. La mise en évidence d'une élévation significative (augmentation d'un facteur 4 ou comme précisé par l'algorithme spécifique du kit qui convertit la densité optique en titre) entre les deux sérums confirme le diagnostic. La capacité à mettre en évidence une élévation significative dépend de l'intervalle de prélèvement entre les deux sérums ; l'intervalle idéal peut varier selon les individus.</p> <p>* en cas de réinfection : l'élévation est plus rapide, le pic peut être plus proche du début de l'éruption (3-10 jours post rash). En cas de suspicion de réinfection, deux sérums à la phase aiguë peuvent être prélevés avec un intervalle de 3-5 jours</p> <p>- <u>avidité des IgG spécifiques</u> : l'avidité est basse lors d'une infection aiguë (jusqu'à 6-8</p>	

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>semaines). L'avidité est forte pour les infections passées et les vaccinations > 3 mois.</p> <p>Détection de l'ARN viral par RT-PCR :</p> <p><u>Rappel sur les échantillons</u> : salive (<i>oral fluid</i>), écouvillonnage de la gorge, écouvillonnage ou aspiration naso-pharyngé(e), urine : optimal J0-J5, la sensibilité diminue à partir de J5-J7, possible détection jusqu'à J21.</p> <p>La détection de l'ARN est réalisée de préférence en combinaison avec une détection d'IgM, permettant de confirmer les cas de façon optimale. Idéalement plusieurs échantillons peuvent être prélevés afin d'augmenter la probabilité de détection de l'ARN et l'identification du génotype. La RT-PCR permet notamment de confirmer un cas sporadique ayant des IgM positives, sans notion de contact connu, en l'absence de contexte épidémiologique ni de voyage dans une zone endémique.</p> <p>La détection permet également de confirmer un cas suspect ayant des IgM négatives, notamment si le prélèvement date des trois premiers jours de l'éruption. Dans les cas de personnes non récemment vaccinées, un résultat RT-PCR positif peut confirmer une infection aiguë même en cas d'IgM négative.</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>test de détection positif</u> indique la présence du virus de la rougeole dans l'échantillon ; - si le <u>test est positif dans un contexte de vaccination dans les 7-14 jours</u> avant le rash, le résultat positif peut être causé par le virus vaccinal ; - dans les cas où un <u>patient a été exposé à un cas confirmé et a été par la suite vacciné</u> OU a été vacciné dans un contexte épidémique : il est nécessaire d'identifier le génotype vaccinal (A) ou d'utiliser un test spécifique pour exclure le cas ; - <u>faux positif</u> : dans les cas de contamination croisée ; - <u>faux négatif</u> : échantillon de mauvaise qualité, transport et traitement inadéquat, dégradation partielle de l'ARN due à de multiples cycles de congélation/décongélation, prélèvement dans une période non optimale, mésusage du test, problème technique, mauvaise extraction. A corroborer avec les résultats des IgM. <p>La détection de l'ARN viral par RT-PCR permet de confirmer un résultat positif ou équivoque du dosage des IgM. Aussi, le génotypage permet de distinguer la souche vaccinale d'une souche sauvage.</p> <p>Cas de suspicion de rougeole chez une personne vaccinée ou immunisée :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dans les cas d'échec vaccinal primaire : la présentation clinique est la même qu'une infection primaire mais le diagnostic peut être difficile pour les praticiens (diagnostic différentiel avec d'autres maladies éruptives, examens d'emblée non appropriés). Une confirmation de rougeole peut être effectuée par la mesure d'une basse avidité des 	

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>IgG ;</p> <ul style="list-style-type: none"> - il est également possible d'avoir une réinfection de rougeole chez les personnes immunisées contre la rougeole ; chez ces personnes, la présence d'une forte avidité des IgG dans le sérum de la phase aiguë est mise en évidence. Aussi, un taux important d'anticorps neutralisants IgG peut être détecté dans le sérum dès le premier jour de l'éruption ; - un taux important exceptionnel d'anticorps neutralisants $\geq 40\ 000$ mUI/mL sur le premier (ou second) sérum par séroneutralisation permet d'identifier et de confirmer une réinfection (spécificité de 100 %) ; - les IgM peuvent ne pas être détectables ; - l'élévation du taux d'IgG est rapide ; l'augmentation du titre des IgG entre deux sérums peut ne pas être mise en évidence ; - la détection du virus par RT-PCR permet de confirmer le cas ; la fenêtre pour la détection est plus courte ; les prélèvements doivent être collectés le plus rapidement possible après le début de l'éruption ; - au total, les tests les plus pertinents pour identifier une réinfection sont la mesure de d'une haute avidité des IgG et l'identification du virus par la RT-PCR. <p>Tests complémentaires permettant le diagnostic final des cas suspects :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kits ou réactifs pour la détection des IgM ou d'un ARN viral spécifique pour d'autres pathologies éruptives ; les pathologies à détecter varient selon les régions/pays/contexte épidémique ; - kits ELISA pour la détection des IgG spécifiques ; - tests quantitatifs ou semi-quantitatifs IgG pour l'évaluation d'une élévation du titre entre deux sérums (phase aiguë et phase de convalescence) ; - test d'avidité IgG ; - mesure du taux d'anticorps neutralisants ; - RT-PCR temps réel (augmente la sensibilité) ; - RT-PCR ciblant la séquence nucléotidique du virus vaccinal ; - analyse de séquences pour exclure une souche sauvage du virus détecté et confirmer un rash post-vaccinal. <p>Critères pour exclure un cas suspect, devant un résultat d'IgM équivoque ou probable faux positif :</p> <ul style="list-style-type: none"> - résultat IgM négatif, sur un second test IgM sur le même échantillon ; 	

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<ul style="list-style-type: none"> - résultat des IgG négatif sur un second prélèvement collecté au moins 10 jours après le début de l'éruption, en cas d'IgG négatif sur un premier sérum ; ces deux sérums doivent être testés en parallèle le même jour ; - si un deuxième test sur un même échantillon pour les IgM reste équivoque, avec des IgG positifs (sauf si réinfection suspectée) ; - patient vacciné dans les 7-14 jours avant le début de l'éruption (sauf s'il a été vacciné dans un contexte de post-exposition ou de contrôle d'une épidémie) ; - absence de mise en évidence d'une élévation du titre des IgG sur des échantillons prélevés à des moments appropriés ; à corréliser selon le contexte épidémique et la présentation clinique ; - mise en évidence d'une autre cause d'éruption (chikungunya, dengue, parvovirus B19, rubéole...). 	
<p>OMS (2018) (27)</p>	<p>Normes de surveillance des maladies évitables par la vaccination concernant la rougeole</p>	<p><u>Rationnel surveillance :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - niveau mondial ou régional : permet l'identification des zones de transmission et des déficits de protection immunitaire ; - niveau national / local : détection / confirmation des cas afin de mettre en œuvre les mesures appropriées, déterminer la source de l'infection (importation, endémie...), identification populations / zones à faible couverture vaccinale. <p><u>Echantillons :</u></p> <p>Prélèvement lors du premier contact avec le cas. Inutile si lien épidémiologique avec un cas confirmé biologiquement ou épidémiologiquement. Dans les pays proches de l'élimination collecter un échantillon pour la sérologie et un pour la détection virale, au bon moment.</p> <ul style="list-style-type: none"> - sang / sérum entier : permet la détection d'anticorps IgM, IgG – délai ≤ 28 jours – sérums couplés (intervalle de 10/20 jours). C'est la technique simple et standardisée mais la sensibilité du test peut être diminuée si prélèvement ≤ 3 jours après l'apparition de l'éruption cutanée et la VPP des IgM est faible dans un contexte d'élimination ; - tache de sang séché (PVD) : pour détection IgM et ARN viral par RT-PCR – délai ≤ 28 jours – pas de chaîne de froid, coût transport réduit, collecte facile – sensibilité réduite si échantillon non séché ou stocké correctement, absence de contrôle qualité ; - prélèvement gorge, nez, naso-pharyngé à l'aide de tampons ou sécrétions obtenues par aspiration naso-pharyngée : isolement en culture ou détection ARN viral par RT-PCR. Pour la détection d'ARN il faut prélever le plus tôt possible. Il est à noter qu'une détection ARN négative provenant des VADS ne permet pas d'exclure 	<p>Présentation claire sous forme de tableau pour les algorithmes décisionnels, les différents prélèvements (...).</p> <p>Forme narrative avec références bibliographiques disponibles.</p>

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>formellement un cas de rougeole car le moment du prélèvement et la qualité de celui-ci est essentiel. Idéalement prélèvement dans les 5 premiers jours après le début de l'éruption, voire 14 jours, pour la détection du virus.</p> <p>Avantages RT-PCR : bonne sensibilité pour la confirmation que le sérum des 3 premiers jours.</p> <p>Inconvénients : nécessite une chaîne du froid, doit parvenir au laboratoire dans les 48 h.</p> <p>- fluide oral : détection IgM + détection ARN viral par RT-PCR.</p> <p>Pour la détection de l'ARN viral : prélèvement idéal dans les 5 jours post-rash mais possible jusqu'à 14 jours.</p> <p>Pour les anticorps : jusqu'à 28 jours.</p> <p>Avantage : moindre invasivité, pas de chaîne du froid, coût transport réduit, un même échantillon pour les deux analyses.</p> <p>Inconvénients : moins sensible pour la détection des anticorps que le sérum lors d'une collecte précoce, pas adapté pour l'isolement, nombre limité de kits ELISA validés pour le fluide oral, expédition dans les 24 h si conservation à température ambiante.</p> <p>- urine : permet détection ARN viral et isolement en culture. Prélèvement 5 jours post-rash idéalement, voire 14 jours pour la détection du virus.</p> <p>Inconvénients : difficile à recueillir, à transporter et à traiter – moins sensible que prélèvement de gorge, peut contenir des substances inhibitrices de la RT-PCR.</p> <p>Tests de laboratoire</p> <p>Méthode de confirmation :</p> <ul style="list-style-type: none"> - détection IgM par test ELISA, c'est la norme d'excellence. Les résultats doivent être communiqués 4 jours après l'arrivée de l'échantillon au laboratoire ; - séroconversion ou élévation du titre des IgG dans un sérum aigu ou convalescent ; - RT-PCR positive OU isolement viral dans une culture de cellules. <p>Tests de génotype :</p> <p>Permet d'identifier la chaîne de transmission, dans un contexte épidémique ou pour les cas importés.</p> <p>Conduite à tenir concernant les tests de laboratoire pour les cas suspects de rougeole dans un contexte d'élimination :</p> <p>réaliser un prélèvement pour détection de l'ARN viral ET un prélèvement pour un test sérologique.</p>	

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p><u>A/ Pour la RT-PCR :</u></p> <p>1/ <i>Si positive :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - en l'absence de vaccination récente : confirmer le cas et effectuer le séquençage pour identifier et signaler le génotype ; - en présence d'une vaccination récente (7-14 jours avant le début de l'éruption) : effectuer le séquençage et rejeter le cas si l'on retrouve la souche vaccinale mais le confirmer si l'on retrouve une souche sauvage. <p>2/ <i>Si négative :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - si une autre cause est confirmée par RT-PCR : rejeter le cas ; - si une autre cause n'est pas confirmée ou n'est pas réalisée : faire le test sérologique (cf. <i>infra</i>). <p><u>B/ Pour le test sérologique si sérum/salive prélevé(e) au moins 4 jours après le début de l'éruption :</u></p> <p>1/ <i>Si test IgM positif ou équivoque¹² :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - si RT-PCR positive ou lien épidémiologique ou forte suspicion : confirmer le cas ; - si RT-PCR négative ou pas disponible, absence de lien épidémiologique ou en l'absence de forte suspicion : investiguer d'autres causes (rubéole...). <p>Si une autre cause n'est pas retrouvée, refaire un deuxième sérum 10/21 jours après le premier →</p> <p>* refaire IgM et IgG : si IgM positif confirmer le cas et/ou si mise en évidence d'une séroconversion ou élévation du titre des IgG entre les deux sérums confirmer également le cas. L'absence de séroconversion des IgG exclut le cas.</p> <p>* en l'absence de disponibilité d'un deuxième sérum : confirmer le cas.</p> <p>NB : en cas de suspicion de réinfection de rougeole, l'augmentation du titre des IgG est rapide. Réaliser des tests complémentaires (RT-PCR si non réalisée, anticorps neutralisants, augmentation du titre des IgG)</p> <p>2/ <i>si test IgM négatif :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - écarter la rubéole et rejeter le cas. <p><u>C/ Pour le test sérologique sur salive/sérum collecté(e) 3 jours ou moins après le début de l'éruption</u></p>	

¹² Un résultat équivoque IgM est obtenu après répétition du test. Le résultat positif ou équivoque IgM a été obtenu à l'aide d'un essai validé par un laboratoire accrédité.

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>1/ si test IgM positif ou équivoque : cf. supra (B1) ;</p> <p>2/ si test IgM négatif et RT-PCR négative :</p> <ul style="list-style-type: none"> - écarter la rubéole et si résultats rubéole négatifs, deux possibilités : * prélèvement possible d'un deuxième sérum (≥ 6 jours) : refaire un test IgM, si positif confirmer le cas, si négatif, rejeter le cas. * en l'absence de deuxième prélèvement : **si clinique compatible avec la rougeole : <ul style="list-style-type: none"> →soit confirmation clinique ou épidémiologique ; →soit rejet du cas par mise en évidence d'un lien épidémiologique avec une autre maladie éruptive ou confirmation d'une autre cause. **si clinique non compatible : rejeter le cas. <p><u>Critères permettant le diagnostic d'une réaction associée au vaccin anti rougeoleux (doivent tous être présents) :</u></p> <p>éruption cutanée seule sans autres symptômes respiratoires, l'éruption a lieu 7-14 jours post-vaccinal, échantillon IgM positif date de 8-56 jours après la vaccination, pas de cas secondaire sur le terrain, génotype A isolé.</p>	
<p>Haut Conseil de la santé publique France (2018) (19)</p>	<p>Recommandations sur la stratégie de gestion en cas d'épidémie de rougeole</p>	<p><u>Diagnostic biologique :</u></p> <p>Technique directe par RT-PCR :</p> <ul style="list-style-type: none"> - par échantillon de liquide buccal (kit salivaire), respiratoire (aspiration nasale, écouvillonnage naso-pharyngé), urine sang total, prélevés pendant la période virémique ; - l'ARN viral peut être détecté de 3 jours avant le début de l'éruption jusqu'à une semaine après ; - un génotypage est effectué à partir de chaque échantillon positif en RT-PCR ; il est systématiquement réalisé par le CNR pour le suivi épidémiologique national et mondial. Il permet notamment le diagnostic différentiel entre virus sauvage et virus vaccinal (génotype A). <p>Technique indirecte : recherche anticorps anti-rougeoleux dans le sérum ou le liquide buccal (kit salivaire). La plupart par méthode immuno-enzymatique. les cinétiques des anticorps entre le liquide buccal et le sérum se superposent. Une trousse est validée dans le liquide buccal en France.</p> <ul style="list-style-type: none"> - IgM : technique de référence pour le diagnostic d'une infection aiguë, apparaissent 3 jours après le début de l'éruption, en même temps que les IgG ; peuvent persister 	<p>Consensus d'experts. Forme narrative. Pas de bibliographie disponible.</p>

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>2 mois après l'éruption. Le résultat peut être négatif si le prélèvement est réalisé les 3 premiers jours de l'éruption et il est nécessaire de les rechercher sur un second prélèvement plus tardif.</p> <p>- <u>IgG</u> : séroconversion des IgG entre deux sérums, prélevés à 10 jours d'intervalle. Permet de confirmer un diagnostic de rougeole mais peu adaptée au diagnostic d'une infection aiguë.</p> <p>La présence de ces IgG permet de montrer la présence d'une immunité vaccinale ou naturelle. Il n'existe pas de seuil pour définir une immunité protectrice. Pour évaluer le caractère protecteur il est nécessaire de recourir à des tests de séro neutralisation (laboratoire spécialisé). Pas de place des tests d'avidité en routine pour le diagnostic de la rougeole.</p> <p><u>Le kit salivaire</u> permet de détecter l'ARN viral et les anticorps anti-rougeoleux, il est envoyé au CNR pour analyse. L'envoi au CNR est à prioriser aux nourrissons et aux patients n'ayant pas d'accès à un laboratoire spécialisé. Transfert technologique possible auprès des laboratoires de virologie référents.</p> <p><u>Confirmation biologique des cas en situation d'épidémie :</u></p> <p>Prioriser le diagnostic dans les contextes suivants :</p> <p><u>Présence de facteurs de gravité</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - personne hospitalisée avec suspicion de forme grave ; - cas suspect chez une personne à risque de rougeole grave (nourrissons de moins de 12 mois, immunodéprimé, femme enceinte) ; - cas suspect dans l'entourage familial de personnes non immunisées à risque de rougeole grave (cf. <i>supra</i>). <p><u>Absence de facteurs de gravité :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - cas suspect de rougeole chez une personne vaccinée, quel que soit le nombre de doses reçues incluant la valence rougeole ; - cas suspect de rougeole chez une personne résidant dans un des trois départements français d'Amérique (région OMS des Amériques où la rougeole est éliminée) ; - cas suspect de rougeole survenant dans les 2 semaines (incubation) suivant un voyage à l'étranger pour la confirmation du cas et la caractérisation du génotype. <p>La confirmation biologique n'est pas recommandée :</p> <ul style="list-style-type: none"> - cas clinique en lien épidémiologique à un cas confirmé ; - cas groupés de rougeole dans une collectivité pour lesquels au moins un cas a été 	

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
<p>Infectious Disease Society of America (IDSA) Etats-Unis (2018) (13)</p>	<p>Guide pour l'utilisation des tests microbiologiques pour le diagnostic des maladies infectieuses.</p>	<p>confirmé biologiquement.</p> <p>- détection d'IgM dans le sérum, à partir du moment de l'éruption mais peut être négative dans les 72 h post-éruptions. Un deuxième prélèvement peut être effectué 72 h après le rash afin de détecter une séroconversion. Peuvent être positifs un mois après le début de l'infection ou chez les personnes récemment vaccinées.</p> <p>- séroconversion des IgG ou élévation d'un facteur 4 du titre des IgG entre la phase aiguë (éruption) et la phase de convalescence (10-30 jours plus tard).</p> <p>Remarques : Les techniques quantitatives ou semi quantitatives pour la détermination du titre d'anticorps ne sont plus disponibles en routine dans les laboratoires locaux ou de référence aux États-Unis.</p> <p>- isolation du virus par culture cellulaire (écouvillonnage oro/naso-pharyngé, urine, sang total) ou détection par TAAN (écouvillonnage oro-pharyngé, salive, urine, sang total), rapidement après le début de l'éruption. Ces techniques sont réservées aux laboratoires de santé publique.</p> <p>- Cas particulier du diagnostic étiologique des encéphalites ou PESS, concernant la rougeole, les procédures diagnostiques comprennent :</p> <ul style="list-style-type: none"> • une recherche d'IgM et d'IgG dans le LCR et/ou le sérum ; • culture du virus et test d'amplification acides nucléiques (TAAN) de la rougeole dans le LCR et l'urine. 	<p>Elaboré par un groupe d'experts cliniciens et de spécialistes en diagnostic microbiologique.</p> <p>Pas de gradation des recommandations, ni du processus de sélection de la littérature.</p> <p>Argumentaire scientifique basé sur les preuves avec bibliographie disponible.</p> <p>Présentation sous forme de tableau.</p> <p>Liens d'intérêts indiqués.</p>
<p>CDC États-Unis (2018) (28)</p>	<p>Manuel de surveillance de la rougeole</p>	<p>La maladie étant rare aux États-Unis, la confirmation biologique est essentielle pour les cas sporadiques et en cas d'épidémie.</p> <p>Détection virale directe par RT-PCR ou par isolation en culture :</p> <ul style="list-style-type: none"> - permet de confirmer le diagnostic de rougeole, notamment en cas de résultat sérologique non conclusif ; - les échantillons doivent être prélevés en même temps que ceux de la sérologie ; - écouvillonnage naso- ou oro-pharyngé, urine : prélever le plus rapidement possible, idéalement dans les trois premiers jours après le début de l'éruption ; - en cas de négativité : ne permet d'exclure le diagnostic car le moment du prélèvement et la gestion de l'échantillon peuvent avoir une influence sur le résultat. <p>Génotypage :</p> <ul style="list-style-type: none"> - permet de distinguer le virus vaccinal du virus sauvage, en cas de rash ; - permet d'identifier des cas importés, mettre en évidence une chaîne de transmission. <p>Sérologie (ELISA) :</p>	<p>Forme narrative avec bibliographie disponible.</p>

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>IgM :</p> <p><u>Chez les personnes non vaccinées :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - apparaissent dans les 4 premiers jours du début de l'éruption, pic dans la première semaine, rarement détecté au-delà de 6-8 semaines ; - un sérum des 72 premières heures post-rash peut donner des faux-négatifs ; un second sérum post-72h doit être prélevé. Peuvent être détectable jusqu'à 30 jours post-rash, voire plus. <p><u>Chez les personnes vaccinées :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - IgM détectable 8-14 jours après le début de l'éruption, chez les personnes venant d'être vaccinées ; - le présentation de la rougeole est différente chez les gens ayant été vaccinés et faisant une infection ; - absence d'IgM possible en cas d'infection. En cas de suspicion de rougeole faire une RT-PCR (cf. <i>supra</i>). <p>IgG :</p> <p><u>Chez les personnes non vaccinées :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - IgG apparaissent lentement (entre 1 et 10 jours post-rash), pic à 2 semaine, et persistent toute la vie ; - recherche d'une séroconversion ou d'une élévation du titre d'un facteur 4 des IgG entre le sérum aigue et celui de convalescence (10-30 jours après le premier). <p><u>Chez les personnes vaccinées :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - en cas d'infection : augmentation rapide et importante des IgG ; - cas particulier d'une infection causée par une récente vaccination : en moyenne, signes 6-12 jours après. Il est recommandée de réaliser une détection directe du virus, notamment afin d'identifier le génotype. <p><u>Séro-neutralisation sur plage de lyse :</u></p> <p>Le test de référence pour la mise en évidence d'une infection de rougeole récente est une augmentation d'un facteur 4 du titre des IgG lors d'un test de séro-neutralisation sur plage de lyse entre le sérum aiguë et celui de convalescence. Ce test mesure la fonction des anticorps. Il est réalisé exceptionnellement.</p> <p><u>Avidité des IgG :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - le faire sur un sérum aigu contenant des IgG : une faible avidité confirme une infection récente ou une vaccination récente ; 	

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		- permet de distinguer un échec vaccinal primaire d'un échec vaccinal secondaire.	
Public Health England, Royaume-Uni (2017) (5)	Recommandation visant à fournir des préconisations de santé publique sur l'évaluation des cas de rougeole, la prise en charge des sujets contacts et la description des méthodes de laboratoires disponibles, dans le cadre du système de surveillance de la rougeole.	<p><u>Dans le cadre de la surveillance de la rougeole :</u></p> <p>La salive est l'échantillon optimal pour la surveillance ; car peu invasif, plus acceptable que le sérum, chez les enfants, afin de détecter les IgM, les IgG et l'ARN viral. Il est donc possible de confirmer ou d'exclure avec certitude le diagnostic. Un sérum et un écouvillonnage de la muqueuse buccale peuvent être envoyés au centre de référence à la place de la salive.</p> <p><u>Concernant les échantillons :</u></p> <p>- salive :</p> <ul style="list-style-type: none"> • permet de détecter les IgM/IgG par ELISA et l'ARN viral par PCR ; • doit être prélevée pour chaque cas suspect même si d'autres échantillons ont été prélevés et notamment en l'absence de confirmation de l'infection ; • la sensibilité serait meilleure que le sérum, notamment dans les premiers jours de l'éruption (sensibilité = 90 % pour les IgM à J+3) ; • le niveau relatif des IgG peut être utilisé pour déterminer si le cas est primaire ou une réinfection ; • l'ARN viral peut être détecté avant le début de l'éruption et au moins 2 semaines après le début des symptômes ; • le géotypage de l'ARN viral permet de caractériser le virus dans une des 24 géotypes afin d'identifier des chaînes de transmission et les cas importés, et également afin de distinguer une souche sauvage d'une souche vaccinale chez les personnes développant une éruption post vaccinale de type rougeoleuse ; • le prélèvement salivaire n'est cependant pas approprié pour l'évaluation du statut immunitaire des sujets contacts. <p>- sérum :</p> <ul style="list-style-type: none"> • permet la détection IgM/IgG par ELISA ; • échantillon le plus approprié pour déterminer le statut immunitaire des sujets contacts ; • les IgM peuvent être négatives dans les trois premiers jours de l'éruption. Donc, il est essentiel de documenter la date du prélèvement afin de pouvoir interpréter les résultats ; • peut être utilisé pour confirmer une réinfection par la détection de la haute avidité des IgG ; • pas utilisable pour la détection de l'ARN viral par PCR et le géotypage et 	<p>Rédaction par un groupe de membres du <i>Public Health England</i>.</p> <p>Relecture par des membres du <i>Vaccine Scientific Steering Group</i> et du <i>HPT Immunisation leads</i>.</p> <p>Forme narrative avec bibliographie disponible.</p>

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>également pour distinguer une forme sauvage d'une forme post vaccinale.</p> <p>- écouvillonnage muqueuse buccale :</p> <ul style="list-style-type: none"> • peut être utilisé pour une PCR si prélevé dans les 6 jours post-éruption. Un résultat négatif ne permet pas d'exclure le diagnostic ; • peut être utilisé pour distinguer une souche sauvage d'une souche vaccinale ; • ne peut être utilisé pour distinguer une infection primaire d'une réinfection. <p>- écouvillonnage oro-pharyngé / aspiration naso-pharyngée / urine / sang total (EDTA) :</p> <ul style="list-style-type: none"> • peuvent être utilisés pour la PCR si prélevés dans les 6 jours après le début de l'éruption ; • cependant, ces échantillons sont moins disponibles et moins recommandés que les autres. <p>Remarque :</p> <p>- mention du cas particulier de l'intérêt de la PCR pour détecter l'ARN viral lors des cas de réinfections, notamment chez les patients ayant reçus deux doses de vaccins contenant la valence rougeole.</p>	
<p>Agence pour une vie de qualité (AVIQ) Belgique (2016) (29)</p>	<p>Recommandation de santé publique concernant la prise en charge de la rougeole</p>	<p>Dans le cadre du plan d'élimination de la rougeole, toute suspicion clinique doit être confirmée biologiquement. La collecte des données épidémiologiques est indispensable.</p> <p><u>Techniques et prélèvements disponibles :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - sérum : détection des IgM et IgG : prélever dans les 7/28 jours après apparition de l'éruption cutanée (post-rash) ; - salive : détection des IgM et IgG : prélever dans les 7/28 post-rash ; - salive PCR : prélever maximum 7 jours post-rash ; - salive génotypage : maximum 5 jours post-rash ; - frottis nez/gorge PCR : prélever maximum 7 jours post-rash ; - frottis nez/gorge culture cellulaire/génotypage : maximum 5 jours post-rash. <p><u>En toutes circonstances (épidémie, cas groupés, cas isolé) :</u></p> <p>Confirmation biologique par kit salivaire (IgM/IgG + RT-PCR) ou frottis nasal/gorge pour recherche d'IgM et faire le génotypage, dans les cas suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> - enfants de moins de 2 ans, prélèvement salivaire indolore ; - rougeole après un voyage récent (moins de 2 semaines) ; - rougeole chez un vacciné ; 	<p>Forme narrative.</p> <p>Bibliographie disponible sans référencement.</p> <p>Rédaction : non précisé.</p> <p>Coordonnées des personnes de contact.</p>

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>- complications de la rougeole ; - forme frustre de la rougeole ; - rougeole chez une personne d'un groupe à risque.</p> <p><u>En dehors du contexte épidémique</u></p> <p>- recommandation de confirmation de chaque cas clinique par un test de labo (OMS) ; - approche recommandée dans le cadre du plan d'élimination de la rougeole = Test salivaire (PCR + IgM/IgG génotype) ; - sérologie : si on dispose d'un laboratoire pouvant rendre les résultats dans les 3 jours : on observe un séroconversion des IgG + IgM spécifiques. IgM présent de l'éruption jusqu'à J+28. IgG apparaissent en même temps. Cependant, une sérologie négative dans les 3 premiers jours de l'éruption ne permet pas d'éliminer un diagnostic de rougeole et il est nécessaire de réaliser un second prélèvement 8 jours plus tard.</p> <p>NB : <u>si sujet vacciné</u>, récemment, faire kit salivaire IgM/IgG + PCR et aussi afin de faire un génotypage.</p> <p>NB : cutt off IgG : titre > 200mIU/ml protège contre les infections.</p> <p><u>Epidémie (5-10 cas de rougeole) :</u></p> <p>- pas nécessaire de confirmer chaque cas biologiquement. Nécessité d'un lien d'un cas suspect avec un cas confirmé épidémiologiquement au sein d'une chaîne de transmission contenant un cas confirmé biologiquement. La VPP de la clinique est suffisante.</p>	
<p>British Columbia Centre for Disease Control, Canada (2014) (30)</p>	<p>Recommandation de santé publique visant à promouvoir la notification, la surveillance et le suivi des cas ainsi que la gestion en cas d'épidémie.</p>	<p><u>Pour les cas probables et suspects :</u></p> <p>Le diagnostic biologique comprend à la fois la sérologie et la détection du virus par RT-PCR et/ou par culture cellulaire. Les échantillons sont envoyés au centre de référence (BCPHMRL¹³). Les informations épidémiologiques (notion de contagion, voyage) et cliniques (antécédents vaccinaux, moment du prélèvement) doivent être considérées dans l'interprétation des résultats.</p> <p><u>L'identification du virus¹⁴, par RT-PCR,</u> doit être effectuée pour tous les cas sporadiques ou suspects, sur un écouvillonnage naso-pharyngé (datant de jusqu'à 8 jours après l'éruption) ou un échantillon d'urine (datant de jusqu'à 14 jours après l'éruption).</p> <p>Cette détection permet un diagnostic définitif ainsi que le génotypage qui permet la</p>	<p>Forme narrative.</p> <p>Bibliographie disponible en fin de document mais non référencée dans le texte.</p>

¹³ British Columbia Centre for Disease Control Public Health Microbiology and Reference Laboratory for testing.

¹⁴ Les auteurs citent également l'isolation en culture du virus.

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>distinction entre le virus sauvage et le virus vaccinal, ainsi que la détermination si un ou plusieurs types circulent dans une communauté. Les échantillons positifs en PCR doivent être testés pour une isolation en culture. L'identification virale est utile en cas d'incohérences entre les résultats sérologiques et les éléments épidémiologiques et/ou cliniques.</p> <p>La sérologie permet de déterminer si l'échantillon peut être étiqueté « rougeole aiguë » et comprend l'identification des IgM et des IgG. Comme l'éruption de la rougeole peut ressembler aux autres infections virales, le sérum peut être analysé pour les cas suspects ou cliniques de rougeole pour les anticorps anti parvovirus B19 et anti-rubéole. Les tests sont à réaliser pendant la phase aiguë.</p> <p>- pour les IgM et les IgG, le premier échantillon est à prélever du début de l'éruption et jusqu'à 7 jours maximum après.</p> <p>* IgM : le moment du prélèvement doit être pris en compte dans l'interprétation des résultats. En effet, 20 % des cas de rougeole ne sont pas positifs pour les IgM quand le sang est prélevé dans les 3 jours suivant le début de l'éruption. Un deuxième échantillon est donc indiqué, effectué entre 10 et 20^{ème} jour après le premier, si la sérologie IgM est négative ou équivoque pour la rougeole et pour les autres maladies éruptives testées et en cas de forte suspicion clinique de rougeole.</p> <p>* IgG : un second prélèvement de convalescence doit être effectué pour mettre en évidence une séroconversion des IgG, c'est-à-dire une élévation d'un facteur 4 du titre entre le sérum de la phase aiguë et celui de convalescence, quand les résultats sont rapportés en unités internationales (UI). Sinon un virologue doit être consulté pour mettre en évidence une séroconversion quand les résultats ne sont pas établis en UI. Ce second sérum est prélevé entre 10 et 20 jours après le premier.</p> <p>Interprétation des résultats :</p> <p>- en cas de réactivité des IgM : l'interprétation est « infection aiguë possible », le taux de faux positifs est de 0,4 %. Les IgM peuvent être retrouvés après une immunisation contre la rougeole. chez certains individus, les IgM peuvent être retrouvés plusieurs années après une vaccination ou après l'infection.</p> <p>- en cas de non réactivité des IgM ou un résultat équivoque : l'interprétation est « absence d'infection aiguë de rougeole ». il existe 20 % des cas de rougeole où les IgM ne sont pas réactives sur des prélèvements réalisés dans les trois premiers jours de l'éruption.</p> <p>- taux d'IgG anti rougeole protecteurs (c.à.d. > 200 mIU/mL) : le résultat sera considéré comme « réactif », c'est-à-dire immunisation contre la rougeole.</p>	

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>- augmentation significative des IgG entre le sérum de la phase aiguë et celui de convalescence : l'interprétation est « infection aiguë de rougeole ».</p> <p>- RT-PCR ou culture positive sur (écouvillonnage naso-pharyngé ou échantillon d'urine) : « infection aiguë de rougeole confirmée ».</p> <p>Remarques : une immunisation contre la rougeole se traduit par une réponse IgM et IgG indiscernables d'une infection aiguë. Il est donc nécessaire d'identifier le virus directement dans ces situations.</p>	
<p>Government of South Australia – SA Health Australie (2014) (31)</p>	<p>Fiche de recommandation pour les médecins généralistes devant un cas suspect de rougeole</p>	<p>En cas de suspicion clinique de rougeole, les examens biologiques suivants sont préconisés, en urgence :</p> <ul style="list-style-type: none"> - recherche directe du virus par PCR, idéalement sur écouvillonnage/aspiration naso-pharyngé(e) datant de jour du début l'éruption et jusqu'à 3 semaines après. - recherche directe du virus par PCR sur des échantillons d'urine datant de jour du début l'éruption et jusqu'à 3 semaines après. - recherche d'IgM et d'IgG : il est à noter qu'un résultat négatif pour les IgM dans les 3 premiers jours de l'éruption n'exclut pas le diagnostic de rougeole sauf si les IgG sont négatives. 	<p>Narrative, pas de bibliographie disponible.</p>
<p>Canada communicable disease report Canada (2013) (32)</p>	<p>Recommandation de santé publique concernant la prévention et le contrôle des épidémies de rougeole au Canada</p>	<p>Afin de diagnostiquer les cas de rougeole, en cas de suspicion les praticiens doivent immédiatement collecter des échantillons pour la sérologie et pour la détection directe du virus dans un but de confirmation biologique.</p> <p>Sérologie : le prélèvement doit être réalisé le plus vite possible, à la recherche des IgM et des IgG</p> <p>IgM :</p> <ul style="list-style-type: none"> - leur présence indique une infection aiguë, quand un rash est présent et s'il existe une notion de contagé (voyage en zone endémique, lien épidémiologique avec un autre cas). Une confirmation par RT-PCR est recommandée. - un résultat positif non associé à une infection aiguë de rougeole (faux positif) est à suspecter devant un cas de rash cutané isolé sans notion de contagé. Le kit de test d'IgM peut être faussement positif en cas de présence de facteur rhumatoïde, d'une autre infection aiguë ou par hasard. Les IgM sont fréquemment élevés chez les personnes ayant reçu le vaccin ROR dans les 6 semaines. Il n'existe pas de test sérologique permettant de distinguer des IgM résultant du vaccin ou du virus sauvage. - un résultat négatif chez une personne ayant réellement une infection de rougeole (faux négatif) peut s'observer si l'échantillon est prélevé dans les 3 premiers jours du début de l'éruption (J+3) et 28 jours après le début de l'éruption (J+28). Aussi chez les personnes 	<p>Forme narrative. Pas de bibliographie disponible.</p> <p>Réalisation par trois groupes de travail du Measles and Rubella Elimination Working Group (MRWEG), de Health Canada et de Public Health Agency of Canada.</p>

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>immunisés ou ayant une immunité préexistante, la réponse immunitaire n'est pas typique de celle observée chez les personnes n'ayant jamais été exposé et dans ces cas-là l'absence d'IgM est possible. Une confirmation par détection du virus (cf. infra) et/ou détection d'IgG dans deux sérums (cf. infra) doit être effectuée afin de confirmer une infection de rougeole.</p> <p>IgG :</p> <ul style="list-style-type: none"> - la présence d'IgG indique d'une exposition au virus, soit par le vaccin ROR ou par l'infection de rougeole. Il n'existe pas de test sérologique permettant de distinguer des IgG résultant du vaccin ou du virus sauvage. - une séroconversion (c'est-à-dire le passage d'un résultat négatif à un résultat positif) ou une augmentation d'un facteur 4 du titre des IgG entre le sérum de la phase aiguë (prélevé du début de l'éruption jusqu'à 7 jours après) et le sérum de convalescence (prélevé entre 10 et 30 jours après le premier sérum) indique une infection aiguë. <p>NB : chez les individus vaccinés (échec vaccinal secondaire), une augmentation du titre des IgG entre les deux sérums peut ne pas être retrouvée. Il peut être observé une forte présence d'IgG dans le sérum « aigu » et l'absence d'élévation d'un facteur 4 du titre des IgG dans le sérum de convalescence.</p> <ul style="list-style-type: none"> - la présence d'IgG objectivé par un test ELISA montre la présence d'une immunité protectrice mais sans obligatoirement qu'il y ait une corrélation avec la présence d'anticorps neutralisants (mesurés par le test de séro-neutralisation par réduction des plages de lyse¹⁵) - le niveau protecteur d'IgG est estimé entre 120 et 200 mIU mais n'est pas connu de façon précise. <p>Détection directe du virus :</p> <p>RT-PCR :</p> <ul style="list-style-type: none"> - c'est le test le plus sensible et le plus pertinent pour établir le diagnostic définitif de rougeole mais sa sensibilité peut varier selon le moment du prélèvement (idéalement jusqu'au 4^{ème} jour après le début de l'éruption mais le virus peut toujours être détecté jusqu'au 7^{ème} jour), après le 7^{ème} jour, la détection du virus est toujours possible mais la sensibilité diminue rapidement au fil des jours. La sensibilité peut également varier selon l'intégrité des échantillons, les conditions de transport et de conservation, et les antécédents vaccinaux. - échantillons : idéalement écouvillonnage/aspiration naso ou oro-pharyngé ou 	

¹⁵ Plaque reduction neutralization test PRNT.

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>échantillon d'urine</p> <p>Isolement en culture :</p> <ul style="list-style-type: none"> - même échantillons que RT-PCR - test spécifique si confirmé par immunofluorescence ou RT-PCR, moins sensible et rapide que RT-PCR et dépend du moment du prélèvement et de l'intégrité de l'échantillon. <p>Génotypage :</p> <ul style="list-style-type: none"> - même échantillons que RT-PCR ; - utile pour distinguer rash post vaccinal d'une infection « sauvage » de rougeole ; - utile pour faire le lien épidémiologique entre les cas, notamment en cas d'épidémie ainsi que pour déterminer si un cas est importé. <p>Interprétation des résultats :</p> <p>Afin d'interpréter correctement les résultats de laboratoire et d'évaluer les performances des tests de diagnostic de la rougeole, les informations épidémiologiques, cliniques doivent être croisées avec celles de laboratoire (antécédents vaccinaux, voyage, moment du prélèvement par rapport au début des symptômes).</p> <ul style="list-style-type: none"> - RT-PCR positive ou IgM positif chez un patient présentant un rash cutané et ayant soit une notion de voyage en zone endémique ou un lien épidémiologique avec un autre cas : diagnostic d'infection de rougeole. - RT-PCR négative : pas suffisante pour écarter un diagnostic de rougeole, notamment si l'échantillon de PCR a été prélevé au-delà du 7ème jour après le début de l'éruption. Il est nécessaire d'évaluer également les conditions de stockage et de transport des échantillons ainsi que une notion de vaccination récente. - Séroconversion ou augmentation d'un facteur 4 du titre des IgG entre le sérum de la phase aiguë et celui de convalescence, chez un patient présentant un rash cutané sans notion de vaccination ROR récente : diagnostic d'infection de rougeole. - IgM positive : <ul style="list-style-type: none"> * chez un patient présentant un rash cutané mais sans notion de contagé, risque de faux positif. Une confirmation par RT-PCR ou des preuves d'une séroconversion est recommandée. * chez un patient ayant reçu le ROR dans les 6 semaines, la réactivité peut être causée par le vaccin (faux positif). la confirmation par RT-PCR est recommandée pour confirmer le diagnostic. Le génotypage est requis pour exclure une infection post vaccinale si le vaccin a été donné dans les 2/3 semaines avant le début du rash ou si le 	

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>patient est immunodéprimé.</p> <p>- IgM négative :</p> <p>* une absence de réactivité peut être due à un prélèvement effectué dans les trois premiers jours du début de l'éruption. Une nouvelle détection peut être effectuée 10 jours après la première, en l'absence d'un test par RT-PCR prélevé au moment optimal.</p> <p>* peut s'observer chez les individus vaccinés. Une détection par RT-PCR est nécessaire dans ces cas-là.</p> <p>- chez les individus vaccinés, pas la même réponse sérologique qu'une infection primaire chez le non vacciné :</p> <p>* IgM peut être non détectable ou réponse faible ;</p> <p>* élévation d'IgG rapide, donc absence de détection d'une élévation d'un facteur 4 des IgG entre le sérum de la phase aiguë et celui de convalescence.</p> <p>* la PCR est recommandée chez ces individus, avec un prélèvement au moment optimal.</p> <p><u>Cas de la panencéphalite sclérosante subaiguë (PESS) :</u></p> <p>- infection causée par une persistance du virus dans le SNC</p> <p>- en présence de signes cliniques typiques, le diagnostic peut être confirmé par la détection d'une augmentation des IgG dans le LCS ou dans le sérum.</p> <p>- la détection du virus par RT-PCR dans le LCS est plus délicate.</p>	
<p>Institut de veille sanitaire (InVS) France (2012) (21)</p>	<p>Fiche pratique concernant la confirmation biologique des cas de rougeole</p>	<p>La recherche d'une confirmation biologique est recommandée devant chaque cas clinique évoquant la rougeole.</p> <p><u>Techniques :</u></p> <p>1/ Sérologie IgM et IgG (en l'absence de vaccination contre la rougeole dans les 2 mois précédant le prélèvement) :</p> <p>- test ELISA pratiqué sur le sérum</p> <p>- technique la plus simple si on dispose d'un laboratoire pouvant rendre un résultat dans les 3 jours.</p> <p>- recherche d'une séroconversion des IgG. Apparaissent en même temps que les IgM.</p> <p>- recherche d'une présence d'IgM, apparaissent du début de l'éruption et peuvent être détectés jusqu'à environ 60 jours plus tard. Peuvent ne pas être détectés si prélèvement dans les 3 premiers jours de l'éruption. Nécessité d'un second prélèvement 8 jours plus tard.</p> <p>2/ Kit salivaire pour la détection des IgM/IgG et du virus par RT-PCR – réalisé par le CNR. Approche recommandée dans le cadre du plan d'élimination.</p>	<p>Absence de précision sur la méthode d'élaboration.</p>

Société savante/ organisme, (année), pays	Thème, type de document	Recommandation concernant le diagnostic biologique de la rougeole et notamment la place de la RT-PCR	Méthode d'élaboration
		<p>- IgM présent en même temps dans la salive que dans le sang ; pour les IgG décalage de quelques jours.</p> <p>- ARN viral toujours présent pendant la phase d'invasion et éruptive. Génométypage possible (origine géographique)</p> <p>- non invasif</p> <p>3/ Détection du virus par RT-PCR dans le rhinopharynx, l'urine, les lymphocytes sanguins, détectable de quelques jours avant le début de l'éruption jusqu'à 12 jours après. Génométypage possible. Réalisée par le CNR et certains laboratoires spécialisés en virologie.</p> <p>Recommandations :</p> <p>Cas hospitalisés : sérologie plus appropriée ou prélèvement gorge, urine, sang à envoyer au CNR.</p> <p>En ville ou aux urgences : favoriser le kit salivaire. Sérologie si le praticien ne dispose pas de kit ou s'il ne revoit pas le patient.</p>	
Health service Executive Irlande (2010) (33)	Fiche pratique sur les techniques de diagnostic de laboratoire pour la rougeole	<p>Les tests de laboratoires sont basés sur :</p> <p>* détection d'anticorps : test le plus fréquent pour confirmer une infection aiguë. apparition des IgM, séroconversion des IgG</p> <p>- IgM : sérum >200µl (du 4^{ème} jour post-rash jusqu'à 2/3 mois) salive (du 7^{ème} jour post-rash jusqu'à 2 mois)</p> <p>* détection de l'ARN viral : PCR/génométypage – salive/écouvillonnage gorge – du jour de l'éruption jusqu'au 5^{ème} jour (période optimale).</p> <p>* isolation du virus : écouvillonnage gorge, aspiration naso-pharyngée, écouvillonnage conjonctive, du jour de l'éruption jusqu'au 5^{ème} jour (période optimale). Urine (de J0 à J+7, idéalement J1-J3).</p> <p>Cas particulier, en cas de suspicion de PESS : à discuter avec le centre de référence</p>	Absence de précision sur la méthode d'élaboration.

Annexe 4. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponses des parties prenantes

Centre national de référence Virus de la Rougeole, des Oreillons et de la Rubéole (ROR)

A – Intérêt de la détection de l'ARN viral de la rougeole par RT-PCR dans la stratégie diagnostique

Quelles sont les situations où l'utilisation de la RT-PCR pour détecter le virus de la rougeole vous paraît-elle pertinente ? Précisez pourquoi.

Réponse argumentée :

Il est important de noter que le recueil du statut vaccinal doit accompagner la prescription d'un examen de diagnostic, de même que le recueil de la date d'apparition de l'éruption, et la notion de contagé.

A1

- Situation où le diagnostic est demandé chez un patient vu précocement, dans les 3 jours qui suivent l'apparition de l'éruption : le diagnostic sérologique peut être pris en défaut (détection des IgM spécifiques sériques) ;
- Situation où il est difficile de faire un prélèvement sanguin : petit nourrisson ;
- Situation où le patient déclare avoir reçu 1 ou 2 doses de vaccins ;
- Situation où le patient est immunodéprimé : le niveau d'immunodépression est à apprécier (patient greffé sous immunodépresseur, patient sous chimiothérapie anticancéreuse, notamment cancers hématologiques).

La littérature a permis d'identifier les situations où l'utilisation de la RT-PCR est recommandée (voir chapitre 3.1.2). Selon vous, la RT-PCR est-elle pertinente dans ces situations ?

Réponse argumentée :

Pour les cinq propositions de l'encadré résumant ces situations (page 29), voici les commentaires :

A2

- Concernant le génotypage : il est bien entendu que la RT-PCR utilisée pour le diagnostic est une RT-PCR en temps réel car ce type d'amplification-détection offre des avantages multiples par rapport à la RT-PCR en point final. Notamment, elle fournit une notion de quantification (semi-quantification) de la présence de l'ARN viral dans l'échantillon à analyser, *via* la valeur du Ct ou *Cycle Threshold* : si celui-ci est inférieur à une valeur équivalente à 30, le génotypage par séquençage est possible. Le séquençage est réalisé à partir d'une autre amplification, elle, en point final et concernant une séquence partielle du gène N (cette région est celle qui doit être renseignée sur la base MeANS internationale). Le génotypage est une donnée nécessaire pour la surveillance de l'infection, sa réalisation est un objectif du CNR. Il n'a pas d'impact direct sur la prise en charge individuelle du patient.
- Concernant la distinction entre souche vaccinale et souche sauvage, chez un patient ayant reçu une dose vaccinale dans les jours précédant l'apparition de l'éruption, et souvent dans un contexte de contagé avec un patient index : la RT-PCR est la seule analyse permettant cette distinction. Elle peut être faite rapidement, sans l'étape de séquençage, par la réalisation directe d'une RT-PCR ciblant de façon spécifique le génotypage vaccinal A : cette RT-PCR est disponible au CNR depuis 2018.

- Concernant les complications neurologiques tardives (MIBE / PESS) : la RT-PCR dans le LCS est importante, mais la recherche d'une synthèse intra-thécale d'IgG spécifiques doit aussi être réalisée (prélèvements concomitants de sérum et de LCS). À noter que le LCS reste un prélèvement peu performant pour le diagnostic notamment des MIBE (la pratique d'une biopsie de cerveau, dans la zone lésée repérée par imagerie, est le prélèvement de choix. En effet, dans le cas de la MIBE, on ne détecte le virus rougeoleux nulle part ailleurs)
- Sans doute ne faut-il pas oublier la réalisation d'une RT-PCR rougeole dans les prélèvements respiratoires profonds (type aspiration trachéale/bronchique ou liquide broncho-alvéolaire LBA) en cas de suspicion de pneumonie rougeoleuse, avec ou sans SDRA.

Quelles sont les séquences actuellement recherchées pour la détection de l'ARN viral par RT-PCR ?

Réponse argumentée :

A3

Pour la détection du virus, la technique de choix est une RT-PCR en temps réel (pas d'ouverture de tube, diminution des risques de contamination croisée, rapidité, sonde spécifique, semi-quantification), ciblant le gène N. Dans le cas de la RT-PCR en temps réel, le produit amplifié est par nature de petite taille

Pour le séquençage déterminant le génotype : à partir de l'extrait d'acides nucléiques, un segment de 450 nucléotides du gène N est amplifié, détecté par électrophorèse sur gel d'agarose, purifié, puis séquencé par méthode Sanger : les résultats sont ensuite déposés sur la MeANS qui détermine le génotype par méthode BLAST, à partir de ses séquences de référence.

Il est possible, au titre de la recherche, de réaliser d'autres séquences : gène complet H, région intergénique F-M.

Dans les situations évoquées précédemment, précisez quelle est la valeur ajoutée de la RT-PCR en matière de performance diagnostique, de rapidité dans l'obtention du résultat (...) :

- par rapport à l'examen clinique et à l'interrogatoire du patient ;
- par rapport à la recherche des anticorps sériques ?

Réponse argumentée :

A4

- Par rapport à l'examen clinique et à l'interrogatoire du patient : ces deux examens (clinique et interrogatoire) ne permettent pas un diagnostic certain :

- o Dans le cas d'un cas sporadique, ils sont nettement insuffisants. Il n'est parfois pas possible de distinguer l'éruption rougeoleuse de celle d'un exanthème subit (HHV6). La recherche systématique au CNR d'un diagnostic différentiel en cas d'exclusion du diagnostic de rougeole nous montre aussi la difficulté de distinguer un mégalérythème épidémique (Parvovirus B19) d'une suspicion d'érythème rougeoleux. À noter aussi la possibilité d'une rubéole, même si ce virus circule à très bas niveau en France. Il faut également noter que le signe de Köplik n'est pas seulement inconstant, il présente également des faux positifs. Dans les cas sporadiques, la confirmation biologique est nécessaire.

- o Dans le cas d'un foyer épidémique très actif, de signes cliniques évocateurs et de notion solide de contagion, et de recueil fiable d'une absence d'administration vaccinale à un moment, l'examen clinique et l'interrogatoire peuvent suffire.

- Par rapport à la recherche d'anticorps sériques : les valeurs ajoutées sont celles décrites plus haut. Il est important de noter qu'en général en virologie, seule la réa-

lisation combinée d'un diagnostic direct (RT-PCR) et indirect (sérologie) permet de réaliser un diagnostic précis, pointu, couvrant toutes les situations concernant le statut vaccinal et les délais de prélèvements. Ceci est important à considérer car il s'agit d'une infection aiguë, très contagieuse, où le patient est en général vu une seule fois. Revenir vers le patient pour compléter une analyse non concluante n'est parfois pas possible ou difficile et coûteuse.

La recherche des anticorps sériques doit-elle être systématiquement réalisée en complément de la RT-PCR ? Précisez pourquoi. Si oui, précisez la temporalité de ces deux examens (les deux ensemble d'emblée, ou l'un après l'autre en fonction du résultat du 1^{er} examen, en précisant lequel)

Réponse argumentée :

Cette notion est abordée déjà dans la réponse précédente.

La réponse est non : pas systématiquement.

A5

Le résultat de la RT-PCR réalisée sur un échantillon oro-pharyngé correctement prélevé par écouvillonnage avec écouvillon floqué, mis en milieu de transport virologique, et transporté au laboratoire dans de bonnes conditions, dans les 3 jours qui suivent l'apparition d'une éruption faisant suspecter une rougeole est suffisant pour confirmer ou infirmer le diagnostic.

Si la situation n'est pas aussi claire (délai d'apparition de l'éruption difficile à préciser, statut vaccinal imprécis), la combinaison des diagnostics direct et indirect est plus performante que la RT-PCR seule pour confirmer ou infirmer le diagnostic de rougeole. Dans ce cas :

- prélèvement de salive (fluide oral) : si envoi au CNR (kits de sérologie salivaire peu nombreux et tests en plaque peu approprié au test unitaire) ;
- le mieux est de faire un prélèvement oropharyngé et un serum en même temps et de réaliser les analyses en même temps.

Si la RT-PCR a été réalisée, quel est l'intérêt d'un génotypage ? Pour le patient, son entourage, au niveau de la collectivité...

Réponse argumentée :

A6

Pour le patient et son *entourage* : l'intérêt du génotypage se limite au diagnostic d'une rougeole post-vaccinale de génotype A, surtout quand cette recherche est réalisée dans le cadre d'un contage : ce diagnostic apporte l'information qu'il n'existe pas d'échec vaccinal primaire (infection par le virus vivant atténué), et aussi apporte le pronostic car les rougeoles post-vaccinales ont dans la majorité des cas une expression clinique modérée et, jusqu'à preuve du contraire, une absence de transmission.

La détermination du génotype a une utilité épidémiologique, et permet l'étude des chaînes de transmission : elle permet de mieux connaître la diffusion des souches circulantes et d'adapter au mieux la prise en charge.

Le ministère a demandé l'évaluation de cet examen à la HAS pour le cas échéant le diffuser plus largement *via* sa prise en charge financière par l'Assurance maladie lorsqu'il sera réalisé par un laboratoire de ville (inscription sur la NABM). Quels en seront, selon vous, les avantages voire les inconvénients ?

A7

Réponse argumentée :

Avantages : l'avantage attendu est un rendu de résultat le plus précoce possible, idéalement dans les 24 Heures, en vue d'accélérer la prise en charge du patient et des cas con-

tacts et limiter la diffusion du virus.

Il est important de noter que ce test, s'il est inscrit à la nomenclature NABM, ne sera pas réalisé par l'ensemble des laboratoires de ville mais, à mon avis, uniquement par les laboratoires de biologie spécialisée (type CERBA, BIOMNIS) :

- La difficulté avec la rougeole est le caractère inconstant de la circulation du virus entraînant un nombre de demandes très fluctuant en fonction des saisons et des années : difficulté de mettre en place sa réalisation quand le virus circule peu. Or il est important de réaliser la technique même si le nombre de prélèvements à analyser est très petit (1 ou 2).
- Ceci va nécessiter une logistique appropriée rapide, compatible avec celle mise en place avec ces laboratoires.

Inconvénients :

- Dans ces conditions, il est peu probable que les renseignements nécessaires à une bonne interprétation de ou des examens soient disponibles car les pratiques dans les laboratoires privés n'incluent pas ces paramètres (absence de revue de prescription). Ces paramètres sont difficiles à recueillir par nature (expérience CNR).
- L'interprétation d'une analyse ne peut se faire que par le laboratoire qui réalise l'analyse : le CNR ne pourra donc pas pallier à une insuffisance dans l'interprétation des résultats (formation biologiste privé nécessaire +++).
- Il est important de mettre en place une bonne collaboration entre les laboratoires réalisant le diagnostic et le CNR, afin de que ce dernier puisse remplir ses missions de surveillance sanitaire dans le cadre du plan d'élimination de la rougeole mis en place et coordonnée par l'OMS Europe.

B – Conditions de réalisation

Quels sont le(s) prélèvement(s) à privilégier ? Sur quels critères (facilité du prélèvement, présence du virus...)

Réponse argumentée :

Pour la surveillance de la rougeole, en période épidémique basse, le prélèvement de salive (fluide orale) est le meilleur car il permet la réalisation de toutes les analyses nécessaires, et est facile à réaliser. Son envoi est simple et gratuit. L'inconvénient est que seul le CNR peut le prendre en charge du fait de la rareté des trousseaux sérologiques salivaires.

En situation épidémique :

B1

- Sérum : simple à prélever sauf cas particulier (petits nourrissons), délai à respecter par rapport à la date d'apparition de l'éruption. Il est à signaler parfois des difficultés analytiques en cas de lactescence par exemple. Il est peu adapté pour le diagnostic direct par RT-PCR. Lui préférer alors un prélèvement de sang total : la réalisation de la RT-PCR se fait à partir du sang total sur EDTA, sans préparation FICOLL antérieure (pour isoler les PBMC).
- Prélèvement oro-pharyngé par écouvillonnage avec écouvillon floqué et mise en milieu de transport virologique universel. La présence de l'ARN viral peut être détectée sur une période variable (parfois longue de plus de 14 jours) : cette période dépend de facteurs non prévisibles telle que la charge virale, elle-même dépendante de la dose infectante et du niveau de réplication dans l'individu infecté.
- L'écouvillonnage naso-pharyngé : il correspond à l'écouvillonnage des fosses na-

sales profondes. Il n'est pas difficile à réaliser, mais représente un désagrément ressenti en général plus important que le prélèvement oro-pharyngé. Il correspond à ce qui doit être fait par exemple pour la recherche de virus respiratoires (RSV ou grippe).

- Je ne sais pas ce que veut dire « écouvillonnage nasal » : cette appellation est mauvaise car peut laisser entendre qu'il s'agit un écouvillonnage des fosses nasales antérieures, peu approprié.
- L'aspiration naso-pharyngée : elle est délicate à réaliser chez l'adulte. Chez l'enfant, elle peut servir à diminuer quelques heures la congestion nasale quand elle existe. Les performances techniques sur ce type d'échantillon semblent identiques à celles obtenues à un écouvillonnage naso-pharyngé : ceci est peu argumenté car le nombre d'aspirations naso-pharyngées reçues pour recherche rougeoleuse est peu élevé.
- Je ne sais pas ce qu'est un écouvillonnage de la muqueuse buccale : la « bouche » n'est pas un lieu anatomique bien précis. Ce terme est imprécis et inapproprié.
- La salive (fluide oral) recueilli sur mousse (type kit Oracol) est un excellent prélèvement. Cependant, les difficultés d'approvisionnement semblent difficiles à surmonter.
- Les urines : elles sont surtout utilisées quand le délai de prélèvement par rapport à l'apparition de l'éruption dépasse 7 jours.

En conclusion : adapter le meilleur prélèvement à la situation (sérum, salive, écouvillonnage oropharyngé). Oublier les prélèvements dont la nature est imprécise : nez, bouche, etc... Il est très important de connaître la nature exacte et précise du prélèvement.

En fonction des prélèvements, quelle est la fenêtre pendant laquelle doit être effectué l'examen (en précisant la fenêtre de détection et la fenêtre optimale) ? (pour rappel, J0 = 1^{er} jour de l'éruption)

Réponse argumentée :

B2

Les fenêtres indiquées dans le rapport d'évaluation technologiques sont toutes validées. Leur variabilité reflète l'hétérogénéité des situations en biologie clinique : toute donnée peut être mise en défaut, même si la majorité des cas entre dans les mêmes chiffres. Il est important ++ de disposer de toutes les informations concernant le statut vaccinal et la date d'éruption et aussi la date de contagion.

Quels sont les renseignements à fournir pour accompagner le prélèvement ? (statut vaccinal, informations cliniques...)

Réponse argumentée :

En accord avec ce qui est rapporté dans le document :

B3

- Statut vaccinal : absence de vaccins, 1 dose, 2 doses avec dates +++. Ce recueil est difficile et parfois peu fiable.
- Existence d'une immunodépression du patient ou dans son entourage direct.
- Date d'éruption.
- Date d'un éventuel contagion et lieu (déplacement dans les 2 à 3 semaines qui précèdent le début des signes).

B4

Y a-t-il des spécificités dans le recueil du prélèvement et son transport? (pour les différents prélèvements)

Réponse argumentée :

NON : pas de spécificité par rapport aux autres échantillons prélevés en biologie médicale. Il est important de savoir que l'ARN viral rougeoleux est bien protégé de la dégradation par les RNases par sa capsidie hélicoïdale (protéine N), ceci est d'autant plus vrai que le prélèvement est muqueux et riche en protéines. Pour information, le délai moyen d'acheminement au CNR, par la poste, des kits salivaires est de 3 à 7 jours (WE et fériés inclus pour les délais les plus longs).

Quel est le délai de réponse souhaitable, notamment afin de mettre en œuvre les mesures préventives individuelles et collectives ? Distinguez si nécessaire en fonction des situations cliniques (voir questions A1 et A2)

B5

Réponse argumentée :

Pour les infections virales aiguës contagieuses : le délai de réponse idéal est « le plus court possible ». Une réponse dans un délai de 24H à 48 H serait idéal.

Au niveau du laboratoire, dans quel délai peut être rendu le résultat ? Distinguer si nécessaire les jours ouvrés, fériés, le week-end, la journée et la nuit...

B6

Réponse argumentée :

Réponse à apporter par les biologistes du privé, en fonction de leur organisation.

Une quantification est-elle nécessaire ou un résultat qualitatif est-il suffisant ? Précisez pourquoi.

B7

Réponse argumentée :

NON , la quantification n'est pas nécessaire: il n'existe, à ma connaissance, aucune étude établissant une corrélation entre une quantification de l'ARN viral et la sévérité des symptômes ou le pronostic (complications tardives). La quantification de l'ARN viral, dans l'idéal, nécessite une matrice homogène (prélèvement sanguin ?) et un rendu en nombre de copies / unité de matrice. Il est important de rappeler que la PCR en temps réel ne donne qu'une semi-quantification via le Ct obtenu : il peut être néanmoins suffisant dans le cas d'un suivi longitudinal d'un cas hospitalisé (mesure du contrôle de la réplication virale par le patient : situations pratiques peu ou pas documentées).

Le résultat qualitatif est donc suffisant.

C – Pratiques actuelles en France

Quelle est l'approche actuelle pour le diagnostic biologique de la rougeole ? Précisez selon le contexte (médecine de ville, milieu hospitalier, épidémie...)?

C1

Réponse argumentée :

Cette question est bien détaillée dans le document, notamment page 14 où il est dit que la confirmation est la norme.

Au CNR, nous constatons l'envoi fréquent d'une sérologie sérique en laboratoire de ville, et l'envoi d'une recherche de l'ARN viral au CNR.

Dans quelles situations la PCR est-elle actuellement réalisée en France ?

Réponse argumentée :

À notre connaissance, la RT-PCR rougeole est réalisée :

C2

- Au CNR ;
- Au laboratoire Biomnis (avec facturation au patient) ;
- Dans certains CHU (Marseille, Lyon, Bordeaux, Saint-Etienne, etc.) et certains CHG (Metz et Toulon par exemple) : absence de facturation.

La plupart de ces laboratoires nous envoie les prélèvements pour génotypage, ceci de façon retardée et groupée, avec, si possible les renseignements cliniques et le statut vaccinal, et le Ct obtenu.

Sur quels prélèvements ?

Réponse argumentée :

C3

Les prélèvements oro-pharyngés semblent les plus fréquents, même si la nature exacte et précise du prélèvement est parfois difficile à recueillir.

Voir avec les laboratoires exécutants.

D – Questions portant sur la version intermédiaire de l'argumentaire de la HAS

Auriez-vous connaissance de publications pertinentes non prises en compte ?

Réponse :

La question des anticorps neutralisant (tire neutralisant protecteur ou corrélat de protection) n'a pas été évoquée dans le rapport. La question se pose de la pertinence d'en parler ici dans la mesure où la séroneutralisation n'est pas une technique réalisable en routine pour évaluer le risque de réinfection rougeoleuse chez les vaccinés 1 ou 2 doses, notamment les immunodéprimés.

D1

Deux publications informatives :

- La publication princeps à partir de laquelle a été mis en place ce corrélat de protection à 120 mUI/ à partir de huit cas : *Chen RT et al., J Infect. Dis 1990. Measles antibody: reevaluation of protective titers*
- *Eugenia Corrales-Aguilar et al., Highly individual patterns of virus-immune IgG effector responses in humans. Med Microbiol Immunol 2016 : 409-424* : cette publication rend de la difficulté d'appréciation de la protection vis-à-vis du virus de la rougeole à partir du titrage des IgG spécifiques soit par ELISA, soit par séroneutralisation, soit par test immunologique.

D2

Avez-vous des observations sur la version intermédiaire (contexte et analyse de la littérature) de l'argumentaire de la HAS fourni avec ce questionnaire (lisibilité, omissions, erreur ou approximation, points à ajouter, autre...) ?

Veuillez préciser le cas échéant les éléments à clarifier.

Réponse :

Le rapport est clairement exposé. Quelques commentaires :

- Page 8 : dans le chapitre « généralités » :
 - o De façon générale, le maintien de l'infectiosité (« reste actif ») d'un virus sur les surfaces est très variable en fonction de la température, du degré d'hygrométrie, et surtout de son environnement protéique (présence de mucus). La notification de 2 heures précise est sans doute incorrecte.
 - o Le caractère pathognomonique du signe de Köplick n'est pas vérifié en pratique courante.
 - o Erreur : on ne détecte pas le virus rougeoleux dans l'éruption de l'infection : l'éruption est liée à la mise en place de la réaction immunitaire. Ceci explique que l'éruption soit absente chez environ 30 % des rougeoles survenant chez les patients immunodéprimés.
- Page 9 : concernant les personnes immunodéprimées ayant « perdu » leurs anticorps : à ma connaissance, il n'existe pas d'étude permettant d'avoir un algorithme clair pour l'évaluation du risque de rougeole sévère chez les patients immunodéprimés ayant reçu une ou deux doses vaccinales et ayant ou non, au moment de l'infection, des anticorps détectables par technique ELISA. Il s'agit vraiment là d'une question à résoudre : rôles de l'immunité humorale et cellulaire, et, surtout, type d'immunodépression.
- Page 13 : concernant l'élévation de quatre fois le titre des IgG sériques entre la phase aiguë et la phase de convalescence : l'interprétation de ce profil peut être délicate car une infection intercurrente peut être à l'origine d'une réactivation polyclonale non spécifique. À considérer comme argument diagnostique plutôt que véritable confirmation.
- Page 17 : la détection par RT-PCR en temps réel du génotype vaccinal A est disponible au CNR depuis 2018.
- Page 19 : les contraintes à la fois de l'exercice de la biologie médicale et du diagnostic de la rougeole sont en faveur de la réalisation de cet examen dans les grands laboratoires de biologie spécialisés.
- Page 25 : concernant l'écouvillonnage nasal et celui de la muqueuse buccale : il me semble qu'il est important de rappeler une sémantique exigeante et précise, qui indique le lieu anatomique à écouillonner.
- Page 27 :
 - o à ma connaissance, la réalisation d'un FICOLL pour isoler les cellules mononucléées du sang périphériques (PBMC) n'est pas nécessaire pour la détection de l'ARN viral dans le sang périphérique. L'analyse sur sang total prélevé sur EDTA donne des résultats qui semblent satisfaisants (pas d'évaluation à ma connaissance), à l'instar de ce qui est réalisé pour la détection des virémies à autres virus infectant les lymphocytes (Cytomégalovirus. Epstein-Barr virus)
 - o Concernant le diagnostic difficile des encéphalites rougeoleuses MIBE ou PESS : ne pas oublier la recherche d'une synthèse intra-thécale d'IgG spécifique et la biopsie cérébrale quand elle est possible (prélèvement de choix +++).
 - o Concernant le diagnostic de la pneumonie rougeoleuse, ajouter que les prélèvements respiratoires bas (dont le LBA) sont pertinents pour le diagnostic moléculaire de la rougeole
 - o Page 30 : « en cas de test de détection positif » : l'analyse de la séquence ne permet en aucun cas d'éliminer de façon formelle un cas de contamination croisée.

Souhaitez-vous émettre des commentaires complémentaires sur les examens de biologie médicale relatifs à la rougeole ?

Réponse :

D3

Étant donné le caractère explosif des foyers de rougeole et la potentielle gravité de cette infection dans notre population (32 % d'hospitalisations parmi les cas déclarés en 2018 et 2019) qui comporte une part significative d'individus à risque (greffés, patients sous thérapie immunosuppressive incluant les biothérapies pour maladies inflammatoires, obésité avec troubles métaboliques, etc.), le diagnostic biologique de la rougeole doit être précis et rigoureux. Il constitue un véritable enjeu pour le plan d'élimination de cette infection.

Conseil national professionnel d'infectiologie – Fédération française d'infectiologie

De: CAZENAIVE-ROBLOT France
Envoyé: jeudi 13 juin 2019 15:40
À: HAS_SEAP_SECRETARIAT
Cc: TATTEVIN Pierre

Madame

Voici l'avis du Pr Tattevin que j'ai relu et que je valide totalement :

Le document est pratique et bien fait. Deux points méritent discussion ::

- Il n'est pas vraiment précisé le site préférentiel de prélèvement pour une PCR 'rougeole'. J'imagine que c'est salive, mais ce n'est pas dit clairement.
- J'ai compris que tous les prélèvements positifs en PCR devaient être adressés au CNR pour génotypage. Si c'est bien cela qui est à comprendre, cela paraît abusif : devant des cas groupés, la PCR de nos virologues locaux ne suffit-elle pas ? Quel est l'intérêt de génotyper chaque prélèvement PCR+. En contexte épidémique, des génotypages de temps en temps doivent être suffisants pour suivre l'épidémie
- Cordialement
- Pr F. Roblot et Pr Pierre Tattevin

Conseil National Professionnel des maladies infectieuses et tropicales

Annexe 5. Contribution de l'ANSM

- Sensibilité diagnostique: 100 % ;
- Spécificité diagnostique: 100 % ;
- Sérotypes détectés: A, B, C, D, E, G et H du virus de la rougeole.

Etat des lieux des tests PCR rougeole – ANSM 13 juin 2019

Tableau 1 : Destination et informations pratiques

Nom du Dispositif	Fabricant	Indication	Type d'échantillons utilisés	Sensibilité analytique (seuil de détection)	Spécificité analytique (Réactions croisées)	Sensibilité et Spécificité diagnostique	Commentaires (souches détectées)
Real Cycler Sara U / Sara G Real Cycler Sara UX/ Sara GX	Progénie	Détection ARN du virus de la rougeole	Sérum	5 copies/µL	Pas d'interférences avec : Adénovirus Cytomégalo virus Entérovirus Grippe B Herpesvirus 1, 2 et 6 Varicelle Zoster 3 Virus d'Epstein Barr (HHV-4) Virus de la rubéole Virus des oreillons Haemophilus influenza Streptococcus pneumonia Staphylococcus ADN génomique humain	Pas de données dans la notice (en attente réponse du fabricant)	En attente réponse du fabricant

Tableau 2 : Performances

Nom du Dispositif	Fabricant	Systèmes de purification validés	Appareil PCR validés	Commentaires
<u>Real Cycler Sara U / Sara G</u>	Progénie	<p>Sara U/ Sara G validé avec : QIAamp Viral RNA Mini kit (Qiagen)</p> <p>MagCore Automated Nucleic Acid Extractor (RBCBioscience)</p> <p>Sara UX/ Sara GX validé avec : MagCore Automated Nucleic Acid Extractor (RBCBioscience)</p> <p><u>Compatibles avec :</u> Arrow/liaison IXT (Diasorin) BioRobot EZ1 (Qiagen) QIAcube (Qiagen)</p>	<p>Smart Cycler (Cepheid)</p> <p>ABI 7500 (Thermo Fischer Scientific)</p> <p>CFX96 (Bio Rad)</p> <p>Mic qPCR Cycler (Bio Molecular Systems)</p> <p>Rotor Gene Q (Qiagen)</p>	<p>Contrôle de qualité interne fourni (contrôle positif)</p>
<u>Real Cycler Sara UX/ Sara GX</u>		<p>MagCore Automated Nucleic Acid Extractor (RBCBioscience)</p> <p>Maxwell16 Viral Purification kit (Promega Corporation)</p> <p>NucLiSENS easymag (Biomérieux)</p>		

Références

1. Measles infection. BMJ Best Practice. London: BMJ Publishing Group; 2019.
2. World Health Organization, Moss WJ, Feinstone WH, Hopkins J, Scott S. The immunological basis for immunization series. Module 7: Measles. Geneva: WHO; 2009.
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44038/9789241597555_eng.pdf?sequence=1
3. Direction générale de la santé, Sous-direction de la santé des populations et de la prévention des maladies chroniques. Instruction n°DGS/SP/SP1/2018/205 du 28 septembre 2018 relative à la conduite à tenir autour d'un ou plusieurs cas de rougeole. Paris: Ministère des solidarités et de la santé; 2018.
http://circulaire.legifrance.gouv.fr/pdf/2018/10/cir_44038.pdf
4. World Health Organization. Chapter 1. Measles and rubella: an overview In: Manual for the laboratory-based surveillance of measles, rubella, and congenital rubella syndrome. Geneva: WHO; 2018.
https://www.who.int/immunization/newsroom/multimedia/Chapter_1.pdf?ua=1
5. Public Health England. PHE National Measles Guidelines. London: PHE; 2017.
https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/637338/PHE_Measles_guidance_August_2017.pdf
6. World Health Organization. Chapter 8. Laboratory testing in support of measles and rubella surveillance in elimination settings. In: Manual for the laboratory-based surveillance of measles, rubella, and congenital rubella syndrome. Geneva: WHO; 2018.
https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/Chapter_8.pdf?ua=1
7. Organisation mondiale de la santé. Note de synthèse de l'OMS sur les vaccins contre la rougeole. Relevé épidémiologique hebdomadaire 2017;92(17):205-28.
8. World Health Organization. Detection of viral RNA by RT-PCR for the confirmation of measles and rubella infection. Chapter 6. In: Manual for the laboratory-based surveillance of measles, rubella, and congenital rubella syndrome. Geneva: WHO; 2018.
https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/Chapter_6.pdf?ua=1
9. Institut national de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles, Exposition fortuite à un agent infectieux et conduite à tenir en milieu de travail, Groupe d'étude sur le risque d'exposition des soignants aux agents infectieux. Rougeole. Paris: INRS; 2017.
http://www.inrs.fr/publications/bdd/eficatt/fiche.html?reflNRS=EFICATT_Rougeole
10. Ministère des solidarités et de la santé. Calendrier des vaccinations et recommandations vaccinales 2018. Paris: Ministère des solidarités et de la santé; 2018.
https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/calendrier_vaccinations_2018.pdf
11. Organisation mondiale de la santé. Feuille de route pour une surveillance de la rougeole et de la rubéole conforme aux exigences d'élimination. Relevé épidémiologique hebdomadaire 2017;92(9/10):97-116.
12. Organisation mondiale de la santé. Progrès accomplis dans le monde en vue de l'élimination régionale de la rougeole, 2000-2016. Relevé épidémiologique hebdomadaire 2017;92(43):649-60.
13. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, *et al.* A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. Clin Infect Dis 2018;67(6):e1-e94.
14. Direction générale de la santé. Avis du conseil supérieur d'hygiène publique de France, section maladies transmissibles relatif à la surveillance de la rougeole en France (séance du 26 septembre 2003). Paris: Ministère de la santé, de la famille et des personnes handicapées; 2003.
<https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapports3?clef=33>
15. Antona D, Baudon C, Freymuth F, Lamy M, Maine C, Parent du Chatelet I, *et al.* La rougeole en France. Med Sci 2012;28(11):1003-7.
16. Antona D, Dina J, Soing-Altrach S, Aït-Belghiti F, Georges S, Maine C, *et al.* Epidémiologie de la rougeole en France entre 2011 et 2018. Bull Epidemiol Hebdo 2019;(13):218-27.
17. Lacroix L, Delaporte E, Siegrist C-A, Sudre P, Wyler C-A, Gervaix A. Rougeole : diagnostic et prise en charge d'une maladie toujours d'actualité. Paediatrica 2008;19(3):37-40.
18. Décret n°2005-162 du 17 février 2005 modifiant la liste des maladie faisant l'objet d'une transmission obligatoire de données individuelles à l'autorité sanitaire. Journal Officiel 2005;24 février.
19. Haut conseil de la santé publique. Avis relatif à l'évolution de la stratégie de gestion en cas d'épidémie de rougeole importante sur le territoire national. Paris: HCSP; 2018.
<https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clef=651>
20. Ministère des solidarités et de la santé. Rougeole. Aide-mémoire sur les recommandations vaccinales et sur les mesures préventives autour d'un cas. Paris: Ministère des solidarités et de la santé; 2018.
https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/aide-memoire_vaccination_rougeole_2018.pdf
21. Institut de veille sanitaire. Confirmation biologique des cas de rougeole. Saint Maurice: INVS; 2012.
<http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Rougeole/Comment-signaler-et-notifier-cette-maladie>

22. World Health Organization. Chapter 4. Antibody detection methods for laboratory confirmation of measles, rubella, and CRS. In: Manual for the laboratory-based surveillance of measles, rubella, and congenital rubella syndrome. Geneva: WHO; 2018.
https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/Chapter_4.pdf?ua=1
23. Vassias I. Principe de l'amplification en chaîne par polymérase. Encycl Méd Chir Biologie médicale 2012;7(1):1-5.
24. Ameziane N, Bogard M, Lamoril J. Principes de biologie moléculaire en biologie clinique. Paris: Elsevier; 2006.
25. World Health Organization. Chapter 3. Clinical specimens for the laboratory confirmation and molecular epidemiology of measles, rubella, and CRS. In: Manual for the laboratory-based surveillance of measles, rubella, and congenital rubella syndrome. Geneva: WHO; 2018.
https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/Chapter_3.pdf?ua=1
26. Haute Autorité de Santé. Inscription sur la Nomenclature des actes de biologie médicale d'un test de détection du génome viral par amplification génique (RT-PCR) pour le diagnostic biologique précoce de l'infection par le virus de la rougeole. Saint Denis La Plaine: HAS; 2019.
https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2019-04/feuille_de_route_rougeole_vd.pdf
27. Organisation mondiale de la santé. Rougeole. Normes de surveillance des maladies évitables par la vaccination. Genève: OMS; 2018.
https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/WHO_SurveillanceVaccinePreventable_11_Measles_French_R1.pdf?ua=1
28. Gastanaduy PA, Redd SB, Clemmons NS, Lee AD, Hickman CJ, Rota PA, *et al*. Measles. In: Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. Atlanta: CDC; 2018.
<https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt07-measles.pdf>
29. Agence pour une vie de qualité. Rougeole. Fiche informative. Charleroi: AVIQ; 2016.
<https://www.wiv-isp.be/matra/Fiches/Rougeole.pdf>
30. Centre for Disease Control. Communicable Disease Control. Chapter 1 : Management of specific diseases measles. Atlanta: CDC; 2014.
<http://www.bccdc.ca/resource-gallery/Documents/Guidelines%20and%20Forms/Guidelines%20and%20Manuals/Epid/CD%20Manual/Chapter%201%20-%20CDC/MeaslesSeptember2014.pdf>
31. Government of South Australia. Measles: Management guidelines for general practice. Adelaide: Government of South Australia; 2014.
<https://www.uphsl.edu.ph/downloads/measles-flow-chart.pdf>
32. Agence de la santé publique du Canada. Lignes directrices pour la prévention et le contrôle des épidémies de rougeole au Canada ; 2013.
<https://www.canada.ca/content/dam/phac-aspc/migration/phac-aspc/publicat/ccdr-rmtc/13vol39/acs-dcc-3/assets/pdf/meas-roug-fra.pdf>
33. Health Service Executive. Laboratory diagnosis of measles infection. Laboratory tests commonly used in Ireland. Dublin: HPSC; 2010.
<https://www.hpsc.ie/a-z/vaccinepreventable/measles/guidance/File.4172.en.pdf>

Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Evaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Juin 2019
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur www.has-sante.fr
Objectif(s)	Inscription sur la Nomenclature des actes de biologie médicale d'un test d'amplification des acides nucléiques pour le diagnostic biologique de la rougeole
Demandeur	Ministre des Solidarités et de la Santé
Professionnels concernés	Médecins généralistes, Pédiatres, Infectiologue, Biologiste médicaux, Neurologues, Internistes.
Promoteur	Haute Autorité de santé (HAS), service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Frédéric NAHMIAS, chef de projet, SEAP (chef de service : Cédric CARBONNEIL, adjoint au chef de service : Denis Jean DAVID) Secrétariat : Louise TUIL, assistante, SEAP
Participants	Expertise externe à la HAS : Cf. Annexe 4 et Annexe 5.
Recherche documentaire	De janvier 2009 à juin 2019 (stratégie de recherche documentaire décrite en Annexe 1) Réalisée par Virginie HENRY, documentaliste, avec l'aide de Juliette CHAZARENG, 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	Frédéric NAHMIAS, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Collège de la HAS : juin 2019
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr
Documents d'accompagnement	Décision HAS (juin 2019), avis HAS (juin 2019) disponibles sur www.has-sante.fr



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