

## Faculté de Pharmacie

Année 2019

Thèse N°

### Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le 27 mai 2019

Par Jacques FOURGEAUD

Né(e) le 21 septembre 1990 à Le Havre

### **Epidémie de Rougeole 2017-2018 en Nouvelle-Aquitaine : Point de vue du Laboratoire de Virologie**

Thèse dirigée par le Professeur Marie-Edith Lafon

Examineurs :

Madame le Professeur Sylvie Rogez.....Présidente

Madame le Docteur Julia Dina..... Membre du Jury

Madame le Professeur Véronique Dubois.....Membre du Jury

Monsieur le Professeur Charles Cazanave..... Membre du Jury

Monsieur le Docteur Jean Sarlangue..... Membre du Jury





**Faculté de Pharmacie**

Année 2019

Thèse N°

**Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie**

Présentée et soutenue publiquement

le 27 mai 2019

Par Jacques FOURGEAUD

Né(e) le 21 septembre 1990 à Le Havre

**Epidémie de Rougeole 2017-2018 en Nouvelle-Aquitaine :  
Point de vue du Laboratoire de Virologie**

Thèse dirigée par le Professeur Marie-Edith Lafon

Examineurs :

Madame le Professeur Sylvie Rogez.....Présidente

Madame le Docteur Julia Dina..... Membre du Jury

Madame le Professeur Véronique Dubois.....Membre du Jury

Monsieur le Professeur Charles Cazanave..... Membre du Jury

Monsieur le Docteur Jean Sarlangue..... Membre du Jury



## Liste des enseignants

---

Le 1<sup>er</sup> septembre 2017

### **PROFESSEURS :**

<b>BATTU</b> Serge	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>CARDOT</b> Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>DESMOULIERE</b> Alexis	PHYSIOLOGIE
<b>DUROUX</b> Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>FAGNERE</b> Catherine	CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE ORGANIQUE
<b>LIAGRE</b> Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MAMBU</b> Lengo	PHARMACOGNOSIE
<b>ROUSSEAU</b> Annick	BIOSTATISTIQUE
<b>TROUILLAS</b> Patrick	CHIMIE PHYSIQUE - PHYSIQUE
<b>VIANA</b> Marylène	PHARMACOTECHNIE

### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :**

<b>PICARD</b> Nicolas	PHARMACOLOGIE
<b>ROGEZ</b> Sylvie	BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE
<b>SAINT-MARCOUX</b> Franck	TOXICOLOGIE

### **ASSISTANT HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :**

<b>CHAUZEIX</b> Jasmine	HEMATOLOGIE (Renouvelé jusqu'au 1 <sup>er</sup> novembre 2018)
<b>JOST</b> Jérémy	PHARMACIE CLINIQUE (1 <sup>er</sup> novembre 2016 pour 2 ans)

### **MAITRES DE CONFERENCES :**

<b>BASLY</b> Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>BEAUBRUN-GIRY</b> Karine	PHARMACOTECHNIE

<b>BILLET</b> Fabrice	PHYSIOLOGIE
<b>CALLISTE</b> Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>CHEMIN</b> Guillaume	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
<b>CLEDAT</b> Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>COMBY</b> Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>COURTIOUX</b> Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
<b>DELEBASSEE</b> Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>DEMIOT</b> Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
<b>FROISSARD</b> Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
<b>GRIMAUD</b> Gaëlle	CHIMIE ANALYTIQUE ET CONTROLE DU MEDICAMENT
<b>JAMBUT</b> Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>LABROUSSE</b> Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
<b>LEGER</b> David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MARION-THORE</b> Sandrine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>MARRE-FOURNIER</b> Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MERCIER</b> Aurélien	PARASITOLOGIE
<b>MILLOT</b> Marion	PHARMACOGNOSIE
<b>MOREAU</b> Jeanne	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>MUSUAMBA TSHINANU</b> Flora	PHARMACOLOGIE
<b>PASCAUD</b> Patricia	PHARMACIE GALENIQUE – BIOMATERIAUX CERAMIQUES
<b>POUGET</b> Christelle	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>VIGNOLES</b> Philippe	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE



## Remerciements

---

### Aux membres du jury

#### **À Madame le Professeur Marie-Edith Lafon,**

Je te remercie de m'avoir fait confiance pour ce travail et de l'avoir encadré avec beaucoup de patience et de bienveillance. Merci pour ta disponibilité et tes précieux conseils. Je te remercie pour les semestres passés en virologie. Ce fut un plaisir et une chance de travailler avec toi. Pour cela, je tiens à t'exprimer ma reconnaissance, mon admiration et mon profond respect.

#### **À Madame le Professeur Sylvie Rogez,**

Vous étiez mon Professeur de virologie à la Faculté de pharmacie, j'ai été externe dans votre service et je suis maintenant interne dans la même inter-région. Je vous remercie d'avoir accepté de présider ce jury, c'est un honneur pour moi. Je vous remercie également pour vos conseils pendant mon internat qui m'ont permis de le réaliser au mieux. Veuillez recevoir toute ma gratitude et mon profond respect.

#### **À Madame le Docteur Julia Dina**

Julia, je te remercie d'avoir pris le temps de m'expliquer le fonctionnement du CNR et de répondre à mes questions pendant ma visite. Je te remercie pour nos échanges pendant l'épidémie de rougeole et pour l'intérêt que tu portes à mon travail. Je te remercie d'avoir partagé tes connaissances avec moi et pour tes conseils. Je tiens à t'exprimer ma reconnaissance et mon respect.

#### **À Madame le Professeur Véronique Dubois,**

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail et pour le semestre passé dans votre laboratoire. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

#### **À Monsieur le Professeur Charles Cazanave,**

Je vous remercie de me faire l'honneur de participer au jury de ma thèse, pour votre proximité avec le laboratoire et pour l'intérêt que vous portez à ce travail. Veuillez recevoir toute ma gratitude et mon respect.

#### **À Monsieur le Docteur Jean Sarlangue,**

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie du Jury de ma thèse et pour l'intérêt que vous portez à ce sujet. C'était un plaisir d'échanger avec vous pendant cette épidémie et ainsi bénéficier de votre expérience. Recevez ici l'expression de ma reconnaissance et de mon respect.

## **Aux personnes ayant permis la réalisation de ce travail**

### **À l'équipe du laboratoire de virologie de Bordeaux,**

Marie-Edith, Isabelle, Pascale, Camille et Pantxika, je vous remercie pour votre disponibilité et votre gentillesse à toute épreuve devant mes nombreuses questions, vous m'avez beaucoup appris et j'ai été très heureux de travailler avec vous.

Camille, je te remercie d'avoir pris le temps de me former au séquençage, ce qui a permis l'aboutissement de ce travail.

Marie-Jo, Domi, Kit-Kat, Mini-pouce, Maelle, Laureline, Amélie, Flo (et ses Doodle), Jennifer, Bernadette, Gisèle, Jessica, Brigitte, Pascal, je vous remercie pour tous vos conseils (professionnels ou personnels) et pour votre aide. J'ai eu plaisir à travailler avec vous et à vous côtoyer chaque jour ! Je garde un excellent souvenir de mes semestres en votre compagnie.

### **À l'équipe du CNR de la Rougeole de Caen,**

Je remercie le Professeur Astrid Vabret et en particulier le Docteur Julia Dina de m'avoir reçu chaleureusement dans votre laboratoire de Caen.

### **À l'équipe du service d'hygiène hospitalière,**

Je remercie le Professeur Anne-Marie Rogues et en particulier le Docteur Maider Coppry de m'avoir reçu dans votre service.

Maider, je te remercie d'avoir pris le temps de répondre à mes questions et d'avoir relu une partie de mon travail. Reçois ici l'expression de ma reconnaissance et de mon respect.

### **À l'équipe du laboratoire de virologie de l'institut Pasteur de la Guyane,**

Dominique, je te remercie pour l'accueil chaleureux au sein du service de virologie, d'avoir partagé tes connaissances virologiques et sérologiques avec moi, de m'avoir donné l'occasion d'utiliser les outils du service, ce qui a aussi contribué à l'aboutissement de mes travaux. Je tiens à t'exprimer ma reconnaissance et mon profond respect.

Antoine, je te remercie d'avoir partagé avec moi ton expérience en biologie moléculaire, mais aussi en biologie végétale lors des randonnées à la journée, avec ou sans sécateur ! Pour tout cela, je tiens à t'exprimer toute ma reconnaissance.

Dominique, Antoine, Jean-Bernard je vous remercie de m'avoir écouté vous parler de rougeole dans ce monde d'arbovirus, j'ai passé un très bon semestre en votre compagnie.

Behty, Laetitia, David, Norma, je vous remercie pour votre bonne humeur et votre gentillesse, c'était un réel plaisir d'avoir des collègues comme vous.

### **Au Docteur Philippe Tabard,**

Je vous remercie de m'avoir reçu à l'ARS de la Guyane pour échanger sur la surveillance de la rougeole de l'autre côté de l'Atlantique. Veuillez recevoir toute ma gratitude et mon respect.

**Au Docteur Denise Antona,**

Je vous remercie d'avoir répondu à mes questions au sujet de l'épidémie de rougeole qui grâce à vous ne sont pas restées sans réponses. Je tiens à vous exprimer ma reconnaissance et mon respect.

**À mes enseignants**

Aux nombreux enseignants qui m'ont transmis leurs connaissances tout au long de ces études. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de tout mon respect.

**Aux internes du tutorat**

À Thomas L, Louis-Thomas D, Camille C, Batiste S, Baptiste H, Kilian, et tous les internes du tutorat des étudiants en pharmacie de Limoges qui m'ont donné leur temps et les moyens de réussir le concours de l'internat. Soyez assuré de mon respect et de ma reconnaissance pour votre générosité.

**Au Docteur Franck Fages,**

Je vous remercie d'avoir encadré mes premiers stages en pharmacie qui m'ont suffisamment motivé pour persévérer dans cette voie. Recevez ici l'expression de ma reconnaissance et de mon respect.

## **À mes collègues de travail et mes proches**

### **À mes cointernes et amis,**

Marine J, Thibault V, Justine D, Julie B, And-Nan, Père Castor, Laurent W, j'ai eu beaucoup de chance de vous rencontrer et encore plus de vous rencontrer tous en même temps pendant un semestre inoubliable !

Léa B et Andréa, mes cointernes de virologie pendant l'épidémie de rougeole qui ont aussi pratiqué intensément le diagnostic biologique de la rougeole et réalisé un bon nombre de PCR.

Marc je te remercie pour avoir été un cointerne au top mais surtout pour toutes ces parties de babyfoot et ces deuxièmes petits déjeuners.

Thibaut J pour ton caleçon Batman et ces nombreuses parties de babyfoot.

Marine D et Audrey M mes deux premières cointernes que je n'oublierai pas.

Audrey H, je te dois ma formation aux gardes de Bactériologie.

And-Nan, Bro, je te remercie pour ta bonne humeur à toute épreuve et ton esprit d'équipe !

### **Aux internes du BDI,**

« Parfait ! – Non moi c'est Benoit », je pense que je t'ai entendu nous faire cette blague plusieurs fois, et finalement « Parfait » qualifie bien ton passage à Bordeaux ! Je te remercie pour toutes nos parties de babyfoot avec ton style atypique venu d'ailleurs, je suis heureux d'avoir partagé le bureau des internes avec toi !

Thibaut M pour ton style toujours impeccable et nos nombreuses parties de babyfoot !

Simon pour ton ouverture sur le monde et nous avoir raconté tes aventures pendant que tu mangeais ton troisième dessert !

A Marion et Lisa mes collègues de travail des week-ends de l'été 2018 je vous remercie d'avoir écouté quelques-unes de mes meilleurs histoires !

### **À mes amis,**

Guilhem, François, Emilie et K-roll je suis très heureux d'avoir partagé les bancs de la fac avec vous. Je vous remercie pour tous ces bons moments partagés ensemble et je pense qu'il y en aura encore beaucoup d'autres !

Micka, je pense que tout le monde est d'accord, tu es un chic type, merci pour tous ces bons moments !

Jeanne, Mathilde, Claire depuis notre rencontre à Limoges nous nous sommes suivis un temps, j'ai apprécié les moments que nous avons partagés depuis, je suis heureux de vous avoir !

**À ma famille,**

À mes parents, je vous remercie pour l'indéfectible soutien dont vous faites preuve depuis le début de ma vie et de ces longues années d'études.

À mes sœurs, Irène, Diane et Méryl, même si nous sommes maintenant dispersés aux quatre coins du monde le lien qui nous unit n'est pas affaibli.

**À toi Cécile,**

*« Un voyage de mille lieux commence toujours par un premier pas »*

Je te remercie pour ton soutien, ta patience et le réconfort que tu m'apportes malgré la distance qui nous sépare. Nous sommes en train de faire un beau voyage.

## Droits d'auteurs

---

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



# Table des matières

---

Introduction .....	20
I. Le virus de la rougeole .....	21
I.1. Le virus .....	21
I.1.1. Structure .....	21
I.1.2. Epidémiologie et transmission .....	22
I.1.3. Physiopathologie.....	22
I.1.4. Réponses immunitaires vis-à-vis du virus.....	23
I.1.5. Pouvoir pathogène.....	24
I.2. Manifestations cliniques .....	24
I.2.1. Présentation clinique.....	24
I.2.2. Réinfections .....	25
I.2.3. Formes atypiques .....	26
I.3. Complications .....	26
I.3.1. Formes gastro-intestinales.....	27
I.3.2. Formes respiratoires .....	27
I.3.2.1. Otite moyenne .....	27
I.3.2.2. Laryngotracheobronchite.....	27
I.3.2.3. Pneumonie .....	27
I.3.2.4. Pneumonie à cellules géantes .....	27
I.3.3. Complications neurologiques.....	28
I.3.3.1. Encéphalite ou myélite aiguë .....	28
I.3.3.2. Encéphalomyélite aiguë disséminée .....	28
I.3.3.3. Panencéphalite sclérosante subaiguë.....	29
I.3.3.4. Encéphalite à inclusions rougeoleuse .....	29
I.4. Sujets à risque de complications .....	30
I.4.1. Femmes enceintes.....	30
I.4.2. Nourrisson âgé de moins de 12 mois et adultes.....	30
I.4.3. Immunodéprimés .....	30
I.4.4. Déficit en vitamine A .....	31
I.5. Diagnostic biologique .....	32
I.5.1. Diagnostic indirect.....	33
I.5.2. Diagnostic direct .....	33
I.5.2.1. Détection de l'ARN .....	33
I.5.2.2. Génotypage .....	34
I.5.2.3. Kits salivaires .....	34
I.5.3. Diagnostic au CHU de Bordeaux .....	35
I.5.3.1. Diagnostic indirect au CHU de Bordeaux.....	35
I.5.3.2. Diagnostic direct au CHU de Bordeaux.....	35
I.6. Traitement et prévention.....	37
I.6.1. Traitement.....	37
I.6.2. Prévention.....	37
I.6.2.1. Vaccination .....	37
I.6.2.2. Prophylaxie post-exposition .....	39
I.6.2.3. Stratégie de gestion d'épidémie de rougeole .....	40
I.6.2.3.1. Gestion d'épidémie de rougeole .....	40

I.6.2.3.2. Gestion d'un cas de rougeole .....	41
I.6.2.4. Stratégie de gestion d'épidémie de rougeole au CHU de Bordeaux .....	42
I.7. Objectifs de l'étude .....	44
II. L'épidémie de rougeole 2017-2018 en Nouvelle-Aquitaine et au CHU de Bordeaux .....	45
II.1. Caractéristiques des cas de rougeole déclarés en Nouvelle-Aquitaine .....	46
II.2. Caractéristiques des cas de rougeole diagnostiqués au CHU de bordeaux .....	48
II.2.1. Description des cas confirmés biologiquement au laboratoire de virologie .....	48
II.2.1.1. Les recherches de rougeole au laboratoire .....	48
II.2.1.2. Données démographiques des cas de rougeole .....	52
II.2.1.3. Délai entre le prélèvement et l'éruption cutanée .....	53
II.2.1.4. Comparaison de la réponse en IgM selon le génotype B3 ou D8 .....	55
II.2.2. Cas atypiques .....	56
II.2.2.1. Sélection des cas atypiques .....	56
II.2.2.2. Comparaison du taux d'IgM en fonction du profil sérologique .....	58
II.2.2.3. Exemple de cas atypique .....	59
II.2.3. Cas graves .....	59
II.2.3.1. Au CHU de Bordeaux .....	59
II.2.3.2. En France .....	60
II.2.3.3. Cas d'encéphalite à inclusions rougeoleuse .....	60
II.3. Discussion : Caractéristiques épidémiologiques et biologiques des cas de rougeoles confirmés au laboratoire de virologie .....	62
III. Séquençage des protéines de surface F et H des patients ayant une PCR positive et des IgG positives avec un fort taux .....	65
III.1. Introduction .....	65
III.2. Matériel et méthodes .....	65
III.2.1. Sélection des échantillons .....	65
III.2.2. Extraction .....	66
III.2.3. Amplification .....	66
III.2.4. Séquençage .....	67
III.2.5. Analyse des données .....	68
III.3. Résultats .....	69
III.3.1. Séquençage des gènes de l'Hémagglutinine et de la protéine de Fusion .....	69
III.3.1.1. Séquençage du gène H .....	69
III.3.1.2. Séquençage du gène F .....	71
III.3.2. Séquençage de la région non codante MF par le CNR de Caen .....	73
III.4. Discussion : Séquençage des gènes H, F et de la région MF .....	73
Conclusion .....	75
Références bibliographiques .....	76
Annexes .....	80
Serment De Galien .....	83

## Liste des sigles et abréviations

---

ADEM : Acute disseminated measles encephalomyelitis (Encéphalomyélite aigue disséminée)

ARN : Acide ribonucléique

ARS : Agence Régionale de Santé

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMV : Cytomégalovirus

CNR : Centre National de Référence

CPias : Centre d'appui pour la prévention des infections associées aux soins

CPK : Créatinine phosphokinase

Ct : Cycle threshold

DQGR : Direction de la qualité et de la gestion des risques

EBV : Epstein-Barr Virus

ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control

EEG : Électroencéphalogramme

EOH : Équipe opérationnel d'hygiène

HCSP : Haut conseil de la santé publique

HEK : Human embryonic kidney

HHV8 : Human Herpes Virus 8

HSV : Herpès Simplex Virus

IFN : Interféron

IgG : Immunoglobulines de classe G

IgM : Immunoglobulines de classe M

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

IV : Intra-veineux

JCV : John Cunningham Virus

LCR : Liquide céphalo-rachidien

LLC-MK2 : Lilly Laboratories Cell-Monkey Kidney 2

MeaNS : Measles Nucleotide Surveillance

MIBE : Encéphalite à inclusion rougeoleuse (Measles inclusion-body encephalitis)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PRN : Plaque Reduction Neutralization

PCR : Polymerase chain reaction

PESS : Panencéphalite sclérosante subaiguë (sub-acute sclerosing panencephalitis)

RT-PCR : Polymerase chain reaction après transcription inverse

SAU : Service d'accueil des urgences

SLAM : Signalling lymphocyte activation molécule

SNC : Système nerveux central

SSPE : Sub-acute sclerosing panencephalitis (Panencéphalite sclérosante subaiguë)

SST : Service de santé au travail

VERO : Cellule de rein de singe

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VZV : Virus Zona Varicelle

## Table des illustrations

---

Figure 1 : Gènes et protéines du virus de la rougeole [5] .....	21
Figure 2 : Evolution clinique et biologique de la rougeole [15].....	25
Figure 3 : Schéma simplifié des souches vaccinales anti-rougeoleuses [10] .....	38
Figure 4 : Notifications par million d'habitant par pays en Europe entre le 1er juin 2017 et le 31 mai 2018 [50] .....	46
Figure 5 : Nombre de cas de rougeole et incidence, par département en Nouvelle-Aquitaine, 1er novembre 2017 - 27 juin 2018 (n=1096) [53].....	47
Figure 6 : Distribution hebdomadaire des cas de rougeole déclarés par semaine de début des signes, selon le département de résidence [53].....	47
Figure 7 : Incidence des cas de rougeole déclarés par groupe d'âge, Nouvelle-Aquitaine, 1 <sup>er</sup> novembre 2017 – 27 juin 2018 (n=1096) [53]. .....	48
Figure 8 : Distribution mensuelle des demandes de sérologies et PCR rougeole au CHU de Bordeaux entre le 1er septembre 2017 et le 31 mai 2018 .....	49
Figure 9 : Distribution mensuelle des cas de rougeole diagnostiqués au CHU de Bordeaux selon les méthodes de diagnostic (sérologique, moléculaire ou par l'association des deux techniques) entre septembre 2017 et mai 2018.....	50
Figure 10 : Résultat du génotypage des échantillons positifs de rougeole des prélèvements positifs en RT-PCR au laboratoire de virologie et envoyés au CNR de la rougeole (n=144) 51	
Figure 11 : Distribution mensuelle des génotypes de rougeole des prélèvements positifs en RT-PCR au laboratoire de virologie et envoyés au CNR de la rougeole entre le 1 <sup>er</sup> novembre 2017 et le 31 mai 2018 (n=129) .....	52
Figure 12 : Distribution des cas confirmés de rougeole selon le groupe d'âge au CHU de Bordeaux entre le 1er septembre 2017 et le 31 mai 2018 (n=214). .....	53
Figure 13 : Evolution des IgM anti-rougeole des patients avec un diagnostic confirmé de rougeole soit par RT-PCR soit par la détection de ces IgM en fonction du délai avec l'éruption cutanée (n=179). .....	54
Figure 14 : Délais entre le prélèvement de la sérologie ou de la PCR et l'éruption cutanée dans 3 groupes de cas confirmés au CHU de Bordeaux. ....	55
Figure 15 : Comparaison des IgM anti-rougeole dans 2 groupes de patients suite à une infection par le virus B3 (n=17) ou D8 (n=65) lors de l'épidémie 2018 en Aquitaine. ....	56
Figure 16 : Sélection des 17 cas atypiques de rougeole à partir des 214 prélèvements positifs au CHU de Bordeaux. ....	57
Figure 17 : Comparaison de l'index des IgM anti-rougeole dans un groupe de patients immunisés et dans un groupe de patients non immunisés contre le virus.....	59
Figure 18 : Répartition des cas de rougeole déclarés en France [2] et des cas confirmés au CHU de Bordeaux en fonction de l'âge.....	62
Figure 19 : Plan de sélection des virus séquencés parmi les 17 virus d'intérêts issus de patients <i>a priori</i> immunisés .....	66

Figure 20 : Arbre phylogénétique montrant les séquences de 1740 paires de bases du gène H de 16 virus de rougeole ayant circulé pendant l'épidémie 2017-2018 retrouvés chez des patients avec des profils différents.....	70
Figure 21 : Arbre phylogénétique montrant les séquences de 1649 paires de bases du gène F de 15 virus de rougeole ayant circulé pendant l'épidémie 2017-2018 retrouvés chez des patients avec des profils différents.....	72
Figure 22 : Arbre phylogénétique montrant le séquençage par le CNR de la rougeole de Caen de la région non codante MF (1012pb) de 10 virus de rougeole envoyés par le laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux ayant circulé pendant l'épidémie 2017-2018.	73
Figure 23 : Séquences de référence des 24 génotypes de virus rougeoleux selon l'OMS [39] .....	81
Figure 24 : Formulaire de déclaration obligatoire de la Rougeole - Cerfa n°1254*03 [61].....	82

## Table des tableaux

---

Tableau 1 : Séquences de la sonde et des amorces de la de la RT-PCR de détection du virus de la rougeole au laboratoire de virologie .....	36
Tableau 2 : Composition du mélange réactionnel pour un échantillon de la RT-PCR de détection du virus de la rougeole au laboratoire de virologie.....	36
Tableau 3 : Programme d'amplification de l'ARN de la de la RT-PCR de détection du virus de la rougeole au laboratoire de virologie .....	36
Tableau 4 : Sérologies et PCR rougeole entre le 1er septembre 2017 et le 31 mai 2018.....	48
Tableau 5 : Distribution mensuelle des cas de rougeole diagnostiqués au CHU de Bordeaux selon la technique de diagnostic biologique entre septembre 2017 et mai 2018.....	50
Tableau 6 : Cas atypiques de rougeole au CHU de bordeaux entre le 1er novembre 2017 et le 31 mai 2018.....	57
Tableau 7 : Distribution des cas de rougeole hospitalisés au CHU de Bordeaux du 1er novembre 2017 au 1er juin 2018 selon le service.....	60
Tableau 8 : Sérologies de la patiente atteinte de MIBE au CHU de Bordeaux montrant la présence d'anticorps spécifiques de classe IgM dès le mois de février 2018 et une séroconversion en anticorps de classe IgG dans le sérum du 14 mai 2018.....	61
Tableau 9 : PCR qualitative rougeole chez la patiente atteinte de MIBE au CHU de Bordeaux du 14 mai 2018 au 2 juillet 2018 dans les prélèvements de salive, sécrétions respiratoires, urines, sang et LCR .....	61
Tableau 10 : Composition du mélange réactionnel pour l'amplification des gènes H et F du virus de la rougeole.....	67
Tableau 11 : Programme de la réaction pour l'amplification des gènes H et F du virus de la rougeole .....	67
Tableau 12 : Mélange réactionnel pour la réaction de séquence des gènes H et F du virus de la rougeole .....	68
Tableau 13 : Programme de la réaction de séquence des gènes H et F du virus de la rougeole .....	68
Tableau 14 : Différences entre la souche vaccinale Schwarz et les génotypes D8 et B3 de l'épidémie 2017-2018 entre les acides aminés 167-241 du gène H. ....	71

## Introduction

---

La rougeole est une maladie éruptive très contagieuse et potentiellement sévère chez l'enfant et l'adulte.

En France après plusieurs pics épidémiques importants entre les années 2008 et 2012 (15 000 cas déclarés pour la seule année 2011), il a été observé une période 2012-2016 de circulation moindre du virus (<400 cas/an [1]). Une forte recrudescence de la rougeole a été observée à compter de novembre 2017 avec 2466 cas déclarés entre le 6 novembre 2017 et le 10 juin 2018. L'ascension du nombre des cas a été rapide pendant les premières semaines de 2018, pour atteindre un pic à la fin du mois de mars 2018. Depuis ce pic une baisse rapide du nombre de cas a été observée, puis une stabilisation autour de 40 cas hebdomadaires à la fin du mois de mai 2018 [2]. Au total entre 2008 et fin mars 2018, ont été notifiés en France plus de 25 000 cas, ayant entraîné plus de 1500 pneumopathies sévères, 35 complications neurologiques et 21 décès.

La confirmation biologique des cas suspects de rougeole est un élément critique dans la surveillance et le contrôle des activités durant une épidémie, en particulier dans des populations où l'infection est devenue plus rare et le taux de couverture vaccinale plus important. Dans ce contexte de population vaccinée les résultats des sérologies de routine sont parfois difficilement interprétables et le prélèvement pour confirmation de l'infection par le diagnostic moléculaire n'est pas toujours disponible. Ceci rend le diagnostic parfois difficile si la présentation clinique n'est pas classique.

Devant des résultats biologiques surprenants et des cas cliniques particuliers au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Bordeaux, nous avons étudié les caractéristiques épidémiologiques et biologiques des cas de rougeole confirmés au laboratoire de virologie.

# I. Le virus de la rougeole

## I.1. Le virus

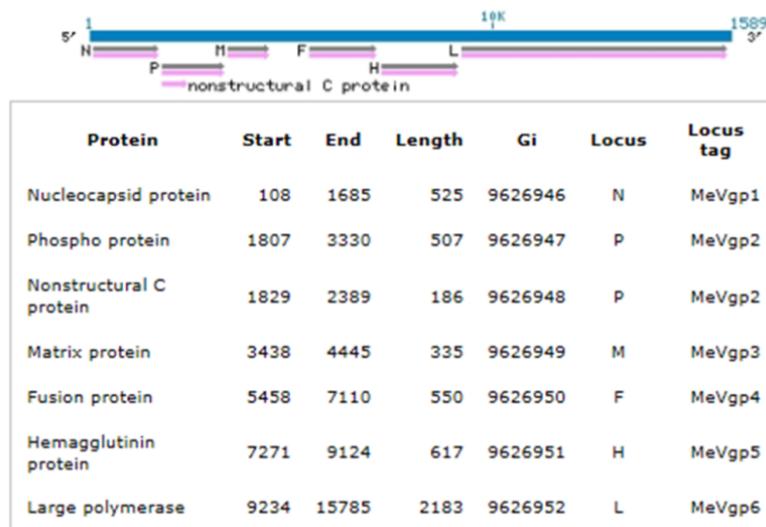
Le virus de la rougeole est un virus très ancien qui a représenté une des principales maladies infectieuses dans le monde jusqu'à l'arrivée des premiers vaccins à la fin des années 1960. C'est au 9e siècle que la rougeole a été décrite pour la première fois par le médecin perse Zacharias Al Razi ou Rhazes en la distinguant de la Variole. En 1757 Francis Home montre le caractère infectieux en inoculant du sang de rougeoleux à un sujet qui a ensuite développé une rougeole. En 1896 Henry Koplik décrit les taches pathognomoniques sur la muqueuse buccale des patients rougeoleux. Le virus est isolé en culture cellulaire en 1954 par John Enders et Thomas Peebles à partir du sang de l'enfant David Edmonston, atteint de la rougeole. En 1963 le premier vaccin contre la rougeole est breveté et c'est en 1974 que les premiers programmes de vaccination ont débuté. En France ce vaccin a été introduit dans le calendrier vaccinal en 1983 [3].

En effet avant l'introduction du vaccin la rougeole était responsable de 2 millions de décès dans le monde chaque année. L'incidence de la rougeole a ensuite fortement diminué avec les campagnes de vaccination de masse et les programmes d'immunisation. Mais en dépit de ce progrès la rougeole reste une cause importante de morbidité et de mortalité, responsable de plus de 100 000 décès chaque année [3][4].

### I.1.1. Structure

Le virus de la rougeole est un virus enveloppé à ARN non-segmenté de polarité négative, appartenant au genre *Morbillivirus*, à la famille des *Paramyxoviridae* et à l'ordre des *Mononegavirales*. Son génome est constitué de 15 894 nucléotides qui codent pour 6 protéines de structure : la nucléoprotéine N, la phosphoprotéine P, la protéine de fusion F, l'hémagglutinine H, la polymérase L, et la protéine de matrice M (Figure 1). Le gène de la phosphoprotéine P code aussi pour 2 protéines non structurales V et C. Il existe 24 génotypes de virus rougeoleux reconnus par l'OMS (Annexe 1).

Figure 1 : Gènes et protéines du virus de la rougeole [5]



### **I.1.2. Épidémiologie et transmission**

La rougeole se manifeste sous forme de maladie saisonnière dans les zones d'endémie. Dans les zones tropicales la plupart des cas de rougeole apparaissent pendant la saison sèche, tandis que dans les zones tempérées, les pics épidémiques interviennent à la fin de l'hiver et au début du printemps. Avant l'introduction du vaccin les épidémies se produisaient tous les 2 ou 3 ans. Ainsi à l'âge de 15 ans plus de 95% des individus avaient été infectés.

La rougeole est évitable et peut être éliminée par la vaccination. Sur la période 2000-2015, l'incidence mondiale annuelle rapportée de cette maladie a régressé de 75%, passant de 146 à 35 cas par million d'habitants. En 2015, le nombre de décès dans le monde dus à la rougeole a été estimé à 134 200, soit une baisse de 79% par rapport à l'année 2000 [6].

L'âge moyen auquel on contracte la rougeole dépend principalement de l'immunisation de la population, de sa densité et du taux de natalité. Ainsi dans une population de faible immunité, de densité élevée et avec un fort taux de natalité, la transmission est accrue dans les tranches d'âges inférieures. Lorsque la couverture vaccinale augmente, l'âge moyen se déplace vers les adolescents et les adultes jeunes. Les groupes plus âgés restent sensibles car ils n'ont pas été vaccinés ou exposés dans une population où le virus circule moins parmi les groupes vaccinés plus jeunes [6].

Le virus de la rougeole est un des virus humain les plus contagieux, avec un taux d'attaque secondaire de l'ordre de 90% chez les personnes contacts sensibles [7] et un taux de reproduction de base de la maladie  $R_0$  estimé entre 15 et 20. La transmission est directe par les gouttelettes nasopharyngées infectées. Bien que le virus soit fragile il peut survivre pendant plusieurs heures dans les gouttelettes respiratoires et la transmission peut être indirecte (manu-portée) [4]. L'homme est le seul réservoir naturel connu.

En 2014 les foyers épidémiques se sont concentrés dans les établissements de soins (12 pays ont reportés des cas nosocomiaux) et les établissements d'enseignements (8 pays ont rapporté des épidémies dans les établissements scolaires) [8].

### **I.1.3. Physiopathologie**

Le virus de la rougeole est un virus lymphotrope et épithéliotrope. Il entre dans l'organisme de l'hôte par les gouttelettes respiratoires et infecte les lymphocytes, cellules dendritiques et macrophages alvéolaires du tractus respiratoire. Les cellules du tractus respiratoire sont donc les premières cibles du virus. MV initie son infection *via* une entrée médiée par le récepteur SLAM (signalling lymphocyte activation molécule) dans les macrophages alvéolaires et les cellules dendritiques dans les poumons. La protéine H se lie au récepteur cellulaire, subit un changement de conformation, comme la protéine F adjacente. Le peptide hydrophobe de fusion de F est extériorisé et s'insère dans la membrane cytoplasmique de la cellule. La fusion entre l'enveloppe virale et la membrane de la cellule permet au virus d'injecter sa nucléoprotéine dans la cellule. Après la réplication initiale dans les ganglions lymphatiques régionaux, le virus de la rougeole pénètre dans la circulation sanguine et se propage ensuite à tous les organes lymphoïdes, tels que la rate, le thymus, l'appendice, les amygdales et les ganglions lymphatiques, dans l'ensemble du corps. Quand l'infection des organes lymphoïdes atteint son apogée, les cellules immunitaires infectées par le virus le transmettent aux cellules épithéliales par le côté basolatéral. À cette étape, le virus utilise le récepteur nectin-4. Dans l'épithélium, le virus de la rougeole libère sélectivement ses

particules virales filles au côté luminal de la membrane apicale des voies respiratoires ce qui permet l'excrétion du virus [3].

Le CD46 et SLAM/CD150 (signaling lymphocytic activation molécule ou CD150) sont les deux récepteurs possibles de la protéine H. Le récepteur CD46 est le récepteur de la souche vaccinale Edmonston tandis que le récepteur SLAM celui des souches sauvages [9]. Le récepteur SLAM est présent sur les lymphocytes, monocytes macrophages et cellules dendritiques. La molécule DC-SIGN exprimée par les cellules dendritiques semble être aussi un récepteur du virus. Le virus se multiplie et diffuse largement grâce aux lymphocytes. Mais il existe sûrement d'autres cellules avec des récepteurs au virus inconnus car le virus infecte de nombreux types cellulaires.

#### **I.1.4. Réponses immunitaires vis-à-vis du virus**

La réponse immunitaire est importante pour la clairance du virus et le développement d'une immunité protectrice.

La réponse de l'immunité innée se produit au moment des premiers symptômes pendant le prodrome avant l'apparition de l'éruption cutanée. Elle est précoce et non spécifique. Elle comprend une activation des cellules NK (Natural Killer) et une augmentation de la production des protéines antivirales (IFN- $\alpha$  et IFN- $\gamma$ ) [10].

La réponse adaptative apparait ensuite et est essentielle pour la mise en place d'une protection à long terme. Elle est plus tardive et spécifique. La production d'anticorps IgM correspond à la réponse humorale initiale au moment de l'éruption cutanée. Ensuite les anticorps IgG sont produits de manière plus abondante. L'efficacité des IgG seule est démontrée par la protection des nouveau-nés par les IgG maternelles et l'administration des IgG post-exposition. La réponse immunitaire cellulaire est également importante pour la clairance du virus et la guérison, en effet les enfants atteints d'agammaglobulinémie guérissent de la rougeole mais les enfants avec un déficit en cellules T développent des rougeoles sévères ou fatales [3]. Pendant la phase aiguë de l'infection on observe une réponse Th1 prédominante essentielle pour la clairance virale et pendant la convalescence une réponse Th2 qui est caractérisée par la production d'anticorps spécifiques ainsi que des taux élevés d'interleukine 4, 10 et 13.

Le virus entraîne un déficit immunitaire, à la fois cellulaire et humoral qui rend l'hôte plus susceptible aux infections secondaires bactériennes ou virales plusieurs semaines après l'infection aiguë. La réponse Th2 pendant la convalescence inhibe probablement la réponse Th1 ce qui augmente la susceptibilité aux pathogènes. Le taux d'IL-10 est augmenté pendant des semaines chez les enfants ce qui participe à l'immunosuppression. Une lymphopénie est observée après l'infection avec une réduction à la fois du nombre de lymphocytes T CD4+ et CD8+, expliqué par la destruction et la redistribution de ces lymphocytes. Des perturbations qualitatives des cellules immunitaires sont également observées comme une diminution de la prolifération des lymphocytes, ou des anomalies de maturation des cellules dendritiques [10].

Le virus de la rougeole est considéré depuis longtemps comme portant un seul sérotype et étant antigéniquement stable. Ainsi la réponse immunitaire contre le virus protège de la maladie, quel que soit le génotype en cause, et offre une protection de longue durée [4]. C'est pourquoi le vaccin anti-rougeoleux de génotype A protège contre l'ensemble des génotypes. Même si les anticorps les plus abondants sont dirigés contre la nucléoprotéine

(N), la protection contre la maladie est liée à la fois à la production d'anticorps anti-F et anti-H contre les glycoprotéines de surface F (protéine de fusion) et H (Hémagglutinine). L'immunisation protectrice serait donc corrélée au taux d'anticorps anti-H et anti-F et il existe un corrélât de protection : > 120 mUI/mL en neutralisation par réduction des plages de lyse [11]. Les anticorps neutralisants inhibent l'attachement aux récepteurs cellulaires et l'activité de fusion du virus [4].

### **I.1.5. Pouvoir pathogène**

L'isolement du virus de la rougeole en culture cellulaire est possible mais difficile et de rendement faible. La culture est réalisable sur des cellules de rein humain embryonnaires (HEK). Les lignées simiennes sont moins sensibles (VERO, LLC-MK2) pour l'isolement du virus sauvage [4]. Les lymphocytes de marmouset transformés par le virus EBV de la lignée B95a sont plus sensibles pour l'isolement du virus que les cellules VERO [12]. Les cellules Vero transfectées avec un plasmide codant pour la molécule SLAM sont également très sensibles pour l'isolement des souches sauvages [9]. L'effet cytopathogène apparaît à partir du 5ème jour. L'aspect des cellules infectées est classiquement celui de cellules géantes multinucléées et de syncytia. Le syncytium est formé de nombreux noyaux à chromatine marginée et dont l'entrée en apoptose entraîne la formation de plages de lyse [13]. Les cellules infectées peuvent aussi prendre l'aspect de cellules en « aiguilles » ou en « étoiles » après plusieurs passages [14]. Toutes les cellules infectées contiennent des inclusions éosinophiles intranucléaires et intracytoplasmiques plus grosses que celles du noyau.

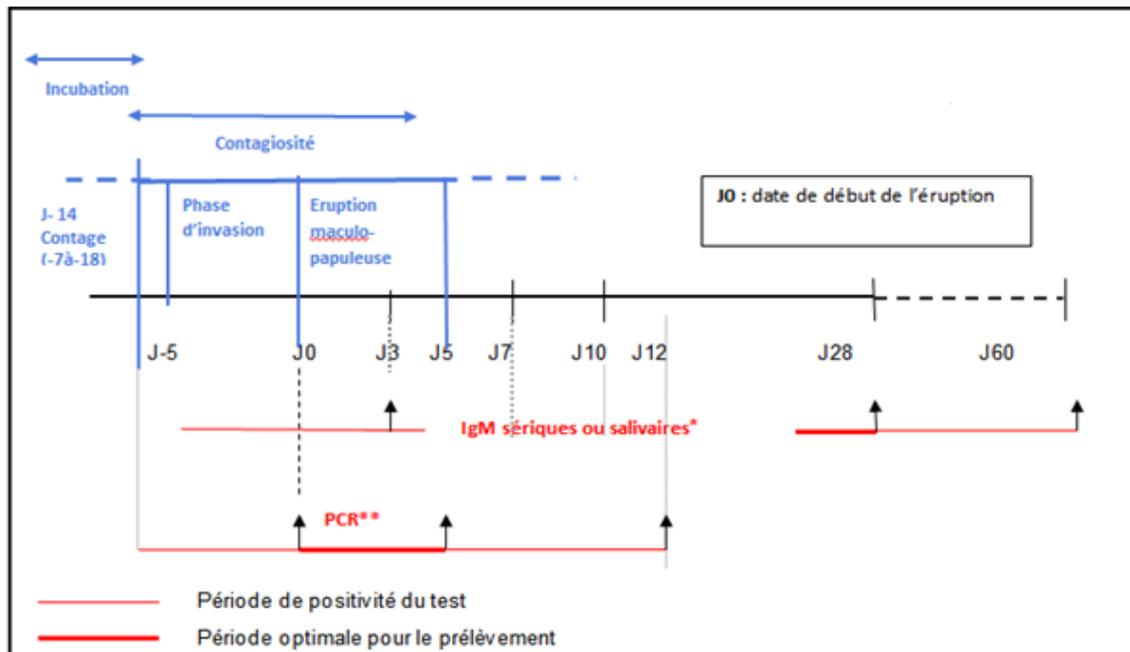
Deux protéines non-structurales V et C suppriment la production d'interféron (IFN) de l'hôte facilitant la réplication du virus : lors de l'infection par le virus de la rougeole des protéines immunomodulatrices sont synthétisées : les interférons de type I (IFN- $\alpha\beta$ ) et de type II (IFN- $\gamma$ ) pour induire une réponse antivirale. Le virus induit une action anti-IFN par l'intermédiaire des deux protéines non-structurales V et C codées par le gène P qui bloquent les voies de signalisation de la synthèse des interférons. Ainsi il est possible que des mutations dans le gène P contribuent à modifier la virulence des souches [4].

## **I.2. Manifestations cliniques**

### **I.2.1. Présentation clinique**

On distingue trois phases de l'infection : l'incubation, le prodrome et la phase éruptive (Figure 2). La période d'incubation de la rougeole dure habituellement de 10 à 14 jours (7-23 jours)[6], depuis l'exposition jusqu'à l'apparition des premiers symptômes. Le prodrome comprend généralement la toux, la fièvre, la rhinite, la conjonctivite et une sensation de malaise. L'éruption morbilliforme apparaît 2 à 4 jours après les symptômes prodromiques. Elle débute typiquement par le visage puis s'étend au tronc et aux extrémités. Cette éruption coïncide avec le développement de la réponse immunitaire. Avant l'apparition de cet exanthème, on peut observer sur la muqueuse buccale des tâches blanchâtres sur une base inflammatoire (signes de Koplik), pathognomoniques de la rougeole, qui disparaissent en 48h. La période de contagiosité s'étend généralement de 5 jours avant à 5 jours après l'apparition de l'éruption cutanée. Les symptômes durent en général 7 à 10 jours chez les sujets immunocompétents. La toux disparaît en dernier.

Figure 2 : Évolution clinique et biologique de la rougeole [15]. La période de contagiosité s'étend entre J-5 et J5 par rapport à l'éruption cutanée. La période optimale pour la recherche de virus par PCR est comprise entre J0 et J5. La période optimale de prélèvement pour la détection d'IgM sériques ou salivaires est comprise entre J3 et J28.



## I.2.2. Réinfections

Les réinfections par le virus de la rougeole sont plus rares : pendant l'épidémie de rougeole 2017-2018 en France 89% des cas de rougeole sont survenus chez des sujets non ou mal vaccinés [16].

Les réinfections semblent moins sévères : en 2009 à Christchurch (Nouvelle Zélande) une étude rétrospective observationnelle a comparé 14 cas de rougeole confirmés ayant reçu au moins une dose de vaccin ROR, avec 14 cas de rougeole confirmés non vaccinés d'âges comparables. Le groupe des enfants vaccinés avaient significativement moins de symptômes ( $p=0.01$ ,  $RR=1.3$ , 95% CI 1.1-1.6) et une rougeole moins sévère en mesurant l'intensité et la durée de la fièvre, le nombre de jours de traitement médicamenteux autre que le paracétamol et le nombre de jours alités. Tandis que les enfants non vaccinés avaient 2,8 fois plus de chances d'avoir des symptômes sévères et 3 fois plus de chances de développer des anticorps de classe IgM [17].

Une personne ayant un antécédent de vaccination (*a priori* immunisée) et qui développe une rougeole est capable de la transmettre : en 2011 à New York City (Etats-Unis) une transmission de rougeole a été mise en évidence depuis un cas index qui a développé une rougeole malgré une vaccination par 2 doses de vaccin. Parmi 88 contacts, 4 cas secondaires ont été identifiés. Parmi ces 4 cas secondaires, 2 avaient été vaccinés par 2 doses de vaccin ROR et 2 avaient des anticorps de classe IgG anti-rougeole au moment de l'infection. Le cas index et les 4 cas secondaires ont tous présenté au moins une éruption cutanée et une fièvre. Aucune complication n'a été rapportée et aucun patient n'a été hospitalisé. Aucun cas tertiaire n'a été mis en évidence. Parmi ces 5 cas, 1 cas n'a pas développé d'anticorps de classe IgM anti-rougeole [18].

Des épidémies ont été observées en milieu hospitalier [19]–[21] ou scolaire [22] où la plupart des cas étaient immunisés : en mars 2018, 96 cas de rougeole ont été confirmés chez des soignants dans un hôpital de Porto (Portugal), 67 étaient vaccinés contre le virus, la plupart entre 18-39 ans, le génotype identifié était le B3 [20]. Lors d'une épidémie de rougeole dans un hôpital des Pays-Bas en 2014, 8 cas ont été confirmés chez les soignants, 6 étaient vaccinés avec deux doses, 1 avec une dose et 1 n'était pas vacciné. Aucun cas de rougeole sévère n'a été rapporté et aucune transmission secondaire à partir d'un cas *a priori* immunisé. Deux sur 4 cas investigués avaient un taux d'anticorps neutralisants >120mUI/ml. Les résultats de PCR suggèrent qu'il existe une relation entre la charge virale et le statut vaccinal du patient : les cas non vaccinés ont des charges virales plus importantes (cycle de PCR seuil, ou Ct plus faibles), le patient vacciné par une dose avait une charge virale intermédiaire et les 6 patients vaccinés par deux doses semblaient avoir des charges plus faibles. Le séquençage des virus des cas index de cet épidémie a montré qu'ils étaient de génotype B3 [21].

### **I.2.3. Formes atypiques**

Il existe des formes de rougeole cliniquement intermédiaires ou modifiées en cas d'existence d'une immunité partielle, par exemple chez les enfants qui portent des anticorps maternels ou des patients qui ont reçu des produits sanguins avec des anticorps anti-rougeole [23]. Les symptômes peuvent être alors minimes. Aussi chez le sujet immunodéprimé l'éruption cutanée n'est pas constante et la présentation clinique modifiée (I.4.3). En cas de réinfection (après vaccination ou infection par un virus sauvage) l'infection peut être moins sévère (I.2.2).

### **I.3. Complications**

Une immunodépression peut persister pendant des semaines ou des mois après l'infection rougeoleuse. Cette immunodépression est associée à un risque de complication secondaire.

Les complications de la rougeole peuvent affecter la plupart des organes et sont plus fréquentes chez les enfants jeunes, les adultes âgés de plus de 20 ans, les femmes enceintes, les immunodéprimés et en cas de sous-alimentation, en particulier les enfants avec une carence en vitamine A.

Le tractus respiratoire est un site fréquent de complication avec des pneumonies due à la rougeole ou à une infection secondaire par un autre agent pathogène (virus ou bactérie). Les autres complications du tractus respiratoire comprennent les laryngotracheobronchites et l'otite moyenne. Les diarrhées sont également une source considérable de morbi-mortalité et sont souvent secondaires à une infection bactérienne ou par un protozoaire. La kératoconjonctivite est une autre complication sérieuse de la rougeole et était une cause fréquente de cécité avant la vaccination et la supplémentation par la vitamine A.

Au cours des précédentes épidémies de rougeole il a été rapporté différentes complications qui comprenaient la pneumonie, l'otite moyenne aiguë, l'hépatite ou la pancréatite et les complications neurologiques.

Dans les pays développés, les décès imputables à la rougeole sont rares et le taux de létalité se situe habituellement entre 0,01 et 0,1%. Ce sont les enfants âgés de moins de 1 an et les adultes de plus de 30 ans qui sont exposés au risque de décès le plus élevé [6].

### **I.3.1. Formes gastro-intestinales**

Le virus de la rougeole infecte probablement les cellules du tractus intestinal.

Aux Etats-Unis 8% de tous les cas de rougeole rapportés entre 1987-2000 ont été compliqués de diarrhée. La proportion était plus élevée chez les moins de 5ans et les plus de 30ans. Parmi les patients hospitalisés avec une rougeole, 30%-70% avaient une diarrhée. Les diarrhées associées à la rougeole ne sont pas associées à des bactéries différentes des autres diarrhées de l'enfant et elles surviennent classiquement juste avant l'éruption cutanée [23].

Chez les adultes jeunes la rougeole est associée à une hépatite, une hypocalcémie et une élévation de la créatinine phosphokinase (CPK) [23].

Plusieurs cas d'appendicite se sont déclarés avant et pendant l'éruption cutanée de la rougeole [23].

### **I.3.2. Formes respiratoires**

#### **I.3.2.1. Otite moyenne**

C'est la complication la plus rapportée aux Etats-Unis, qui survient dans 14% des cas chez les enfants de moins de 5 ans [23]. C'est probablement l'inflammation locale qui cause l'obstruction et la surinfection bactérienne. Le risque d'otite moyenne diminue avec l'âge.

#### **I.3.2.2. Laryngotracheobronchite**

Elle survient chez 9-32% des enfants hospitalisés avec une rougeole aux Etats-Unis. La majorité des enfants affectés ont moins de 2 ans. Dans un tiers à la moitié des cas la culture des prélèvements respiratoires revient positive pour une bactérie pathogène, le plus souvent le *S. aureus* mais aussi *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, et *Enterobacter sp*, avec des preuves de trachéite, de pneumonie ou des deux affections. La laryngotracheobronchite est la seconde cause de décès chez les enfants hospitalisés avec une rougeole après la pneumonie [23].

#### **I.3.2.3. Pneumonie**

C'est la complication le plus souvent sévère de la rougeole, qui est responsable du plus grand nombre de décès. Aux Etats-Unis 9% des rougeoles chez les enfants de moins de 5 ans sont compliquées d'une pneumonie, et dans 49-57% chez les adultes. La pneumonie peut être due au virus de la rougeole lui-même ou à une infection virale secondaire avec l'adénovirus, le HSV, ou à une infection bactérienne secondaire dans 25%-35%. Les bactéries les plus fréquemment retrouvées sont *S. pneumoniae*, *S. aureus* et *H. influenzae* mais on peut aussi retrouver *Pseudomonas sp*, *Klebsiella pneumoniae*, et *E. coli* qui sont moins fréquemment associés avec des pneumonies sévères [23].

#### **I.3.2.4. Pneumonie à cellules géantes**

La pneumonie à cellules géantes est une complication pulmonaire rare et atypique de la rougeole chez le patient immunodéprimé. Du fait de l'immunodépression, l'éruption cutanée peut-être absente et les anticorps contre la rougeole peuvent être absents ou à faible taux. Cette complication aboutit habituellement au décès après une détérioration respiratoire progressive sur une durée variable [24]. La pneumopathie à cellules géantes peut être

associée à une autre complication du sujet immunodéprimé : l'encéphalite à inclusion rougeoleuse (I.3.3.4).

### **I.3.3. Complications neurologiques**

Le virus de la rougeole peut causer 4 atteintes majeures du système nerveux central [25] :

- Encéphalite ou myélite survenant au cours d'une infection systémique aiguë
- Encéphalomyélite aiguë disséminée (ADEM) au cours de la phase de rétablissement
- Panencéphalite sclérosante subaiguë (PESS) après une période de latence de quelques années
- Encéphalite à inclusions rougeoleuse (MIBE) chez le patient immunodéprimé

#### **I.3.3.1. Encéphalite ou myélite aiguë**

L'encéphalite ou myélite survient au cours d'une infection systémique aiguë, c'est une complication rare (1 sur 1000 cas de rougeole [24]). Les symptômes apparaissent 5 jours après l'éruption cutanée (1-14 jours [24]). Elle peut se manifester par des céphalées, vomissements, raideur de la nuque, somnolence, convulsions et coma. La cytologie du LCR montre une formule panachée avec une prédominance lymphocytaire. La protéinorachie est élevée et la glycorachie normale. Environ 25% des enfants gardent des séquelles neurologiques. La maladie peut être rapidement progressive et fatale dans 15% des cas [24]–[26].

#### **I.3.3.2. Encéphalomyélite aiguë disséminée**

L'encéphalomyélite aiguë disséminée ou l'encéphalomyélite post infectieuse est une maladie auto-immune démyélinisante du système nerveux central (SNC). L'ADEM complique également d'autres maladies infectieuses mais elle a une incidence (1 sur 1000 cas de rougeole) et une sévérité particulièrement élevée après la rougeole. L'ADEM serait due à une réponse auto-immune post-infectieuse et non pas à la réplication du virus dans le SNC [27].

Les symptômes apparaissent 2 à 4 semaines après l'éruption cutanée. Les manifestations cliniques de l'ADEM comprennent la fièvre, les céphalées, la raideur de la nuque, les convulsions et les changements de l'état mental tels que la confusion, la somnolence ou le coma. D'autres manifestations peuvent inclure l'ataxie, des myoclonies, la choréo-athétose et des signes de myélite, tels que la paraplégie, la quadriplégie, la perte sensorielle, la perte de contrôle des sphincters, et des douleurs rachidiennes.

Le diagnostic de l'ADEM est basé sur l'histoire clinique, les signes neurologiques, l'analyse du LCR et la neuro-imagerie. L'analyse du liquide céphalorachidien montre généralement une formule lymphocytaire et une concentration élevée en protéines, mais elle peut être normale. Le virus n'est pas retrouvé dans le LCR ni la biopsie cérébrale.

L'ADEM suivant une infection rougeoleuse est fatale dans 10 à 20% des cas [27] (plus fréquent que pour les autres causes) et la majorité des survivants garde des séquelles neurologiques comme des troubles du comportement, un retard mental ou une épilepsie.

L'administration de glucocorticoïdes est la thérapie la plus utilisée. Les immunoglobulines intraveineuses ou la plasmaphérese ont également été utilisées en cas d'échec des corticoïdes [28].

### **I.3.3.3. Panencéphalite sclérosante subaiguë**

La panencéphalite sclérosante subaiguë est une complication rare et mal comprise de la rougeole. C'est une maladie dégénérative du SNC qui survient avec une fréquence globale de 1 sur 10 000 cas de rougeole, à 1 sur 2 500 cas chez les enfants contractant la rougeole avant l'âge de 5 ans [28]. En effet la PESS est plus susceptible de se développer chez les enfants (garçons>filles) dont la primo-infection a eu lieu avant l'âge de 2 ans [28].

Le délai moyen d'apparition de la PESS après la rougeole est de 6-10 ans, mais varie entre 1 et 24 ans [28].

La PESS se présente typiquement en 4 stades [24]:

- Stade I : une détérioration mentale insidieuse accompagnée d'altérations de la personnalité. Le stade I peut durer de quelques semaines à plusieurs années.
- Stade II : ce stade est caractérisé par des myoclonies, crises comitiales et détérioration des fonctions motrices pendant 3 à 12 mois.
- Stade III : une détérioration neurologique progressive marquée par la rigidité, la diminution des myoclonies, des signes de dysfonction autonome, le coma.
- Stade IV : C'est un état végétatif. Le décès survient généralement en stade IV mais est possible à tous les stades.

Les patients ont pour la majorité une détérioration progressive du SNC jusqu'au décès. La mort se produit généralement dans un délai de 1 à 3 ans [29].

Le diagnostic de PESS est fait par l'association :

- du taux élevé d'anticorps spécifiques de la rougeole dans le sérum et le LCR,
- de la détection des ondes lentes périodiques caractéristiques complexes sur l'électroencéphalogramme [29].

En l'absence de caractéristique clinique et électroencéphalographique une biopsie du cerveau peut être nécessaire pour confirmer le diagnostic de PESS, par la détection de l'ARN du virus par RT-PCR.

Les traitements disponibles (isoprinosine, alpha interférons et ribavirine) donnent des résultats décevants [29]. La vaccination contre la rougeole reste donc la stratégie la plus efficace contre la PESS.

### **I.3.3.4. Encéphalite à inclusions rougeoleuse**

C'est une complication rare de la rougeole qui touche le patient immunodéprimé (VIH, lymphomes, traitements immunosuppresseurs). Elle est caractérisée par des inclusions dans les neurones et les cellules gliales [3]. La pathogénèse est mal connue. Souvent l'éruption cutanée est absente ou atypique en raison des mauvaises fonctions des lymphocytes T [25].

Les signes neurologiques apparaissent 1 à 6 mois [24] ( ou 3-6 mois [30]) après le contag. La présentation clinique comprend des crises focales apyrétiques (97% des cas), l'épilepsie partielle (78%), l'hémiplégie (36%), l'ataxie (24%), l'aphasie (21%) et une altération de la fonction mentale (100%). Les convulsions deviennent réfractaires à la thérapie anticonvulsivante dans 36% des cas [25].

L'imagerie peut montrer un œdème cérébral, une atrophie, une dilatation ventriculaire. Le diagnostic nécessite une biopsie du cerveau démontrant : perte neuronale, prolifération d'astro-cytes et microglie, nécrose focale, inflammation périvasculaire, inclusions intranucléaires ou intracytoplasmiques.

L'étude pathologique de la biopsie cérébrale ne pouvant pas toujours être réalisée, plusieurs caractéristiques sont en faveur d'un diagnostic de MIBE :

- Un hôte immunodéprimé,
- Une évolution temporelle dans l'année
- Des signes persistants d'infection par la rougeole (PCR positive sur le tissu cérébral, anticorps IgM et IgG positifs).

L'intérêt de la détection du virus de la rougeole dans le LCR est incertain, par conséquent un résultat négatif ne permet pas d'exclure le diagnostic de MIBE et une biopsie cérébrale doit être effectuée.

Le pronostic de la MIBE est mauvais, le taux de mortalité atteint 76% [25].

La MIBE est parfois associée à une pneumonie à cellules géante [24] l'autre complication du sujet immunodéprimé.

#### **I.4. Sujets à risque de complications**

##### **I.4.1. Femmes enceintes**

Chez la femme enceinte, la rougeole peut être grave, pour la mère ou pour l'issue de la grossesse par une augmentation de la fréquence des complications, notamment par l'existence d'une fréquente pneumonie [4]. La rougeole pendant la grossesse est associée à une augmentation significative du risque de faible poids à la naissance et de prématurité, d'avortement spontané, de mort fœtal *in utero* et de décès maternel [31]. Quand la femme enceinte présente une rougeole au voisinage de l'accouchement le nouveau-né risque de faire une rougeole congénitale (éruption à la naissance) ou post-natale (éruption dans les 10 jours suivant la naissance) [32].

##### **I.4.2. Nourrisson âgé de moins de 12 mois et adultes**

Le taux de complication de la rougeole est plus haut chez les enfants < 5 ans et les adultes. Les enfants sont protégés par les anticorps maternels au moins pendant le premier mois de vie, mais quand cette protection disparaît la rougeole est plus souvent sévère [23]. Une étude a révélé que les enfants de moins de 1 an et les adultes avaient en moyenne une lymphopénie plus longue et plus sévère que celle des enfants de plus de 1 an [33]. De plus les enfants de moins de 6 mois ne développent pas des taux élevés d'anticorps neutralisants après une immunisation par le vaccin. En effet la réponse humorale et cellulaire est altérée chez le nouveau-né en raison de l'immaturation du système immunitaire [10].

##### **I.4.3. Immunodéprimés**

Chez les patients ayant une déficience de l'immunité cellulaire, d'origine thérapeutique ou liée à une maladie, la rougeole induit une maladie grave, prolongée et souvent mortelle. Elle associe habituellement une pneumonie et une encéphalite aiguë progressive ; l'éruption est absente dans 25 à 40 % des cas. La mortalité atteint 70% chez les patients atteints de

cancer et 40% dans les cas de patients au stade SIDA. On peut également voir survenir des encéphalites à inclusions quelques semaines ou quelques mois après la rougeole [4].

Le déficit en lymphocytes T qu'il soit congénital, ou dû à une greffe de moelle osseuse, une chimiothérapie, ou à des immunosuppresseurs, augmente la sévérité de la rougeole. En effet dans une étude chez 40 patients, 16 (40%) n'avaient pas de rash et 24 (60%) avaient une éruption typique ou atypique. La rougeole était compliquée d'une pneumonie chez 58%, 20% avaient une encéphalite et 8% présentaient les deux. Le taux de mortalité pour les 40 patients était de 55%. Pour les patients qui ont développé une pneumonie, ce taux de mortalité était de 65% et pour les patients avec une encéphalite, de 75%, sans qu'il y existe de différence significative avec le taux de mortalité associé à la pneumonie [34]. Par contre les patients avec un déficit en lymphocytes B ou avec une agammaglobulinémie [3] ne semblent pas être plus à risque de complication [23]. Dans la même étude, sur 11 patients infectés par le VIH, 27% n'avaient pas d'éruption cutanée et 73% avaient une éruption typique ou inhabituelle. Neuf (82%) ont eu une pneumonie, et trois (33%) sont décédés [34].

Pendant l'épidémie de rougeole de 2018 en Italie, un patient de 29 ans hospitalisé pour une fièvre élevée, une dysphagie, une hématurie, une toux et une détresse respiratoire, dont l'infection par le VIH n'était pas connue et qui n'était pas vacciné contre la rougeole a été pris en charge. Une infection par le VIH a été confirmée avec une charge virale à 1 500 000 copies/ml et des CD4 à 130 /mm<sup>3</sup>. L'association triméthoprim-sulfaméthoxazole a été administrée dans l'hypothèse d'une pneumocystose. Quatre jours après le début du traitement antirétroviral une éruption maculopapuleuse est apparue sur la poitrine du patient. La sérologie rougeole a été réalisée et est revenue positive en IgM et négative en IgG. Le virus de la rougeole a été détecté dans la salive, les urines et dans le sang. Au 5<sup>e</sup> jour le patient a été transféré en soins intensifs pour défaillance respiratoire sévère ; il est décédé 3 jours plus tard. En effet la rougeole peut être fatale chez le patient VIH positif sévèrement immunodéprimé, en particulier quand l'éruption est absente, atypique ou confondue avec une réaction allergique aux sulfamides, surtout si l'état d'immunodépression du patient n'est pas connu [35].

Le taux de réponse au vaccin et la persistance des anticorps dans le temps sont diminués chez les enfants VIH+ qu'ils soient ou non traités par une thérapie antirétrovirale efficace [10].

Chez les patients immunodéprimés la pneumonie diffuse progressive est la cause la plus fréquente de décès. Ces patients peuvent avoir fait une rougeole typique ou une rougeole sans éruption cutanée et symptômes spécifiques. Classiquement la pneumonie survient 2 semaines après la primo-infection rougeoleuse, mais chez certains patients la pneumonie peut survenir longtemps après l'infection [23].

#### **I.4.4. Déficit en vitamine A**

La carence en vitamine A entraîne un retard à la guérison et augmente la fréquence des complications [23]. La rougeole comme d'autres maladies est associée à une diminution des concentrations sériques en rétinol et peut induire un déficit aiguë en vitamine A [23]. D'après une étude aux Etats-Unis les patients rougeoleux ont fréquemment un déficit en vitamine A, et les patients avec un taux de rétinol en dessous de la moyenne sont plus susceptibles de faire une pneumonie ou d'être hospitalisés [36]. Cette carence est à l'origine d'un grand nombre de cas de cécité évitables chez l'enfant, notamment en Afrique [37]. En effet la vitamine A ou rétinol intervient dans la production, la croissance et la différenciation des

globules rouges, des lymphocytes et des anticorps [38]. Il est possible que la protection des cellules contre l'apoptose induite par le virus de la rougeole soit un mécanisme par lequel la vitamine A diminue la gravité de la maladie [13].

### **I.5. Diagnostic biologique**

Il n'est pas toujours possible d'obtenir une confirmation biologique des cas cliniques de rougeole. Mais celle-ci doit être encouragée quelle que soit la situation épidémiologique dans une région.

D'après l'avis du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) du 23 avril 2018 relatif à l'évolution de la stratégie de gestion en cas d'épidémie de rougeole importante sur le territoire national [15] le diagnostic biologique de rougeole est à prioriser en présence de facteurs de gravité :

- Personne hospitalisée avec suspicion de forme grave de rougeole ;
- Cas suspect de rougeole chez une personne à risque de rougeole grave : nourrisson âgé de moins de 12 mois, personne immunodéprimée, femme enceinte ;
- Cas suspect de rougeole dans l'entourage familial de personnes non immunisées à risque de rougeole grave (nourrisson âgé de moins de 12 mois, femme enceinte, personne immunodéprimée).

La confirmation biologique des cas de rougeole, en l'absence de facteurs de gravité, est également à réaliser dans les situations suivantes :

- 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 (période d'incubation) suivant un voyage à l'étranger pour la confirmation du cas et la caractérisation du génotype.

Les situations dans lesquelles le HCSP ne recommande pas la confirmation biologique des cas sont celles de cas cliniques avec un lien épidémiologique avec un cas confirmé ou celles de cas groupés de rougeole dans une collectivité pour lesquels au moins un cas a été confirmé biologiquement.

En dehors d'un contexte d'épidémie et compte tenu de la raréfaction de la maladie, le diagnostic de la rougeole doit être confirmé biologiquement [7].

Le diagnostic biologique repose sur :

- Le diagnostic indirect par la recherche d'anticorps anti-rougeoleux dans le sérum ou la salive
- Les techniques directes de détection du virus de la rougeole à partir d'échantillons de liquide buccal, respiratoires (aspiration nasale, écouvillonnage rhino-pharyngé), d'urines, et de sang total.

### **I.5.1. Diagnostic indirect**

Le diagnostic est confirmé par :

- La présence d'anticorps spécifiques de type IgM dans le sérum ou la salive
- La séroconversion des anticorps anti-rougeoleux de classe IgG entre deux échantillons sanguins prélevés à au moins 10 jours d'intervalle

La méthode la plus courante pour confirmer un cas de rougeole est la recherche d'anticorps spécifiques de type IgM dans le sérum. Cependant la recherche d'anticorps IgM peut être négative dans les 72h [24] ou 96h après l'éruption cutanée [3]. La presque totalité des sérologies est positive au-delà de 96h après l'éruption cutanée et les IgM demeurent positives pendant les 4 à 8 semaines suivantes [3]. Par conséquent l'absence d'IgM spécifiques au cours des 3 premiers jours après l'éruption ne permet pas d'exclure l'infection, et doit conduire à une nouvelle recherche sur un échantillon de sérum plus tardif ou à la recherche directe du virus.

La séroconversion des anticorps anti-rougeoleux de classe IgG entre deux échantillons sanguins prélevés à au moins 10 jours d'intervalle permet également de confirmer le diagnostic. C'est une méthode peu adaptée à l'urgence et au diagnostic de l'infection aiguë. Il convient de tester en parallèle et par la même technique les 2 sérums [15]. Les IgG spécifiques sont généralement indétectables pendant les 7 jours suivant l'éruption, avec un pic à 14 jours [24].

Les tests d'avidité n'ont pas d'intérêt dans le diagnostic sérologique de la rougeole, mais ils peuvent permettre de vérifier l'hypothèse d'une réinfection par la mesure d'une forte avidité des IgG anti-virus de la rougeole en faveur d'une immunité ancienne.

La mise en évidence d'une synthèse intra-thécale d'anticorps anti-rougeole permet d'étayer le diagnostic de PESS (Panencéphalite sclérosante subaiguë) [7].

Les méthodes immuno-enzymatiques sont les plus répandues. Cependant la séroneutralisation par réduction des plages de lyse capable de détecter les anticorps neutralisants, plus spécifique, représente le test de référence.

### **I.5.2. Diagnostic direct**

#### **I.5.2.1. Détection de l'ARN**

La détection de l'ARN de la rougeole fait appel à des techniques d'amplification de l'ARN viral par une RT-PCR en temps réel (polymerase chain reaction après transcription inverse) après extraction des acides nucléiques à partir de différents types d'échantillons : salive prélevée sur mousse, prélèvements oro ou naso-pharyngés sur milieu de transport pour virus, sécrétions respiratoires sur pot sec, liquide broncho-alvéolaire, sang total sur tube EDTA, urines, LCR ou biopsie cérébrale.

Il existe des techniques « maison » ou des tests commerciaux pour la détection du virus. La détection d'ARN du virus est possible de 5 jours avant l'éruption cutanée à 12 jours après, la période optimale étant de 0 à +5 jours après l'éruption [15].

En effet le virus est présent dans l'oropharynx dès la phase invasive et persiste plusieurs jours après le début de l'éruption. La recherche de l'ARN dans le LCR ou d'une biopsie cérébrale est possible dans le cadre du bilan étiologique d'une encéphalite [7].

La détection de l'ARN permet le génotypage de la souche, donnée importante pour l'étude de la circulation du virus. Le génotypage du virus est d'autant plus facile que la charge virale est élevée (« cycle threshold » Ct<30, i.e. signal de PCR apparaissant avant le 30<sup>ième</sup> cycle de la réaction d'amplification).

### **I.5.2.2. Génotypage**

Le génotypage est réalisé sur les échantillons positifs en RT-PCR par le CNR de Caen de manière systématique et selon les recommandations de l'OMS.

La région de 450 nucléotides codant pour les 150 acides aminés du groupe carboxyle terminal de la nucléoprotéine (N-450) constitue la fenêtre minimale recommandée pour le génotypage des virus rougeoleux. Certaines soumissions contiennent les séquences complètes du gène de l'hémagglutinine et du gène N.

Les séquences des virus rougeoleux détectées dans toutes les Régions OMS sont ensuite archivées dans la base de données Measles Nucleotide Surveillance (*MeaNS*). Cette base de données *MeaNS* (<http://www.who-measles.org/>) a été créée en 2008 à titre de projet conjoint de la *Health Protection Agency* (désormais rebaptisée *Public Health England, PHE*) à Londres (Royaume-Uni) et de l'OMS. Au 16 juillet 2018, la base *MeaNS* contenait 42473 séquences virales, avec des soumissions provenant des 6 Régions de l'OMS.

Il existe 24 génotypes de virus rougeoleux reconnus par l'OMS (Annexe 1) cependant les génotypes C2, D2, D3, G2 et H2 sont désormais considérés comme inactifs car ils n'ont pas été signalés depuis au moins 10 ans, tandis que les génotypes B3, D4, D8, D9, G3 et H1 sont considérés comme actuels [39].

Pour que la base de données *MeaNS* conserve toute son utilité dans la surveillance des virus rougeoleux, l'OMS préconise la soumission dans *MeaNS* de toutes les séquences des virus rougeoleux de type sauvage, et pas seulement les séquences « représentatives ». De plus, l'OMS exige que les soumissions aient lieu dans un délai de 2 mois après réception des échantillons par le laboratoire de séquençage.

### **I.5.2.3. Kits salivaires**

Les kits de prélèvements salivaires sont composés d'un écouvillon en mousse dans un tube en plastique fermé qui se conserve à T° ambiante, une étiquette, une boîte de transport, une fiche de renseignements pour le CNR, une enveloppe préaffranchie à l'adresse du CNR. Ce prélèvement est non invasif, il suffit de récolter la salive en frottant la face interne des joues et des gencives avec la mousse pendant 1 minute environ jusqu'à ce qu'elle soit imbibée de liquide buccal. L'écouvillon est ensuite replacé dans le tube pour être envoyé au CNR.

Sur ce prélèvement de liquide buccal le CNR de la rougeole de Caen effectue le dosage des IgM salivaires et la détection de l'ARN viral par RT-PCR après extraction des acides nucléiques.

Les kits sont mis à disposition par les Agences Régionales de Santé (ARS), ils sont destinés en priorité aux médecins praticiens, et quelques kits peuvent être positionnés au niveau des services d'accueil des urgences (SAU) essentiellement pédiatriques. Les médecins libéraux peuvent demander ces kits à l'occasion d'un signalement par l'intermédiaire de la fiche de signalement, par téléphone ou par fax. Les résultats sont communiqués rapidement au médecin prescripteur (dans les 3 jours) par le CNR ([cnr-rou-para@chu-caen.fr](mailto:cnr-rou-para@chu-caen.fr)).

C'est santé publique France qui assure la gestion d'un stock national afin de répondre à la demande des ARS qui gèrent le stock régional [40].

### **I.5.3. Diagnostic au CHU de Bordeaux**

#### **I.5.3.1. Diagnostic indirect au CHU de Bordeaux**

Le laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux dispose du test LIAISON® Measles IgM et IgG (Biomérieux, Lyon, France) effectué sur l'automate d'immunoanalyse LIAISON® XL.

Ce test *sandwich* utilise la technologie immunoluminométrique (CLIA) pour la détection qualitative et semi-quantitative respectivement des anticorps IgM et IgG dirigés contre le virus de la rougeole dans les échantillons de sérum ou de plasma humain.

Une IgG (souris, monoclonale) dirigée contre les IgM (ou IgG) humaines est utilisée pour revêtir des particules magnétiques (phase solide) et un antigène recombinant du virus de la rougeole est lié à un dérivé de l'isoluminol (conjugué anticorps-isoluminol). Pendant la première incubation, les anticorps IgM (ou IgG) présents dans les étalons, les échantillons ou les contrôles, se lient à la phase solide. Pendant la seconde incubation, le conjugué d'antigène du virus de la rougeole réagit avec les IgM (ou IgG) déjà liées à la phase solide. Après chaque incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage. Ensuite, les réactifs *starter* sont ajoutés : une réaction de chimiluminescence s'ensuit alors. Le signal lumineux, et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU, relative light units) et est indicatif de la concentration d'IgM (ou IgG) anti-virus de la rougeole présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles [41] [42].

L'automate d'immunoanalyse calcule automatiquement les concentrations d'IgM (ou IgG) anti-virus de la rougeole exprimées en unités arbitraires (UA/mL). La valeur seuil de 15 UA/mL du dosage immunologique LIAISON® Measles IgG équivaut à 175 mUI/mL. Ce test répond en unités arbitraire malgré l'existence d'un standard international car c'est un test qualitatif. Il existe d'autres tests de détection des anticorps anti-virus de la rougeole, comme par exemple les Kits Microimmune® IgG MeVG et IgM MeVM, utilisés au CNR de la rougeole pour la détection des IgM et IgG dirigées contre le virus de la Rougeole. C'est une technique d'Immuno-capture enzymatique (EIA) et le résultat est également qualitatif.

#### **I.5.3.2. Diagnostic direct au CHU de Bordeaux**

Pour la détection de l'ARN de la rougeole le laboratoire utilise une technique d'amplification de l'ARN viral par RT-PCR en temps réel après extraction des acides nucléiques totaux sur l'automate MagnaPure Compact Roche à partir de 400 µl de prélèvement pour obtenir 50 µl d'extrait.

Le mélange réactionnel (Tableau 2) est constitué des enzymes de la trousse et du tampon « Invitrogen SuperScript III Platinum One-Step Quantitative RT-PCR System », de la sonde et des amorces (Tableau 1).

Tableau 1 : Séquences de la sonde et des amorces de la de la RT-PCR de détection du virus de la rougeole au laboratoire de virologie.

Amorces/sonde	Séquences (5'-3')	Position	Gène	Longueur du fragment
MV forward	CCCTGAGGGATTCAACATGATTCT	nt 584–607	N	114 bp
MV probe	<b>FAM</b> -TCTTGCTCGCAAAGGCGGTTACGG- <b>BHQ1</b>	nt 634–657		
MV reverse	ATCCACCTTCTTAGCTCCGAATC	nt 697–675		

Tableau 2 : Composition du mélange réactionnel pour un échantillon de la RT-PCR de détection du virus de la rougeole au laboratoire de virologie

Réactifs	Volume en µl pour 1 mix
Tampon Rn mix X2	12,5
Amorce sens 10 µM	0,8
Amorce anti-sens 10 µM	0,8
Sonde 10 µM	0,3
Enzyme SSIII	1
Volume total	15,4

Le mélange final est composé de 15 µL de mix et 10 µL d'extrait ou de témoin positif ou négatif. La distribution du mix, des extraits, des témoins se fait dans des capillaires « Lightcycler capillaris ».

L'amplification est réalisée sur le thermocycleur LightCycler® 2.0 Roche (Tableau 3). La lecture de la courbe d'amplification est obtenue après avoir filtré la longueur d'onde 530nm.

Tableau 3 : Programme d'amplification de l'ARN du virus par la RT-PCR de détection du virus de la rougeole au laboratoire de virologie

Etapas	Température (°C)	Durée
Reverse Transcription	50	30 min
Denaturation	95	2 min
Amplification (50 cycles)	95	15s
	55	15s
	72	15s

L'extraction est validée par l'amplification de la Ribonucléoprotéine (RNP) cellulaire (témoin d'extraction). La série est validée lorsque la RNP est positive dans tous les extraits des prélèvements de patient. Le témoin positif est obtenu à partir de l'extraction du vaccin vivant atténué Priorix® contre la rougeole, les oreillons et la rubéole qui contient la souche Schwarz (souche vaccinale de génotype A).

Les échantillons positifs en RT-PCR sont envoyés au CNR de Caen pour génotypage de manière systématique.

## **I.6. Traitement et prévention**

### **I.6.1. Traitement**

Il n'y a pas de traitement spécifique de la rougeole.

La supplémentation en vitamine A réduit le risque de morbidité et de mortalité en particulier dans les pays en voie de développement chez des enfants dénutris [38][37]. Même dans les pays où la rougeole est habituellement peu sévère, la prescription de la vitamine A peut être envisagée pour tous les cas de rougeole sévère [6]. Une dose de vitamine A par voie orale devra être prise immédiatement après le diagnostic, suivie d'une nouvelle dose le jour suivant; 50 000 UI aux nourrissons de moins de 6 mois, 100 000 UI aux nourrissons de 6 à 11 mois et 200 000 UI aux enfants de 12 ans et plus. Si un enfant présente des signes ophtalmiques de carence en vitamine A comme des taches de Bitot, une troisième dose devra être administrée 4 à 6 semaines plus tard.

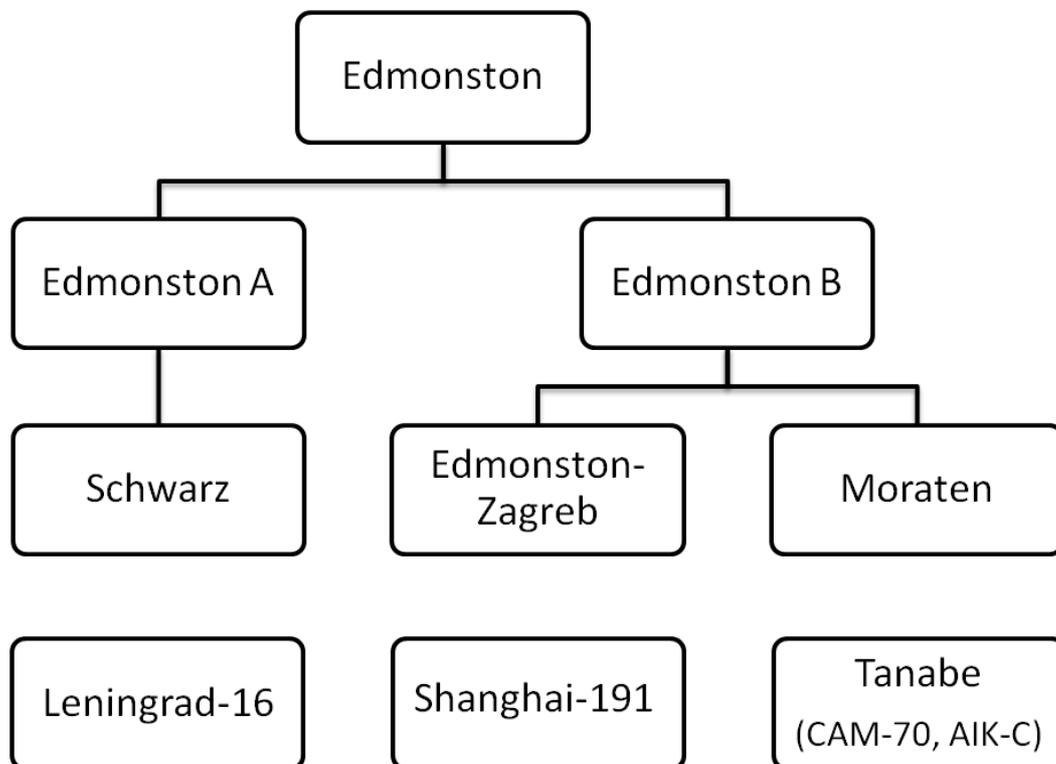
### **I.6.2. Prévention**

L'interruption de la circulation endémique de la rougeole est un des objectifs de l'OMS pour la région Européenne. En France, un plan national d'élimination a été mis en place en 2005 fixant notamment un objectif de couverture vaccinale de 95 % à l'âge de 2 ans et une incidence annuelle inférieure à 0,1 cas / 100 000 habitants [43].

#### **I.6.2.1. Vaccination**

La rougeole est évitable et peut être éliminée par la vaccination. Le vaccin anti-rougeoleux est un vaccin vivant atténué. Il a été obtenu par plusieurs passages de culture cellulaire du virus sauvage. La première souche vaccinale appelée Edmonston B, a été utilisée entre 1963 et 1975, mais était fréquemment associée à des effets indésirables. Les souches Schwartz et Moraten dérivent de la souche Edmonston mais sont « plus atténuées » par davantage de passages en culture cellulaire sur fibroblastes embryonnaires de poulet. Ces souches ont des séquences identiques, le vaccin Moraten est utilisé aux Etats-Unis, tandis que le vaccin Schwarz est utilisé dans plusieurs pays à travers le monde. Le vaccin Edmonston-Zagreb qui dérive également de la souche Edmonston, est plus largement utilisé dans les pays développés. D'autres vaccins atténués ont été produits à partir des souches sauvages locales, comme en Russie (Leningrad-16), en Chine (Shanghai-191) et au Japon (CAM-70, AIK-C) [10].

Figure 3 : Schéma simplifié des souches vaccinales anti-rougeoleuses [10]. Les souches Moraten et Schwarz dérivent de la souches Edmonston, tandis que d'autres vaccins atténués ont été produits à partir des souches sauvages locales, comme en Russie (Leningrad-16), en Chine (Shanghai-191) et au Japon (CAM-70, AIK-C).



En France deux vaccins vivants atténués trivalents sont disponibles sous forme d'association avec les vaccins contre la rubéole et les oreillons : le vaccin Priorix® (GlaxoSmithKline) qui contient la souche Schwarz, et le vaccin M-M-RVaxpro® (MSD Vaccins) avec la souche Edmonston-Enders. En 1983 le vaccin est inscrit au calendrier vaccinal avec 1 dose, en 1996 une seconde dose de « rattrapage » est inscrite d'abord à 11-13 ans, puis à 3-6 ans. Cette vaccination est obligatoire chez l'enfant en France depuis le 1er janvier 2018. Elle comprend 2 doses de vaccin trivalent contre la rougeole, les oreillons et la rubéole. La première dose est administrée à 12 mois et la seconde dose entre 16 et 18 mois (depuis 2017). La seconde dose ne constitue pas un rappel car l'immunité acquise après une dose est de longue durée, mais un rattrapage pour les enfants qui n'auraient pas séroconverti pour un ou plusieurs des antigènes, lors de la première vaccination. Les personnes nées depuis 1980 devraient avoir reçu au total deux doses de vaccin trivalent, en respectant un intervalle d'un mois entre les deux doses, quels que soient les antécédents vis-à-vis des trois maladies. Cette vaccination est contre indiquée pendant la grossesse, chez les patients immunodéprimés et chez l'enfant de moins de 12 mois. La grossesse doit être évitée pendant le mois suivant la vaccination [44] mais une vaccination pendant la grossesse ne doit pas faire interrompre cette dernière.

Après deux doses de vaccin, plus de 90% des sujets développent des anticorps. Une étude a suivi pendant 12 ans le taux d'anticorps de 313 participants ayant reçu une seconde dose de vaccin entre 4-6 ans. Trois cent deux (96%) avaient des anticorps contre la rougeole un mois après la vaccination et 291 (96%) ont gardé ces anticorps pendant toute la période

d'étude (12 ans). Le taux d'anticorps avait tendance à diminuer chez 169 (56%) participants, il était variable chez 50 (17%) personnes, il était stable pour 38 (13%), et 45 (15%) n'avaient pas pu être classés [45].

Le taux d'anticorps après la vaccination est généralement plus faible qu'après une infection avec le virus sauvage, et ce taux d'anticorps diminue progressivement avec le temps [45]. Cependant une étude a montré que sur 56 participants dont 77% étaient vaccinés avec 2 doses, tous avaient des anticorps 26 à 33 ans après la première ou seconde dose et 92% avec un titre considéré comme protecteur ( $>1 :120$  [11]) en séroneutralisation par réduction des plages de lyse (PRN) [46].

Une troisième dose de vaccin n'a pas montré d'intérêt dans la pratique courante, la plupart des sujets sont déjà séropositifs avant la 3<sup>e</sup> dose et très peu ont une réponse immune après la 3<sup>e</sup> dose [47].

L'impossibilité de détecter des IgG spécifiques de la rougeole ne doit pas être interprétée comme un manque d'immunité chez les personnes déjà vaccinées, car l'immunité cellulaire et la fonctionnalité des anticorps jouent un rôle important dans la protection. C'est le dosage des anticorps neutralisants qui est le plus étroitement corrélé avec l'immunité contre la rougeole, même si ces tests qui mesurent les anticorps neutralisants ne sont pas largement disponibles.

### **I.6.2.2. Prophylaxie post-exposition**

Pour prévenir une infection chez les individus non-immunisés ou insuffisamment immunisés, le vaccin anti-rougeoleux peut être administré dans les 72 heures suivant une exposition au virus rougeoleux. Si la maladie se développe quand même, les symptômes sont atténués et la durée est plus courte. En cas de contre-indication au vaccin vivant atténué, il est possible d'administrer des immunoglobulines humaines après une exposition au virus, en particulier s'il s'agit d'une femme enceinte, d'un nourrisson de moins de 6 mois ou d'un immunodéprimé. Cette méthode d'immunisation passive peut prévenir la maladie ou limiter sa gravité [6].

La vaccination post-exposition dans les 72h suivant l'exposition s'adresse aux personnes âgées de 6 mois et plus, non vaccinées ou insuffisamment vaccinées ou de statut vaccinal inconnu [15] :

- Les nourrissons de 6 à 11 mois révolus doivent recevoir 1 dose de vaccin ROR. Ils sont par la suite vaccinés par 2 doses selon les recommandations du calendrier vaccinal.
- Les personnes vaccinées avec 2 doses mais dont la première dose a été administrée avant l'âge de 1 an doivent recevoir une troisième dose.
- Les nourrissons de 12 mois et plus ayant reçu leur première dose de vaccin doivent recevoir leur deuxième dose si la première a été administrée depuis au moins un mois, sans attendre l'âge de 16-18 mois.
- Les personnes âgées de 12 mois et plus, nées après 1980 et non vaccinées par 2 doses, doivent recevoir une dose de vaccin ROR. Si elles n'ont reçu aucune dose de vaccin auparavant ou si leur statut vaccinal est inconnu, elles doivent recevoir une seconde dose 1 mois plus tard.

- Les personnes nées avant 1980 sans antécédent connu de rougeole et qui n'ont pas été vaccinées, doivent recevoir une dose de vaccin ROR, en particulier si elles sont nées dans les années 1970.

L'administration d'immunoglobulines polyvalentes par voie intraveineuse est recommandée [32] dans les 6 jours après exposition à un cas de rougeole confirmée chez :

- la femme enceinte non vaccinée et sans antécédent personnel de rougeole,
- le sujet immunodéprimé (à l'exception de ceux présentant une carence en immunoglobulines faisant l'objet d'un traitement substitutif régulier), quel que soit son statut vaccinal et ses antécédents avérés de rougeole,
- les enfants âgés de moins de 6 mois dont la mère présente une rougeole,
- les enfants âgés de moins de 6 mois en l'absence de protection par les immunoglobulines maternelles (absence d'antécédent maternel de rougeole, absence de vaccination maternelle). Dans le doute une sérologie maternelle IgG peut être demandée en urgence,
- les enfants âgés de 6 à 11 mois non vaccinés en post-exposition dans les 72 heures après contact, quel que soit le statut vaccinal de la mère ou ses antécédents de rougeole.

### **I.6.2.3. Stratégie de gestion d'épidémie de rougeole**

Une épidémie au niveau d'une région est définie par la présence de chaînes de transmission actives avec une tendance à l'augmentation hebdomadaire du nombre de cas. En fonction de l'extension géographique, deux niveaux peuvent être distingués [15]:

- Niveau 1 : une faible partie des départements est en situation épidémique ;
- Niveau 2 : la grande majorité ou la totalité des départements est en situation épidémique

#### **I.6.2.3.1. Gestion d'épidémie de rougeole**

Le HCSP recommande au travers de « l'avis relatif à l'évolution de la stratégie de gestion en cas d'épidémie de rougeole importante sur le territoire national » du 23 avril 2018 [15]:

- De maintenir le signalement et le remplissage de la fiche de déclaration obligatoire des cas afin de suivre l'évolution de l'épidémie et d'assurer la gestion autour d'un cas.
- La confirmation biologique de la rougeole en particulier en cas de forme grave, chez les sujets à risque de rougeole grave, chez un cas suspect dans l'entourage familial de personnes non immunisé à risque de forme grave, chez les sujets vaccinés, chez une personne résidant dans les trois départements français d'Amérique, enfin cas suspect de rougeole survenant dans les deux semaines suivant un voyage à l'étranger (pour la confirmation du cas et la caractérisation du génotype). La situation dans laquelle le HCSP ne recommande pas la confirmation biologique est celle des cas cliniques ayant un lien épidémiologique avec un cas confirmé biologiquement.
- Une investigation des cas de rougeole par les ARS : au niveau régional, en situation épidémique.

- Des mesures visant à limiter le risque de rougeole associée aux soins dans les établissements de santé et médico-sociaux : ils sont enjoins à prendre toutes les mesures pour vérifier et mettre à jour dans les meilleurs délais le statut vaccinal des professionnels de santé vis-à-vis de la rougeole selon les recommandations en vigueur.
- La réalisation de campagnes de vaccination contre la rougeole au plus près de collectivités considérées à risque comme les milieux scolaires, les milieux universitaires ou au bénéfice des populations les plus fragiles et les plus vulnérables.

Le HCSP ne recommande pas de réaliser de contrôle sérologique pré-vaccinal systématique chez les personnes de 12 mois et plus n'ayant pas d'antécédent de rougeole ou dont le statut vaccinal est non documenté avant la mise à jour de la vaccination rougeole ; car les techniques immunoenzymatiques utilisées en pratique pour la recherche des anticorps anti-rougeole de classe IgG ne permettent pas d'évaluer le caractère protecteur des anticorps.

### **I.6.2.3.2. Gestion d'un cas de rougeole**

La gestion d'un cas de rougeole est définie par la circulaire DGOS de 2009 actualisée en mai 2018 et définit le rôle de chacun des protagonistes [40].

Les missions du service d'hygiène hospitalière sont les suivantes :

- S'assurer de la mise en place des précautions complémentaires Air dès la suspicion d'un cas de rougeole avec information du service concerné
- Informer le service santé au travail pour investigation si le cas est professionnel
- En cas de confirmation du cas de rougeole :
  - Identification pour information des patients contacts (un courrier adressé au patient et à son médecin traitant si rentré au domicile ou par le service de soins si encore hospitalisé.
  - Pour les patients encore hospitalisés : vérification de son immunité et proposition d'un rattrapage vaccinal ou l'administration d'immunoglobulines polyvalentes de préférence dans les 72h suivant la contagion ;
  - Pendant la phase de contagiosité estimée (entre J7 et J18 après le contact avec un cas [15]), mise en place des précautions Air ;

Les mesures à prendre vis-à-vis du personnel soignant en lien avec l'équipe opérationnelle d'hygiène (EOH) et le service de santé au travail (SST) sont les suivantes :

- Informer le laboratoire de virologie avant l'envoi des prélèvements à visée diagnostique
- Identifier le personnel contact d'un cas par l'interrogatoire
- Administrer une dose de vaccin trivalent à tous les personnels de santé exposés pour lesquels il n'existe pas de preuve d'immunité (2 doses de vaccin ou infection ancienne). La vaccination reste recommandée si le délai de 72h est dépassé.
- Vérifier le statut vaccinal de l'ensemble des membres du personnel soignant (dossier du SST),

- Informer les soignants contacts de la possibilité de survenue ultérieure d'une rougeole et de la nécessité de ne pas se rendre sur le lieu de travail et de consulter en cas d'apparition de symptômes évocateur de rougeole.

Les mesures suivantes doivent pouvoir être prises rapidement en lien avec le laboratoire de biologie hospitalier :

- Pratiquer des sérologies en urgence pour confirmer le diagnostic chez les cas suspects ;
- Adresser rapidement en virologie les recherches par PCR ; ou faire utiliser les kits salivaires à visée diagnostique disponibles dans les SAU (s'assurer de la disponibilité des kits) ;
- Acheminer au CNR les kits salivaires ou les prélèvements positifs par PCR en vue d'un géotypage ;
- Informer rapidement le prescripteur de la confirmation biologique

Les missions de l'ARS autour d'un cas de rougeole sont les suivantes :

- Rechercher les contacts extra-familiaux du cas de rougeole en lien avec les médecins impliqués ;
- S'assurer auprès des médecins en charge du malade que les mesures pour l'entourage ont été prises ;
- Recueillir l'information quant à la confirmation biologique et s'assurer que la fiche de déclaration obligatoire a été complétée ;
- Rechercher activement les cas lorsque l'ARS a identifié une situation de cas groupés ;
- Proposer et faire parvenir aux médecins libéraux et dans les services d'accueils des urgences des kits salivaires ;
- Analyser les données pour identifier et décrire les populations à risque et les chaînes de transmissions ;
- Réaliser un rapport d'investigation et retourner l'information aux professionnels de santé de la zone géographique dans les meilleurs délais ;
- En milieu hospitalier, s'assurer de l'effectivité de l'arrêt de travail du professionnel de santé durant la période de contagiosité ;

#### **I.6.2.4. Stratégie de gestion d'épidémie de rougeole au CHU de Bordeaux**

Le CHU de Bordeaux a été fortement exposé à l'épidémie de rougeole. Dès le 2 décembre 2017 un cas de rougeole (admis la veille) a été diagnostiqué tardivement dans le service des urgences adultes malgré la présence de signes cliniques caractéristiques. Ceci a entraîné un retard à la mise en place des précautions complémentaires air et à partir du 19 décembre, l'identification de 602 patients contacts dont 41 encore hospitalisés et la mise en évidence d'une transmission nosocomiale chez neuf professionnels (dont 4 vaccinés) et 2 patients.

Dès l'identification du premier cas secondaire des mesures de maîtrise de la diffusion de la rougeole avaient été mises en place aux urgences adultes :

- Concernant les patients : campagne d'information (affiches, notes d'information) sur l'épidémie de rougeole en cours dans la communauté informant de la nécessité de porter un masque devant tout symptôme respiratoire et du risque de rencontre de cas rougeoleux dans les urgences.
- Concernant les professionnels des urgences : information par SMS de l'épidémie en cours, réunions d'informations concernant la rougeole (diagnostic et prise en charge), vérification du statut vaccinal, proposition d'un rattrapage vaccinal et port du masque chirurgical jusqu'à 18 jours après l'identification du dernier cas secondaire.

L'épidémie des urgences s'est arrêtée le 11 janvier 2018.

Forte de cette première expérience, la Direction de la Qualité et de la Gestion des Risques (DQGR) a décidé de former un groupe de travail pluridisciplinaire avec les services d'hygiène hospitalière, des maladies infectieuses et de pédiatrie, de santé au travail et le laboratoire de virologie, afin de dégager des mesures à l'échelle de l'institution :

- Information générale (début janvier) par la circulation de messages (mail et intranet) et de notes d'information afin de rappeler au personnel médical les éléments permettant de suspecter une rougeole et les modalités de prise en charge d'un cas suspect ou confirmé.
- Définition de services à risque pour :
  - o Vérification du statut vaccinal des professionnels de santé par le SST ;
  - o Proposition d'un rattrapage vaccinal des professionnels n'ayant pas eu le schéma complet de vaccination ou ne pouvant apporter une preuve de vaccination ;
  - o Mise en place des mesures barrières comme une limitation des visites et le port du masque chirurgical obligatoire.

Les services définis comme étant à risque étaient les services d'obstétrique, de réanimation (néonatale, enfant et adulte), hébergeant des patients immunodéprimés ainsi que les urgences.

Les signalements réceptionnés par le service d'hygiène hospitalière et le service santé au travail ont permis l'identification de plusieurs foyers épidémiques à l'hôpital :

- Les externes de pharmacie (6 cas) avec une réorientation des étudiants non vaccinés contre la rougeole vers d'autres terrains de stages moins à risque, et une information lors des choix de stages.
- Deux foyers en pédiatrie avec 2 patients admis pour asthme et 3 cas secondaires.
- Un foyer chez les étudiants en soins infirmiers avec un contact à l'école et une transmission à un autre professionnel de santé lors d'un stage.

Pendant l'épidémie des « réunions de gestion d'épidémie » ont été organisées régulièrement entre l'hygiène hospitalière, Santé Publique France, l'Agence Régionale de Santé, la DQGR, parfois des médecins et le centre d'appui pour la prévention des infections associées aux soins (CPIAS).

Les mesures spécifiques contre la rougeole ont été arrêtées au mois de mai 2018 à la fin de l'épidémie.

Au total, 53 alertes ont été recensées, dont 27 cas professionnels et 26 patients. Parmi les cas professionnels 14 cas nosocomiaux ont été identifiés. Tous signalements confondus, 19 cas nosocomiaux ont été dénombrés (12 professionnels et 7 patients). Et l'EOH a identifié 1430 patients en contact avec un cas de rougeole dont 324 hospitalisés au moment de l'alerte [48].

### **I.7. Objectifs de l'étude**

L'étude qui suit sur l'épidémie de rougeole 2017-2018 a deux objectifs :

- Décrire l'épidémie de rougeole en Nouvelle-Aquitaine et à Bordeaux en particulier du point de vue biologique.
- Caractériser les souches de virus rougeoleux identifiés chez des patients séropositifs en IgG dès l'apparition des symptômes.

Ces deux parties seront discutées indépendamment.

## II. L'épidémie de rougeole 2017-2018 en Nouvelle-Aquitaine et au CHU de Bordeaux

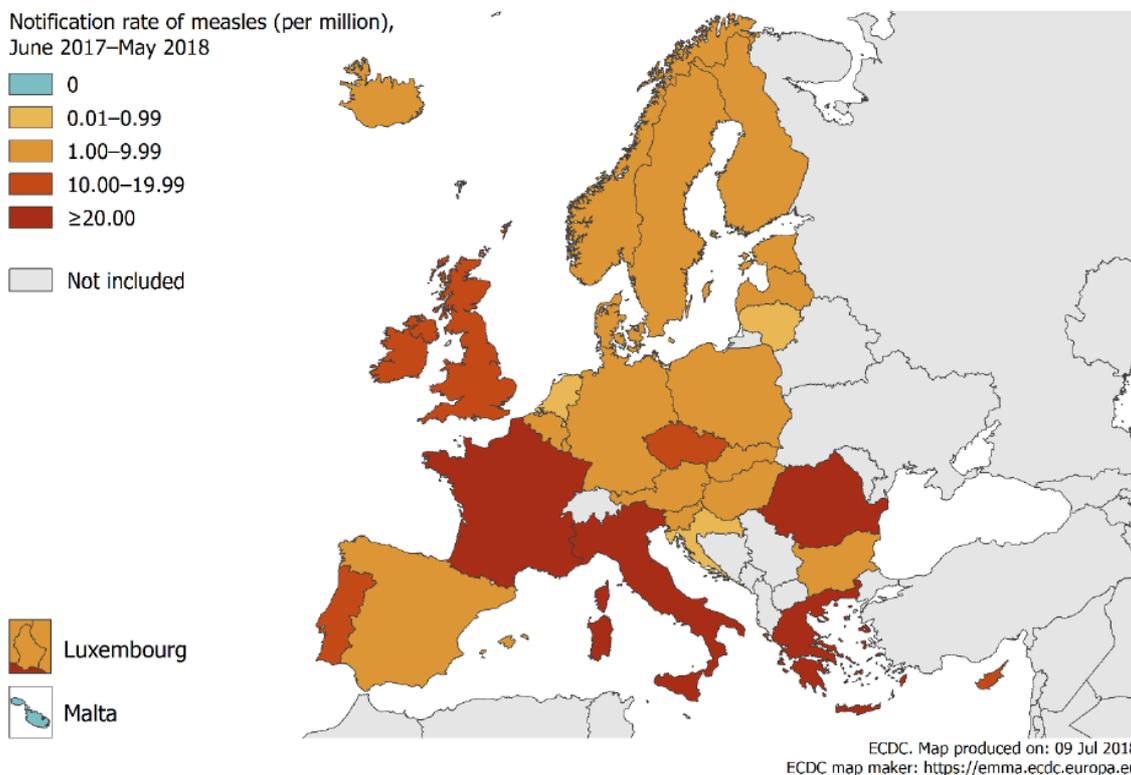
---

L'élimination de la rougeole est définie comme l'absence de transmission endémique de la rougeole dans une zone géographique donnée (par exemple, une région ou un pays) pendant une période  $\geq 12$  mois, en présence d'un système de surveillance efficace.

Une recrudescence de la rougeole est observée en France à partir de novembre 2017 avec 2646 cas déclarés entre le 6 novembre 2017 et le 08 juillet 2018. Quatre-vingt-cinq départements ont déclaré au moins 1 cas. Depuis la semaine 13 (26 mars 2018) le nombre de cas a diminué en Nouvelle-Aquitaine, sans aucun foyer actif. L'incidence était plus élevée chez les moins de 1 an avec 28,2 cas/100 000 habitants. Vingt-deux pourcent des cas déclarés ont été hospitalisés. Quatre-vingt-neuf pourcents des cas de rougeole sont survenus chez des sujets non ou mal vaccinés. En 2018 deux sujets immunodéprimés âgés de 17 et 26 ans sont décédés et probablement contaminés par un proche non vacciné. Au total 3 décès ont eu lieu depuis le début de l'année 2018 [49].

Cette situation épidémique est retrouvée dans plusieurs autres pays européens, principalement en Roumanie, Italie et en Grèce (Figure 4). Comme le montre le rapport de l'ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) avec 12 921 cas notifiés entre le 1<sup>er</sup> juin 2017 et le 31 mai 2018 dans 29 états membres. Depuis fin 2017, la Grèce et l'Italie, comme la France, ont vu un accroissement rapide du nombre des cas avec respectivement 431 et 210 cas notifiés au cours du seul mois de janvier 2018 [50].

Figure 4 : Notifications par million d'habitant par pays en Europe entre le 1er juin 2017 et le 31 mai 2018 [50]. Trois pays européens ont vu un accroissement rapide du nombre de cas de rougeole la Grèce, l'Italie et la France.



Actuellement, aucun département français n'atteint le taux requis de 95% de couverture vaccinale (CV) à 2 ans pour les 2 doses de vaccin permettant d'interrompre la circulation du virus [51]. Seuls 7 départements ont une couverture comprise entre 85% et 90% pour la CV 2 doses, tous les autres ayant une CV inférieure à 85% (données 2016). La France n'est donc toujours pas à l'abri d'une nouvelle épidémie importante.

## II.1. Caractéristiques des cas de rougeole déclarés en Nouvelle-Aquitaine

En Nouvelle-Aquitaine 1096 cas ont été déclarés entre les mois de novembre 2017 et juin 2018. Les génotypes D8 et B3 ont été détectés. C'est dans le département de la Gironde que le plus grand nombre de cas a été déclaré (n=616, Figure 5), suivi du département de la Vienne (n=202). Parmi ces cas, 247 patients ont été hospitalisés dont 2 sont décédés. La grande majorité (83,7%) des patients ayant eu la rougeole étaient insuffisamment ou non vaccinés, contre 88% à l'échelle nationale [52]. Le pic épidémique a été atteint à la semaine 13 (Figure 6) comme au niveau national. L'incidence des nouveaux cas de rougeole a été plus forte chez les sujets de moins de 1 an (Figure 7).

Figure 5 : Nombre de cas de rougeole et incidence, par département en Nouvelle-Aquitaine, 1er novembre 2017 - 27 juin 2018 (n=1096) [53]. C'est dans le département de la Gironde que le plus grand nombre de cas a été déclaré (n=616).

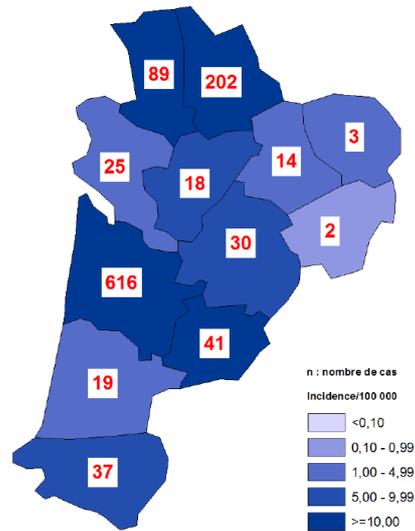


Figure 6 : Distribution hebdomadaire des cas de rougeole déclarés par semaine de début des signes, selon le département de résidence [53]. Le pic épidémique a été atteint à la semaine 13 comme au niveau national.

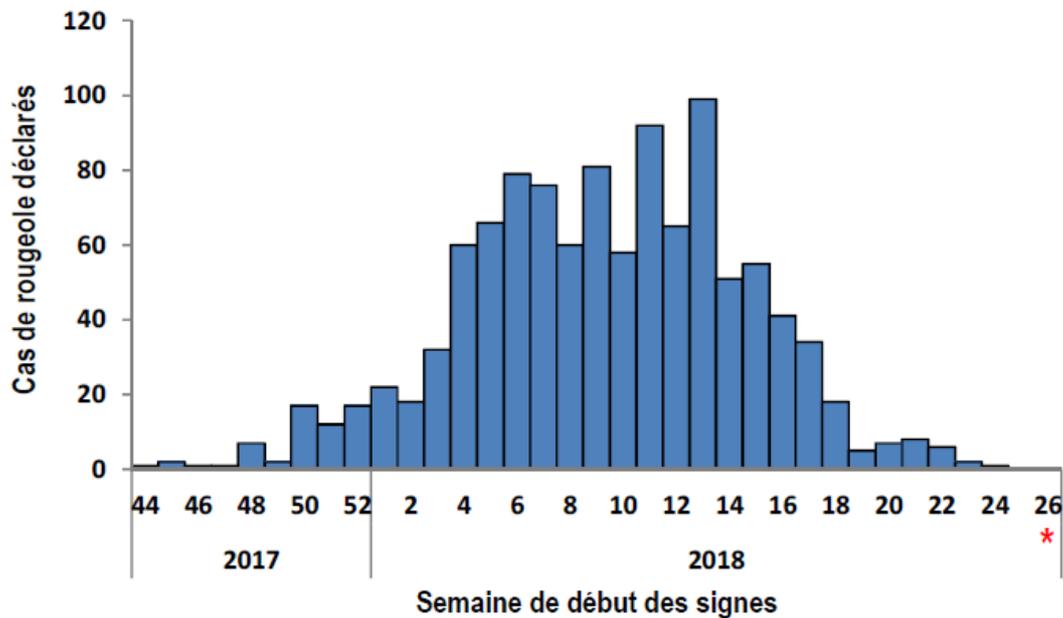
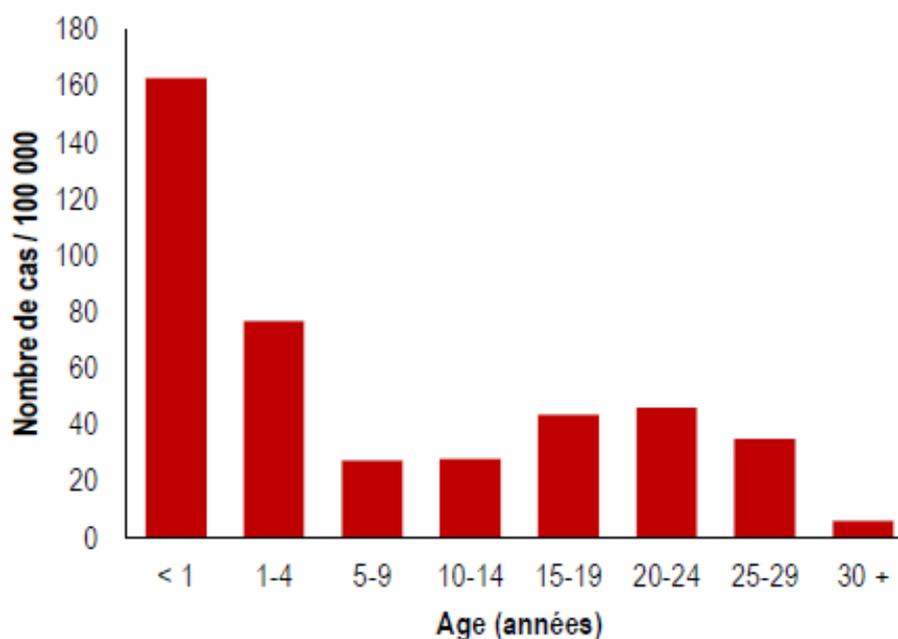


Figure 7 : Incidence des cas de rougeole déclarés par groupe d'âge, Nouvelle-Aquitaine, 1<sup>er</sup> novembre 2017 – 27 juin 2018 (n=1096) [53]. L'incidence des nouveaux cas de rougeole a été plus forte chez les sujets de moins de 1 an.



## II.2. Caractéristiques des cas de rougeole diagnostiqués au CHU de bordeaux

### II.2.1. Description des cas confirmés biologiquement au laboratoire de virologie

#### II.2.1.1. Les recherches de rougeole au laboratoire

Au cours de l'épidémie de rougeole 2017-2018 le laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux a effectué 1978 recherches de rougeole, entre le 1er septembre 2017 et le 31 mai 2018. Il a été demandé 1718 sérologies rougeole et 262 RT-PCR (Tableau 4), dont respectivement 166 et 148 sont revenues positives.

Tableau 4 : Sérologies et PCR rougeole entre le 1er septembre 2017 et le 31 mai 2018. Le pic de demande a été atteint au mois de mars. Au total il a été demandé 1718 sérologies rougeole et 262 RT-PCR, respectivement 166 et 148 sont revenues positives.

	Demandes	Sérologies	Sérologies positives	PCR	PCR positives	Total positif
<b>Total</b>	1980	1718	166	262	148	314
Septembre	82	79	4	3	1	5
Octobre	102	99	7	3	1	8
Novembre	110	107	4	3	3	7
Décembre	155	142	16	13	10	26
Janvier	269	216	43	53	34	77
Février	416	344	29	72	37	66
Mars	464	389	41	75	42	83
Avril	272	236	17	36	17	34
Mai	110	106	5	4	3	8

Au total pendant cette période 214 cas de rougeole ont été confirmés biologiquement (Tableau 5) soit par la détection d'ARN de virus dans le prélèvement (n=53 ; 25%), soit par la détection d'IgM spécifiques dans le sérum (n=73 ; 34%), soit par l'association des deux techniques (n=88 ; 41%).

Considérant qu'entre le 6 novembre 2017 et le 27 mai 2018, 1008 cas ont été confirmés biologiquement (pour 2364 cas) en France [54], au 31 mai 2018 plus de 20% (n=214) des cas de rougeole en France ont été confirmés au laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux.

Près de 70% des demandes ont été prescrites entre les mois de janvier et avril 2018 (Figure 8) avec un pic au mois de mars ; 70% des résultats positifs se sont concentrés entre le 1er janvier et le 31 mars 2018.

Figure 8 : Distribution mensuelle des demandes de sérologies et PCR rougeole au CHU de Bordeaux entre le 1er septembre 2017 et le 31 mai 2018. Il a été observé une ascension importante du nombre des demandes jusqu'au pic au mois de mars. Puis une diminution jusqu'au mois de mai.

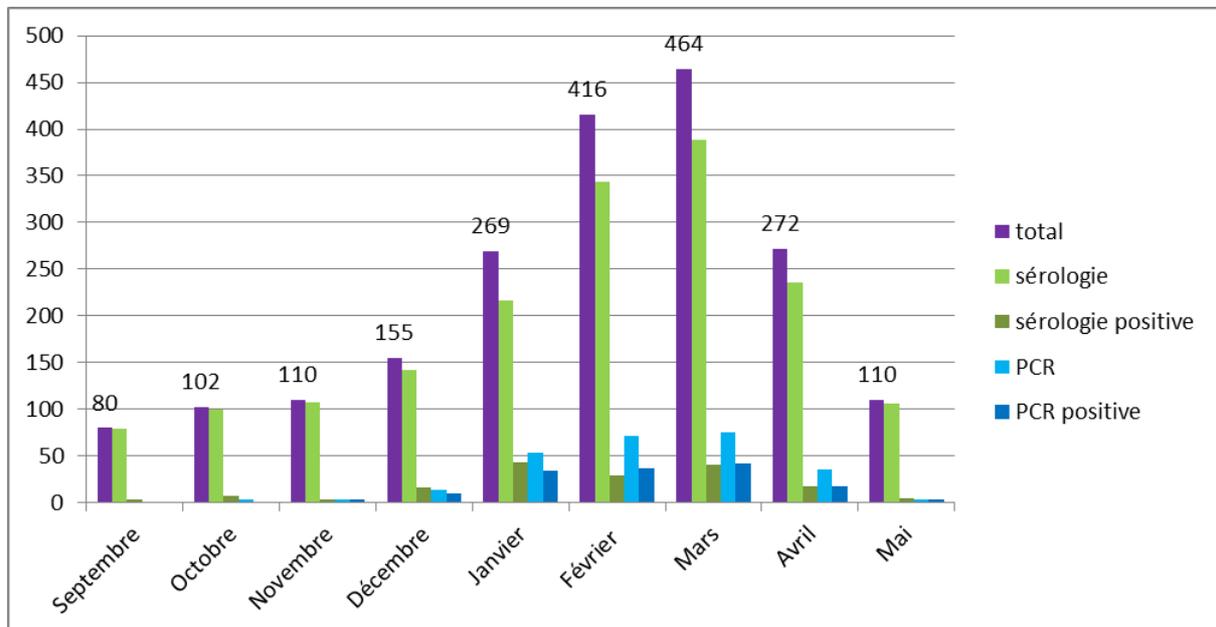
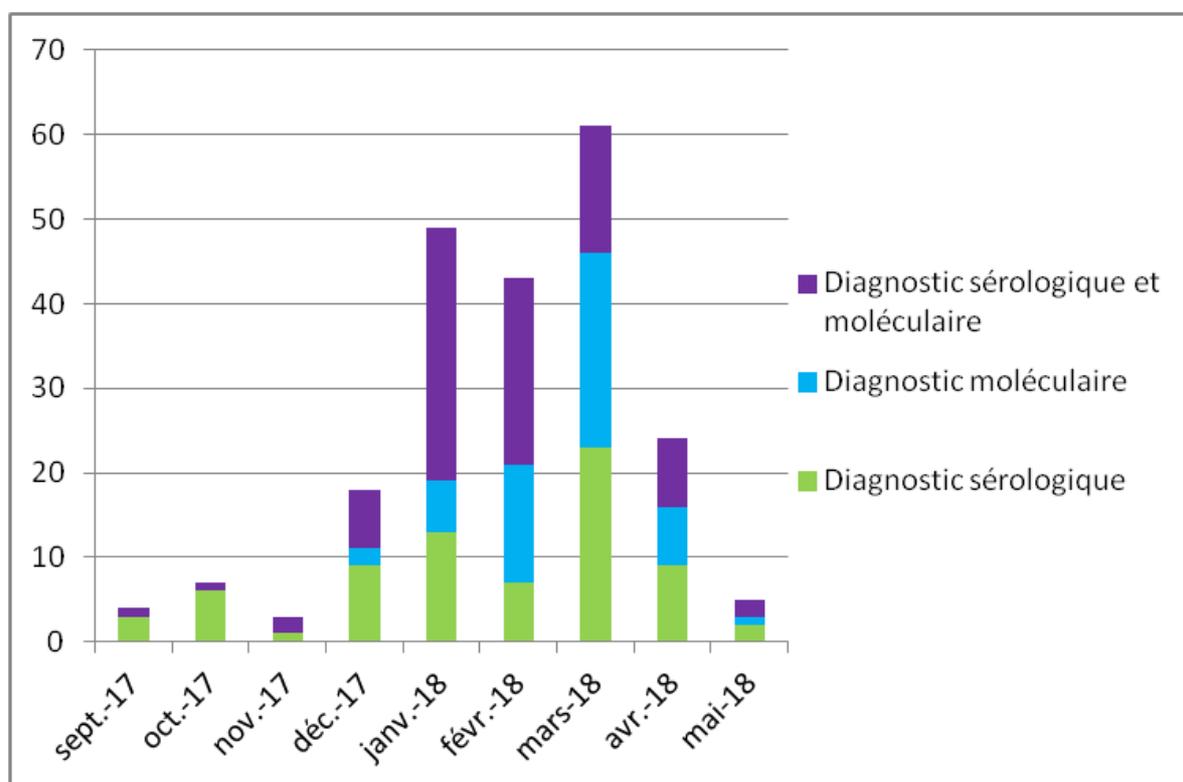


Tableau 5 : Distribution mensuelle des cas de rougeole diagnostiqués au CHU de Bordeaux selon la technique de diagnostic biologique entre septembre 2017 et mai 2018. Au total 214 cas de rougeole ont été confirmés biologiquement, 73 par la sérologie, 53 par RT-PCR et 88 par l'association des deux techniques. Le pic de cas confirmés biologiquement a été atteint au mois de mars 2018.

	Diagnostic sérologique	Diagnostic moléculaire	Diagnostic sérologique et moléculaire	total
sept-17	3	0	1	4
oct-17	6	0	1	7
nov-17	1	0	2	3
déc-17	9	2	7	18
janv-18	13	6	30	49
févr-18	7	14	22	43
mars-18	23	23	15	61
avr-18	9	7	8	24
mai-18	2	1	2	5
total	73	53	88	214

Figure 9 : Distribution mensuelle de 214 cas de rougeole diagnostiqués au CHU de Bordeaux selon les méthodes de diagnostic (sérologique, moléculaire ou par l'association des deux techniques) entre septembre 2017 et mai 2018. La distribution des cas confirmés de rougeole a révélé deux pics, un au mois de janvier et le suivant au mois de mars 2018.



Au total 144 échantillons positifs ont été envoyés au CNR de la rougeole de Caen et le génotypage de 129 échantillons a montré que 65% (n=94) étaient de génotype D8 et 24% (n=35) de génotype B3 (Figure 10). Ces 2 génotypes sont ceux circulant et retrouvés dans les mêmes proportions en France métropolitaine. Neuf des échantillons n'ont pas pu être amplifiés et 1 n'a pas pu être séquencé. Le génotype D8 a été détecté tout au long de l'épidémie tandis que le génotype B3 a été détecté pour la première fois au laboratoire dans un prélèvement du 16 février 2018 et a circulé jusqu'à la fin de l'épidémie (Figure 11). Au cours de l'épidémie il a été observé 2 pics de résultats positifs : le premier en janvier 2018 et le second en mars 2018 (Figure 9), qui correspondraient respectivement aux pics de circulation du génotype D8 et B3 (Figure 11).

Figure 10 : Résultat du génotypage des échantillons positifs de rougeole des prélèvements positifs en RT-PCR au laboratoire de virologie et envoyés au CNR de la rougeole (n=144). Le génotypage de 144 échantillons a montré que 65% (n=94) étaient de génotype D8 et 24% (n=35) de génotype B3.

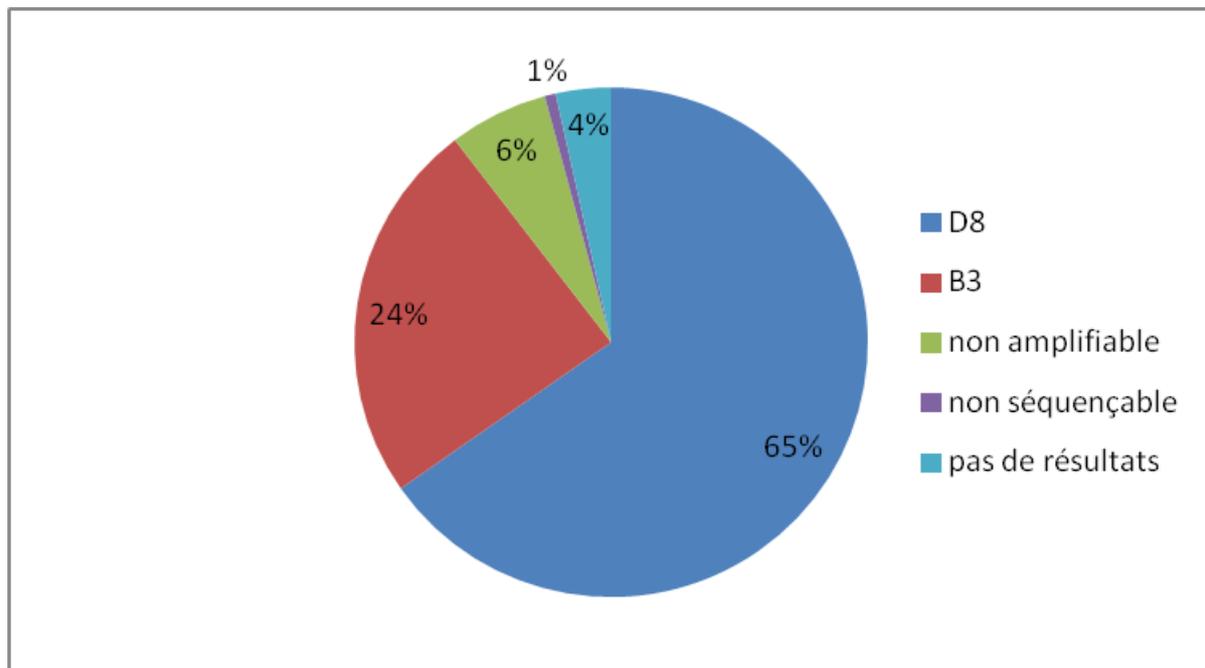
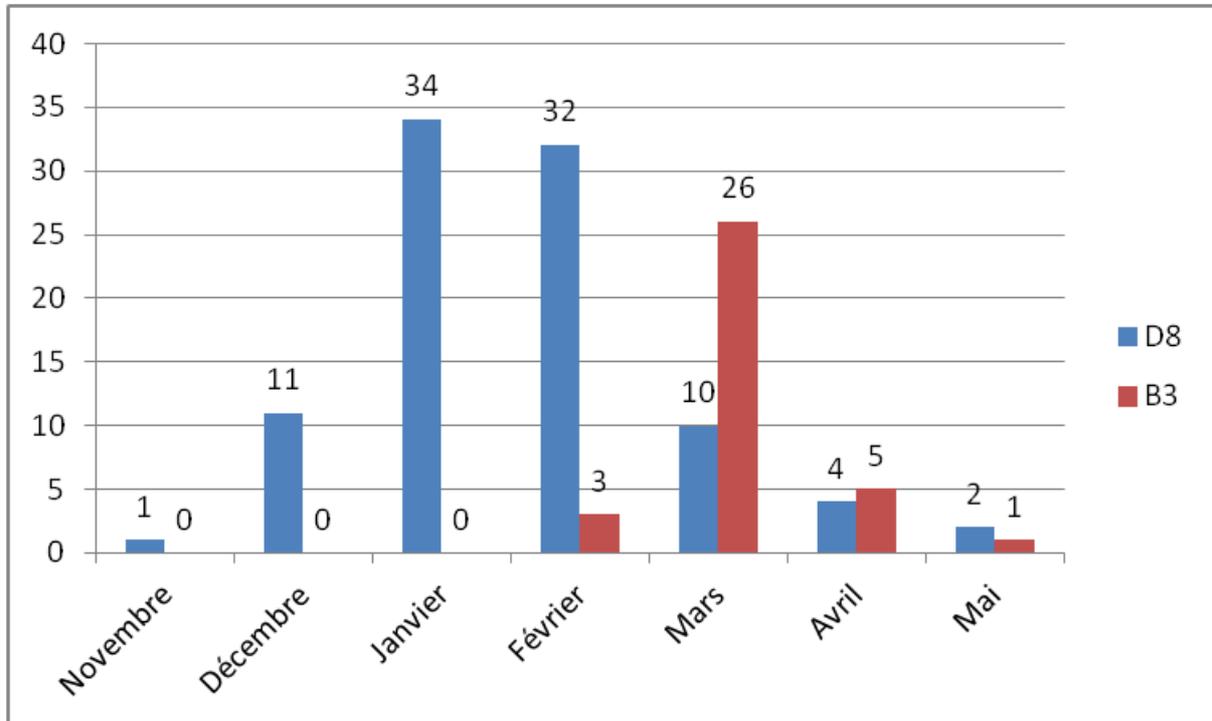


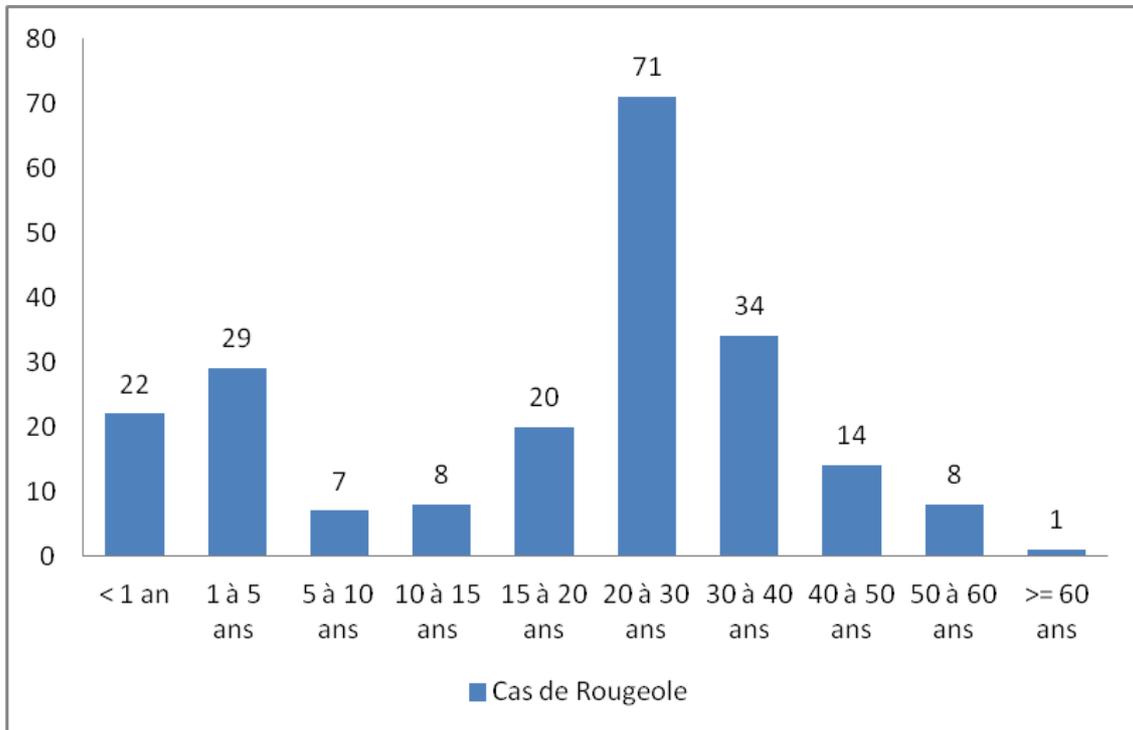
Figure 11 : Distribution mensuelle des génotypes de rougeole des prélèvements positifs en RT-PCR au laboratoire de virologie et envoyés au CNR de la rougeole entre le 1<sup>er</sup> novembre 2017 et le 31 mai 2018 (n=129). Le génotype D8 a été détecté tout au long de l'épidémie tandis que le génotype B3 a été détecté pour la première fois dans un prélèvement de février 2018 et a circulé jusqu'à la fin de l'épidémie. Au cours de l'épidémie il a été observé deux pics de résultats positifs : le premier en janvier 2018 et le second en mars 2018.



### II.2.1.2. Données démographiques des cas de rougeole

Entre le 1<sup>er</sup> septembre 2017 et le 31 mai 2018 le sex ratio était égal à 1,06 (110 hommes pour 104 femmes) et l'âge médian des cas était de 22 ans. La tranche d'âge la plus touchée par l'épidémie de rougeole chez les patients vus au CHU de Bordeaux était celle des adultes jeunes de 20 à 30 ans (Figure 12). Ces résultats sont compatibles avec une population dans laquelle la couverture vaccinale existe, c'est-à-dire que l'âge moyen de l'infection qui touche les jeunes enfants dans une population non vaccinée, se déplace vers les adultes jeunes. Les groupes plus âgés restent sensibles car ils n'ont pas été vaccinés dans l'enfance ou exposés au virus sauvage dans une population où le virus circule moins parmi les groupes vaccinés plus jeunes.

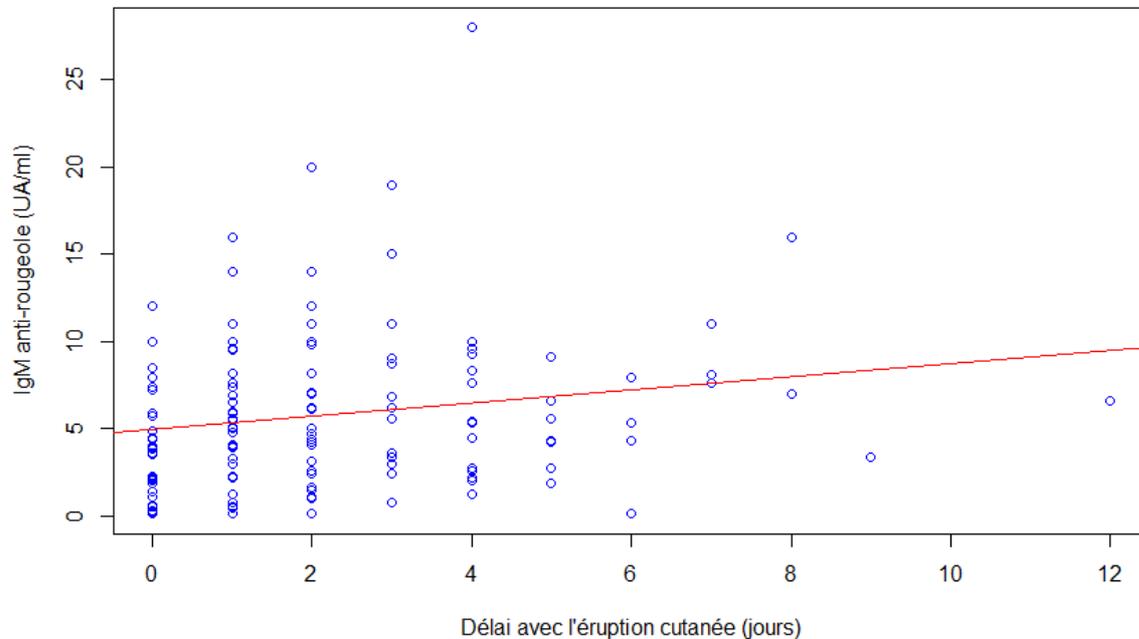
Figure 12 : Distribution des cas confirmés de rougeole selon le groupe d'âge au CHU de Bordeaux entre le 1<sup>er</sup> septembre 2017 et le 31 mai 2018 (n=214). Le plus grand nombre de cas de rougeole a été confirmé chez des adultes de 20 à 30 ans (n=71), et les enfants âgés de moins de 5 ans (n=51). Il a été observé une prévalence plus faible chez les adultes de plus de 40 ans (n=23), et les enfants de 5 à 15 ans (n=15).



### II.2.1.3. Délai entre le prélèvement et l'éruption cutanée

Parmi les 214 cas de rougeoles confirmés, 179 ont bénéficié d'une sérologie. Si l'on regarde de manière globale l'évolution du taux des IgM en fonction du délai entre le prélèvement et l'éruption cutanée, il a été observé une augmentation significative (IC<sub>95%</sub> [0,017 ; 0,331], p = 0,03) du taux des IgM quand on s'éloigne de l'éruption cutanée entre J0 et J12 (Figure 13).

Figure 13 : Evolution des IgM anti-rougeole des patients avec un diagnostic confirmé de rougeole soit par RT-PCR soit par la détection de ces IgM en fonction du délai avec l'éruption cutanée (n=179). Une augmentation significative ( $p = 0,03$ ) a été observée quand le prélèvement de la sérologie a été réalisé à distance de l'éruption cutanée, pour des délais compris entre J0 et J12.

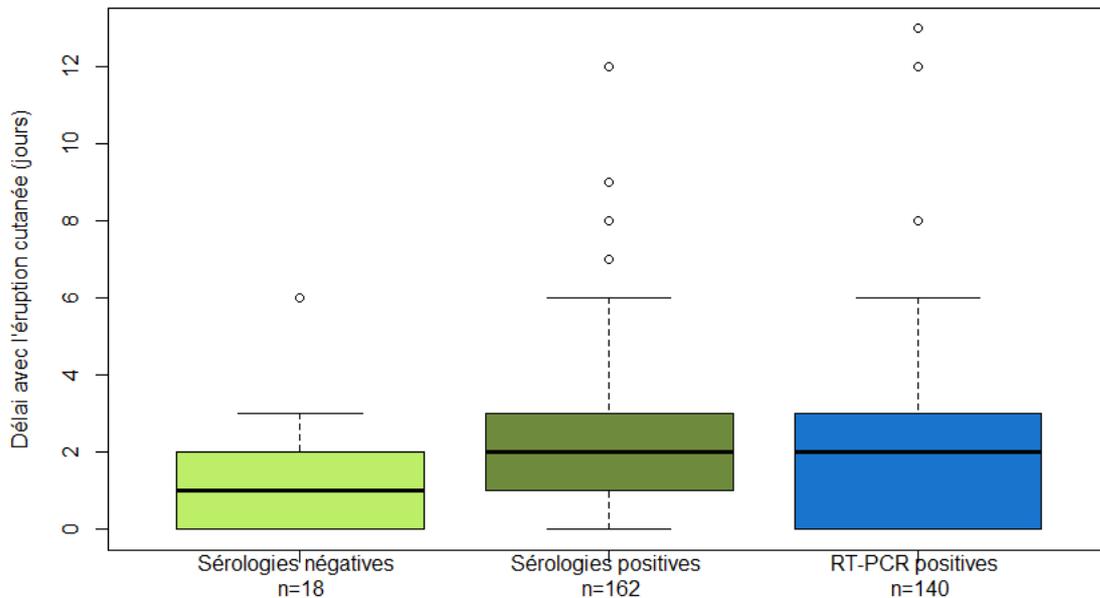


Dans le même groupe de 214 patients, nous avons représenté le délai entre le prélèvement de la sérologie ou de la PCR dans trois groupes de patients :

- Groupe 1 : Délai entre le prélèvement de la sérologie négative et l'éruption cutanée chez des patients avec une PCR positive
- Groupe 2 : Délai entre le prélèvement de la sérologie positive et l'éruption cutanée
- Groupe 3 : Délai entre le prélèvement de la PCR positive et l'éruption cutanée

Les sérologies négatives chez des patients avec une PCR rougeole positive ont été prélevées plus précocement que les sérologies positives. En effet une différence significative entre le groupe 1 et le groupe 2 a été observée au regard du délai entre le prélèvement et l'éruption cutanée ( $m_1 = 1,176$ ;  $m_2 = 2,292$ ;  $P = 0,014$ ). C'est-à-dire que les sérologies faussement négatives chez des patients ayant une rougeole, ont été prélevées significativement plus tôt que les sérologies positives. D'autre part il n'existe pas de différence significative entre les PCR et les sérologies positives au niveau du délai de prélèvement ( $P = 0,529$ ). Les sérologies et les PCR semblent avoir été prélevées au même moment après l'éruption cutanée (Figure 14).

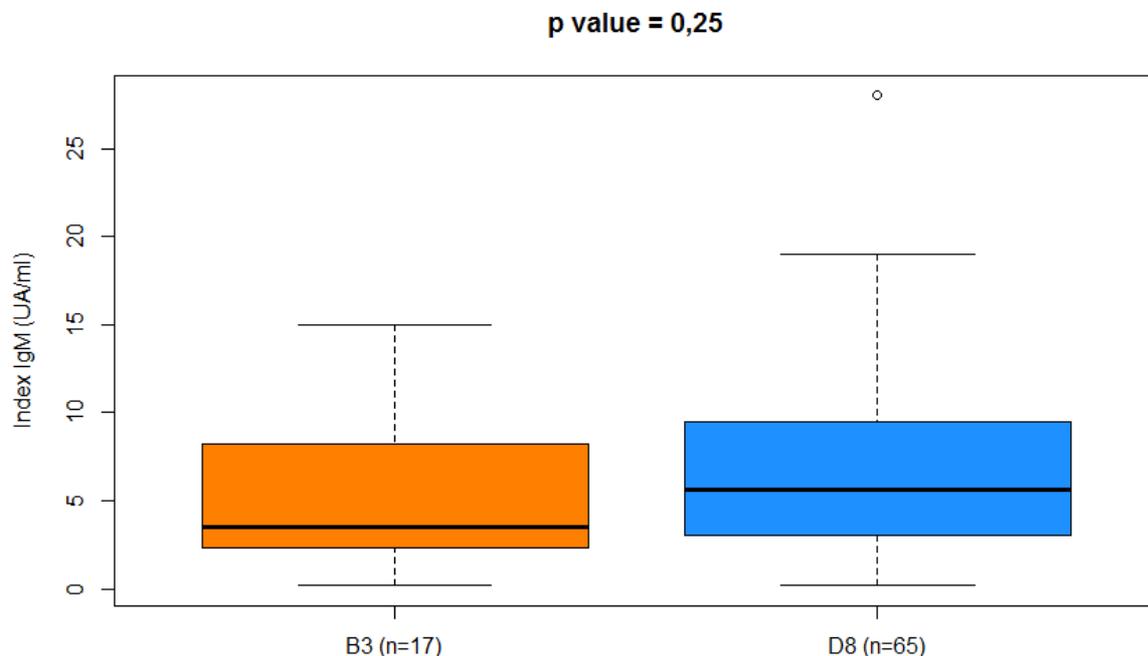
Figure 14 : Délais entre le prélèvement de la sérologie ou de la PCR et l'éruption cutanée dans 3 groupes de cas confirmés au CHU de Bordeaux. Groupe 1 : délai entre le prélèvement de la sérologie négative et l'éruption cutanée chez des patients avec une PCR positive. Groupe 2 : délai entre le prélèvement de la sérologie positive et l'éruption cutanée. Groupe 3 : délai entre le prélèvement de la PCR positive et l'éruption cutanée. Les sérologies faussement négatives (Groupe 1) ont été prélevées significativement plus tôt ( $P = 0,014$ ) que les sérologies positives. Les PCR positives (Groupe 3) n'ont pas été prélevées plus précocement que la sérologie.



#### II.2.1.4. Comparaison de la réponse en IgM selon le génotype B3 ou D8

Pour comparer la réponse en IgM en fonction du génotype nous avons sélectionné seulement des patients primo-infectés (avec des IgG négatives ou  $<30$  entre J0 et J4 ou des IgG positives  $>J4$ ). Ainsi nous avons comparé le taux d'IgM de 17 patients primo-infectés par un virus de génotype B3 et 65 patients primo-infectés par un virus de génotype D8, tous ces patients avaient une RT-PCR positive et avaient bénéficié d'une sérologie. Dans ces 2 groupes le délai moyen entre l'éruption cutanée et le prélèvement de la sérologie n'était pas significativement différent ( $m_{B3} = 2,23$  jours ;  $m_{D8} = 2,18$  jours ;  $p = 0,94$ ). Nous n'observons pas non plus de différence significative au niveau de la réponse en IgM que le virus à l'origine de l'infection soit de génotype B3 ou D8 ( $m_{B3} = 5,39$  UA/ml ;  $m_{D8} = 6,76$  UA/ml ;  $p = 0,25$ ). Il existe simplement une tendance à un taux d'IgM anti-rougeole plus faible avec le génotype B3 (Figure 15).

Figure 15 : Comparaison des IgM anti-rougeole dans 2 groupes de patients primo-infectés par le virus B3 (n=17) ou D8 (n=65) lors de l'épidémie 2018 en Aquitaine. Il n'y a pas de différence significative (P = 0,25) entre les génotypes B3 et D8 dans l'intensité de la réponse en IgM, seulement une tendance à un taux d'IgM plus élevé pour la réponse au génotype D8 ( $m_{B3} = 5,39$  UA/ml ;  $m_{D8} = 6,76$  UA/ml).



## II.2.2. Cas atypiques

### II.2.2.1. Sélection des cas atypiques

Parmi les patients avec une PCR rougeole positive et qui avaient bénéficié d'une sérologie rougeole dès l'apparition des symptômes, 17 présentaient un profil atypique compatible avec une réinfection par le virus. C'est-à-dire que ces patients avaient une PCR positive associée à un fort taux d'IgG anti-rougeole (> 30 UA/ml) au moment de l'éruption cutanée. La sérologie avait été prélevée avec un délai maximum de 4 jours après l'éruption et quand ce délai n'était pas connu le patient avait été vacciné dans le passé (Figure 16). Dix patients étaient des hommes et 7 des femmes (Sex-ratio H/F = 1,4), âgés de 16 à 45 ans (médiane = 27 ans). Le statut vaccinal était inconnu chez 7 patients, mais 5 avaient été vaccinés avec au moins 2 doses, 3 avec une dose ; une patiente de 37 ans et un patient de 45 ans n'étaient pas vaccinés mais avaient probablement contracté la rougeole dans leur enfance (Tableau 6). Le génotypage des virus a montré que 5 étaient de génotype D8, 7 de génotype B3 et 5 n'ont pas pu être amplifiés. Les informations concernant la vaccination des patients ont été recueillies par vérification du carnet de santé du patient, consultation du dossier médical ou après investigation de l'ARS dans le cadre de la gestion de santé publique.

Figure 16 : Sélection des 17 cas atypiques de rougeole à partir des 214 prélèvements positifs au CHU de Bordeaux. Parmi 44 sérologies avec IgG > 30 UA/ml, 22 étaient positifs en PCR dont 20 avaient un délai entre le prélèvement et l'éruption inférieur ou égale à 4 jours. Enfin 1 prélèvement issu d'un patient non vacciné et 2 prélèvements issus de patients sans information sur la date de l'éruption et le statut vaccinal ont été exclus.

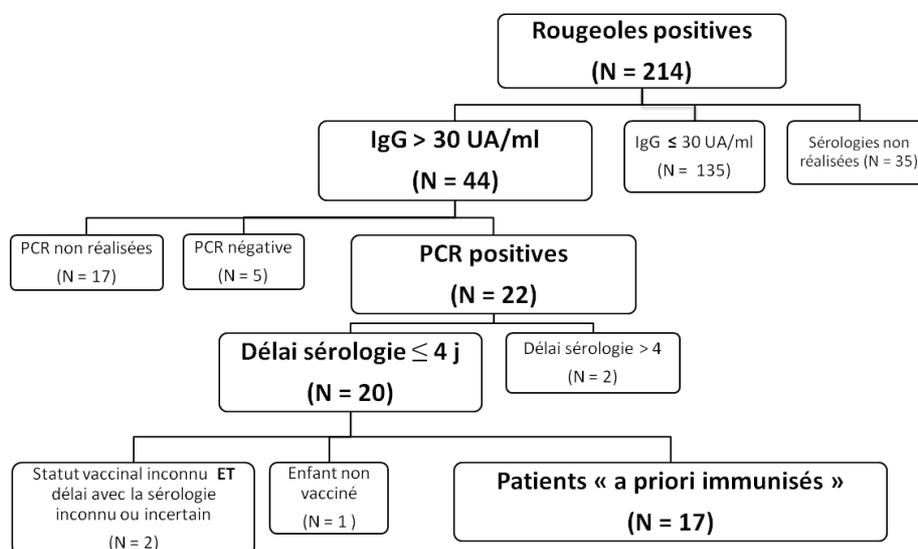


Tableau 6 : Cas atypiques de rougeole au CHU de bordeaux entre le 1er novembre 2017 et le 31 mai 2018. Parmi 17 cas a priori immunisés 11(65%), 5 (29%) et 1(6%) avaient respectivement des IgM négatives, positives et douteuses. Aussi il a été observé 5 et 7 virus respectivement de génotype D8 et B3.

	Age	Sexe	Eruption	Prélèvement	Délai	IgM (UA/ml)	IgG (UA/ml)	VACCIN	Génotype	Commentaire
Patient 1	20	M	21-janv	21-janv	0	1,1	51	non renseigné	D8	
Patient 2	16	F	28-janv	28-janv	0	3,9	33	1 DOSE	D8	1 seul tampon en face des 2 doses
Patient 3	33	F	26-janv	30-janv	4	9,6	> 300	1 DOSE	D8	
Patient 4	20	M	29-janv	30-janv	1	0,13	163	2 DOSES	D8	information ARS
Patient 5	38	F	16-févr	19-févr	3	0,79	> 300	1 DOSE	D8	RORVAX en 1986
Patient 6	24	F	28-févr	01-mars	1	0,1	209	2 DOSES	B3	1997 et 2001
Patient 7	23	M	11-mars	11-mars	0	0,1	42	non renseigné	B3	
Patient 8	44	F	14-mars	17-mars	3	3,4	> 300	non renseigné	B3	
Patient 9	23	M		21-mars		1,5	> 300	2 DOSES		1995 et 2016
Patient 10	26	M	23-mars	23-mars	0	0,26	239	non renseigné	non amplifiable	
Patient 11	29	M	25-mars	25-mars	0	0,25	> 300	non renseigné	B3	
Patient 12	25	M	25-mars	26-mars	1	0,8	> 300	2 DOSES	B3	information ARS
Patient 13	45	M	29-mars	30-mars	1	0,54	> 300	non vacciné	B3	information ARS
Patient 14	29	M	31-mars	31-mars	0	0,15	> 300	non renseigné	non amplifiable	
Patient 15	34	F	11-avr.	11-avr.	0	0,42	>300	non renseigné	non amplifiable	
Patient 16	37	F	14-avr	16-avr	2	0,12	>300	non vacciné	B3	Rougeole pendant l'enfance
Patient 17	27	M		20-avr		1,9	>300	3 DOSES	non amplifiable	1992, 1995 et 2015

Le patient 2 a été considéré comme atypique malgré un taux d'anticorps IgG plus faible au regard de son statut vaccinal et de l'absence de délai avec l'éruption cutanée.

Parmi les 129 virus qui ont été génotypés par le CNR de Caen, 12 (9%) étaient issus de patients *a priori* immunisés contre le virus. C'est-à-dire que ces patients avaient des IgG positives à fort taux au moment de l'éruption cutanée. Parmi les 94 virus de génotypes D8, 5 (5%) ont été retrouvés chez des patients *a priori* immunisés, et parmi les 35 virus de génotypes B3, 7 (20%) ont été retrouvés chez des patients *a priori* immunisés. On observe

un nombre de réinfections probables plus élevé avec le virus de génotype B3 qu'avec le génotype D8, cette différence est significative entre les deux groupes ( $P=0,017$  ;  $OR = 4,39$  [ $1,1 ; 19,0$ ]), malgré l'effectif faible.

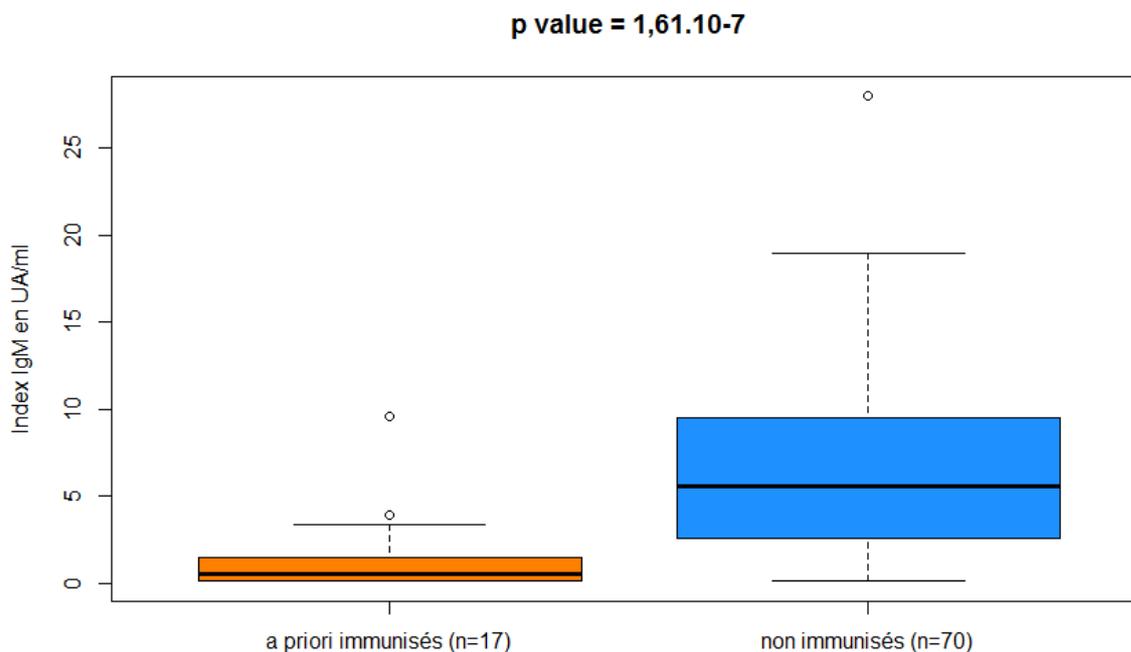
### II.2.2.2. Comparaison du taux d'IgM en fonction du profil sérologique

Il s'agit de comparer les IgM anti rougeole entre un groupe de patients *a priori* immunisés et un groupe de patients non immunisés au moment de l'infection. De façon à obtenir 2 groupes de patients comparables, le groupe des patients non immunisés a été constitué selon les critères suivants :

- Une PCR positive quel que soit le génotype
- Et une sérologie négative en anticorps spécifique de classe IgG ou douteuse ( $\leq 30$  UA/ml) quel que soit le résultat en anticorps de classe IgM,
- Et le délai entre l'éruption et prélèvement de la sérologie  $\leq 4$  jours.

Ainsi nous avons pu identifier 70 patients non immunisés au moment de l'infection qui répondaient à ces critères et avec des délais entre l'éruption et le prélèvement de la sérologie comparable au groupe *a priori* immunisé ( $m_i=1,07$  ;  $m_{ni}=1,51$  ;  $p=0,25$ ). En comparant les 17 patients *a priori* immunisés aux 70 patients non immunisés, on observe que l'index des IgM est significativement plus faible dans le groupe des patients *a priori* immunisés ( $m_i = 1,47$  ;  $m_{ni} = 6,46$  ;  $p=1,61.10^{-7}$  ;  $IC_{95} = [3,33 ; 6,64]$ ). En effet dans le groupe des 17 patients *a priori* immunisés on observe 11 patients avec des IgM négatives, 5 avec des IgM positives, et 1 avec des IgM douteuses. Lors d'une réinfection la réponse en IgM semble donc moins intense que dans une primo-infection rougeoleuse (Figure 17).

Figure 17 : Comparaison de l'index des IgM anti-rougeole dans un groupe de patients immunisés et dans un groupe de patients non immunisés contre le virus. L'index des IgM est significativement plus faible dans le groupe des patients *a priori* immunisés ( $m_i = 1,47$  ;  $m_{ni} = 6,46$  ;  $p=1,61.10^{-7}$ ) en comparaison au groupe des patients non immunisés.



### II.2.2.3. Exemple de cas atypique

La patiente 5 a été hospitalisée le 17/02/18 dans un service de neurologie de Nouvelle-Aquitaine pour des manifestations neurologiques associées à une rougeole. L'éruption cutanée s'est produite le 15/02/18 et les manifestations neurologiques ont débuté le 17/02/18 : céphalées persistantes avec photophobie, paresthésies du membre inférieur et sensation de jambe lourde. La patiente présentait par ailleurs une toux productive, pas de catarrhe oculo-nasal ni signe de Köplick. La PCR rougeole est revenue négative dans le LCR le 17/02/18 et positive sur l'écouvillon de salive le 19/02/18. De plus cette patiente présentait le profil sérologique d'une personne immunisée c'est-à-dire des IgM négatives et des IgG fortement positives (IgG >300 UA/ml). Cependant elle n'avait bénéficié que d'une injection du vaccin RORVAX® en 1986.

### II.2.3. Cas graves

#### II.2.3.1. Au CHU de Bordeaux

Entre le 1er novembre 2017 et le 1er juin 2018, au moins 30% des cas (n = 76) de rougeole diagnostiqués au laboratoire de virologie ont nécessité une hospitalisation dans différents services du CHU. Onze patients (4%) ont été pris en charge dans un service de réanimation (Tableau 7).

Tableau 7 : Distribution des cas de rougeole hospitalisés au CHU de Bordeaux du 1er novembre 2017 au 1er juin 2018 selon le service montrant qu'au moins 30% des cas de rougeole confirmés au CHU de Bordeaux ont été hospitalisés.

Service	nombre de cas	%
Réanimation	11	4,3
Maladies infectieuses	43	16,9
Autre medecine	19	7,5
Néphrologie	1	0,4
Neurologie	1	0,4
Gynéco-obstetrique	1	0,4
<b>Total</b>	<b>76</b>	<b>29,9</b>

### II.2.3.2. En France

Trois patients sont décédés des suites d'une rougeole en 2018 :

Le premier patient était un homme de 25 ans, sous immunosuppresseurs en raison d'antécédents de greffe rénale, non vacciné, admis dans un tableau de rougeole compliqué d'une pneumopathie ayant nécessité rapidement un transfert en réanimation dans le sud de la France ; le patient est décédé au bout de 18 jours d'hospitalisation.

La seconde patiente, une femme de 31 ans, non vaccinée, avec un terrain tabagique, de bronchite chronique, et d'obésité morbide ; a été admise elle aussi en réanimation dans un centre hospitalier de Nouvelle-Aquitaine avec un tableau de rougeole compliquée de pneumopathie. Le décès est survenu 11 jours après l'admission.

Enfin une patiente immunodéprimée de 16 ans, admise dans un service de neurologie de Nouvelle-Aquitaine pour clonies palpébrales s'est rapidement dégradée, a été transférée dans un service de Réanimation, où elle est décédée d'une encéphalite à inclusions rougeoleuse 2 mois après le début des symptômes.

### II.2.3.3. Cas d'encéphalite à inclusions rougeoleuse

Début mai 2018 une patiente immunodéprimée de 16 ans a été hospitalisée dans un service de neurologie d'un CHU de Nouvelle-Aquitaine pour l'apparition de clonies palpébrales puis de clonies du membre supérieur droit avec engourdissement. La patiente était greffée cardiaque depuis 2004 pour une cardiopathie dilatée MYH7 (maladie mitochondriale), traitée par mycophénolate mofétil et tacrolimus. Durant l'hospitalisation, l'état de la patiente s'est dégradé avec l'apparition de troubles de la vigilance, somnolence, dysarthrie, hémiparésie hémi-corporelle droite postcritique, d'une paralysie faciale droite, diplopie et la persistance des mouvements anormaux. A la fin du mois de mai est apparue une fièvre traitée par ceftriaxone. Devant la persistance de l'état de mal épileptique, des troubles de la vigilance et de la fièvre, la patiente a été transférée en réanimation pour la suite de la prise en charge. La patiente a bénéficié de 2 ponctions lombaires : la première le 14 mai avec 2 éléments/mm<sup>3</sup> ; la protéinorachie et la glycorachie étaient normales, les recherches immunologique et microbiologique étaient négatives. Une seconde ponction lombaire a été réalisée le 30 mai, avec 18 éléments/mm<sup>3</sup> et les recherches de virologie, bactériologie standard, mycobactériologie, parasitologie et mycologie étaient également négatives. Fin

mai 2018 la sérologie rougeole revenait positive en IgM et IgG, le reste des sérologies virales étaient négatives.

Le diagnostic d'encéphalite à inclusions rougeoleuse de l'immunodéprimée a été fait devant :

- Des arguments cliniques : clonies, dégradation rapidement progressive chez une patiente immunodéprimée. L'apparition des troubles neurologiques environ 3 mois après la primo-infection.
- Des arguments épidémiologiques : la notion de contagé en février 2018 (peut être par sa sœur ayant eu la rougeole, non vaccinée et une notion d'épidémie en milieu scolaire et malgré l'absence de déclaration obligatoire faite dans la zone géographique ; toutefois, la source de la contamination n'est pas certaine).
- Des arguments biologiques avec la persistance des signes d'infection par le virus : la sérologie réalisée *a posteriori* sur un sérum du 21 février 2018 était positive en IgM et négative en IgG ce qui est en faveur d'une primo-infection en février 2018. De plus la sérologie d'entrée en réanimation du 31 mai montrait une séroconversion en IgG (Tableau 8). Enfin les PCR rougeole sont restées positives du 2 juin 2018 dans la salive au 2 juillet 2018 dans les urines (Tableau 9).

Tableau 8 : Sérologies de la patiente atteinte de MIBE et hospitalisée dans un CHU de Nouvelle-Aquitaine montrant la présence d'anticorps spécifiques de classe IgM dès le mois de février 2018 et une séroconversion en anticorps de classe IgG dans le sérum du 14 mai 2018.

	Unité	21/02/2018	14/05/2018	31/05/2018
IgM Rougeole		Positive	Positive	Positive
Index	UA/ml	11	12	11
IgG Rougeole		Négative	Positive	Positive
Index	UA/ml	8,2	103	201

Tableau 9 : PCR qualitative rougeole chez la patiente atteinte de MIBE au CHU de Bordeaux du 14 mai 2018 au 2 juillet 2018 dans les prélèvements de salive, sécrétions respiratoires, urines, sang et LCR (Ct : cycle threshold). Le virus a été détecté dans plusieurs prélèvements pendant un mois du 01/06/2018 au 02/07/2018.

	14/05/2018	30/05/2018	01/06/2018	02/06/2018	11/06/2018	18/06/2018	22/06/2018	25/06/2018	02/07/2018
Sang			négative		positive faible			négative	
Ct					36,46				
Urine				positive	positive faible	positive faible		positive	positive
Ct				32,78	32,46	33,69		33,29	33,28
Salive				positive	positive faible	négative			
Ct				35,59	34,8				
LCR	négative	négative							
Ct									
Sécr. Resp.			positive		positive	positive faible		positive faible	négative
Ct			30,75		31,9	35,86		36,6	
Pharynx							positive		
Ct							34,96		

La recherche de synthèse intrathécale d'immunoglobulines réalisée par le CNR de Caen sur le LCR et le sérum du 14 mai est revenue négative. Après concertation multidisciplinaire il a été instauré un traitement par Ribavirine, vitamine A (rétinol) et Immunoglobulines polyvalentes (Tegeline®) devant la répllication active du virus.

Dans ce contexte infectieux les immunosuppresseurs ont été arrêtés et remplacés par la ciclosporine IV. La réalisation d'une IRM cérébrale montrait d'importantes lésions d'encéphalite aiguë évolutives diffuses. Une nouvelle IRM réalisée quelques jours plus tard a confirmé l'évolution péjorative avec une majoration des lésions. La patiente est restée par la suite inconsciente et il a été observé une recrudescence des clonies qui se généralisaient. La patiente est décédée deux mois après le début des symptômes neurologiques.

### II.3. Discussion : Caractéristiques épidémiologiques et biologiques des cas de rougeoles confirmés au laboratoire de virologie

Dans ce contexte épidémique nous avons observé la circulation de 2 génotypes D8 puis B3 avec deux pics de cas, respectivement aux mois de janvier et mars 2018. Ces deux pics peuvent traduire l'importation d'un second génotype de rougeole en Aquitaine au moment où le génotype D8 était déjà responsable de l'épidémie.

Parmi les cas confirmés de rougeole au CHU de Bordeaux, la classe d'âge 20-30 ans semble être la plus touchée (II.2.1) et la répartition de ces cas est significativement différente ( $P = 5,3.10^{-8}$ ) de celle de la population générale en France [2] avec un déplacement du nombre de cas de rougeole chez des personnes plus âgées pour les cas du CHU de Bordeaux (Figure 12). La proportion de cas confirmés est largement inférieure pour les sujets de 1-14 ans et nettement supérieure chez les sujets  $\geq 15$  ans au CHU de Bordeaux (Figure 18) par rapport à la proportion de cas déclarés en France. Même si ces résultats suggèrent que la rougeole est plus sévère chez les adultes que chez l'enfant de plus de 1 an [23], il serait plus juste de comparer ces valeurs à l'effectif moyen de la tranche d'âge considérée toujours sur la même période, mais ces effectifs n'étaient pas disponibles. En effet l'incidence des cas de rougeole  $< 1$  an en Nouvelle-Aquitaine est supérieure aux autres classes d'âges (Figure 7).

Figure 18 : Répartition des cas de rougeole déclarés en France [2] et des cas confirmés au CHU de Bordeaux en fonction de l'âge. La répartition des cas de rougeole selon l'âge en France et au CHU de Bordeaux entre les mois de novembre 2017 et mai 2018 est significativement différente ( $P = 5,3.10^{-8}$ ) avec au CHU de Bordeaux plus de cas  $\geq 15$  ans et moins de cas de 1 – 14 ans.

	< 1 an		1 - 14 ans		$\geq 15$ ans	
	n	%	n	%	n	%
Cas déclarés en France (n = 2466)	207	8	1001	41	1257	51
Cas confirmés au CHU de Bordeaux (n = 214)	22	10	44	21	148	69

En comparant les sérologies et les RT-PCR prélevées au moment ou quelques jours après l'éruption cutanée nous pouvons dire que la sérologie peut être envisagée dès l'éruption cutanée, mais qu'un résultat négatif en IgM ne devra pas écarter une suspicion de rougeole en particulier si elle est prélevée dans les 2 premiers jours après l'éruption cutanée (Figure

14). En cas d'IgM négatives la suspicion de rougeole ne devra pas non plus être écartée si le patient est *a priori* déjà immunisé (IgG positifs < 4 jours après l'éruption cutanée) car les IgM peuvent être absentes lors de la réinfection (Figure 17).

Le diagnostic par RT-PCR sur un écouvillon prélevé dans les 5 premiers jours après l'éruption cutanée reste le moyen privilégié de confirmer une infection par le virus de la rougeole, en particulier pour le diagnostic des cas atypiques *a priori* immunisés contre la rougeole, chez qui la détection d'IgM n'est pas constante, et en cas de recherche précoce (< 3-4 jour après l'éruption).

Pendant l'épidémie, au moins 17 cas atypiques ont été mis en évidence (II.2.2), chez ces patients le diagnostic est plus difficile à cause de la présentation clinique qui peut être modifiée [23], des IgM qui peuvent être absentes [17], et de la quantité de virus qui semble diminuée (PCR positives avec un signal plus faible [23]).

Pour confirmer une suspicion de réinfection dans le cadre d'une nouvelle étude la sérologie IgM/IgG de routine devrait être complétée par des techniques spécialisées [55] :

- une technique de mesure de l'avidité des IgG pour mettre en évidence une forte avidité compatible avec une immunité ancienne
- une technique de séroneutralisation pour mettre en évidence la présence d'anticorps neutralisants (anti-F et anti-H).

Parmi les 17 cas atypiques de rougeole, le génotype B3 est surreprésenté par rapport au génotype D8 en comparaison à l'ensemble des cas confirmés. Il semblerait que dans cette population des patients, ayant eu une rougeole confirmée au CHU de Bordeaux pendant l'épidémie de 2017-2018, le génotype B3 soit plus susceptible de résister à l'immunité apparente des patients. Le génotype B3 a déjà été associé à des réinfections (I.2.2). Mais ce résultat est à interpréter avec précaution car des IgG détectées avec les techniques de sérologie de routine indiquent seulement un contact avec le virus sauvage ou vaccinal et n'impliquent pas nécessairement la présence d'anticorps neutralisants anti-F et anti-H à un taux protecteur (les anticorps anti-N sont les plus abondants). En conséquence ces patients auraient pu être en réalité non protégés contre le virus soit à cause de la diminution des anticorps dans le temps, soit de l'absence de séroconversion pour les anticorps anti-F et anti-H après la vaccination.

Il faut noter que parmi ces 17 cas atypiques 5 échantillons (29%) n'ont pas pu être génotypés (4 non amplifiables et 1 sans résultat) et parmi les 127 autres prélèvements, 10 (8%) n'ont pas pu être génotypés (5 non amplifiables, 1 non séquençable et 4 sans résultat). Parmi les 9 prélèvements qui n'ont pas pu être amplifiés par le CNR de la rougeole, 8 ont été acheminés lors du même envoi, donc ce défaut de détection est très probablement expliqué par de mauvaises conditions d'acheminements (température, stockages, délai de livraison) et par des concentrations plus faibles en virus (Ct plus tardifs) des prélèvements issus de cas atypiques. Parmi les 9 prélèvements non amplifiables, 1 était une confirmation de résultat négatif, 2 avaient des IgM positives, 3 avaient des IgM négatives et des IgG positives, et 3 n'avaient pas bénéficié de sérologies.

Enfin le taux important d'hospitalisations (30%) et plus particulièrement le taux de prise en charge dans un service de réanimation (4%) des patients pour rougeole confirment que les complications sont fréquentes et potentiellement graves. Un cas d'encéphalite à inclusion rougeoleuse souligne que l'éruption cutanée pourtant typique de la rougeole peut être

absente ou passer inaperçue chez le sujet immunodéprimé et que la rougeole est toujours potentiellement létale en France.

Nous avons remarqué une tendance à une réponse en IgM plus faible contre le génotype B3 lors de cette épidémie, qui pourrait être associée au plus grand nombre de réinfections avec ce génotype.

### III. Séquençage des protéines de surface F et H des patients ayant une PCR positive et des IgG positives avec un fort taux

---

#### III.1. Introduction

Les protéines de surface H et F du virus de la rougeole sont impliquées dans la réponse immunitaire [3]. En effet les anticorps neutralisant sont dirigés contre les protéines H et F et la variation de H pourrait être un facteur essentiel de l'échappement à la neutralisation [4]. Dans le contexte d'épidémie de rougeole en Nouvelle-Aquitaine nous avons observé des sujets qui semblaient *a priori* immunisés contre l'infection mais qui pourtant ont contracté la rougeole. C'est pourquoi nous avons recherché si parmi les virus détectés au CHU de Bordeaux, certains étaient plus susceptibles d'échapper à l'immunité. Notre objectif était de comparer la séquence du gène H et F du virus de la rougeole, entre les souches identifiées chez des sujets non immunisés (IgG négatives et PCR positive) et les souches des sujets *a priori* immunisés (IgG positives avec un fort taux et PCR positive) au cours de l'épidémie 2017-2018 en Nouvelle-Aquitaine. Dans un second temps comparer la séquence du gène H d'un échantillon du cluster Bordelais avec la souche vaccinale.

#### III.2. Matériel et méthodes

Pour mettre en évidence d'éventuelles différences de séquences du gène H de nos patients, nous les avons intégrées dans un arbre phylogénétique construit à partir des séquences de référence des génotypes de la rougeole issues de la base de données MeaNS [5] et de séquences disponibles dans la base GenBank [56] pour les virus de génotype B3 et D8, pour les gènes H et F.

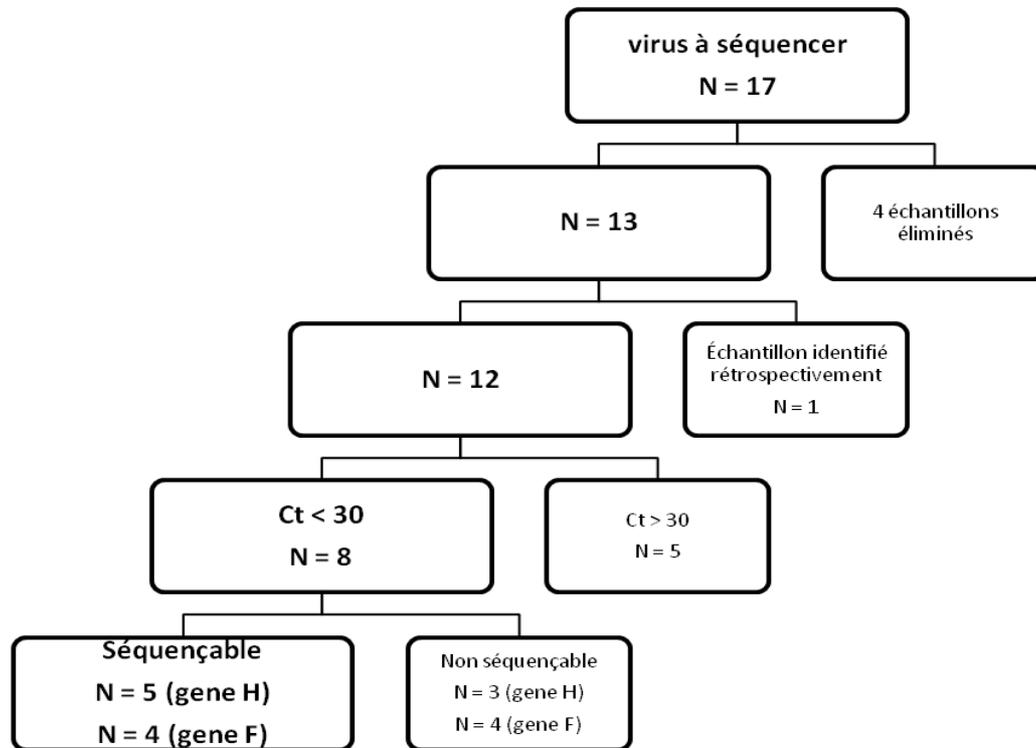
##### III.2.1. Sélection des échantillons

Parmi les 214 échantillons positifs (II.2) en rougeole nous avons identifiés 17 virus issus de patients qui étaient selon nos critères « *a priori* immunisés » (Figure 16), c'est-à-dire avec :

- Une RT-PCR positive pour le virus de la rougeole,
- Et une sérologie positive en anticorps spécifique de classe IgG à fort taux (>30 UA/ml) quel que soit le résultat en anticorps de classe IgM,
- Et au moins un critère parmi les suivants :
  - o Un délai entre l'éruption et la sérologie  $\leq 4$  jours,
  - o Une preuve d'au moins une dose de vaccin anti-rougeoleux ou une infection ancienne par le virus sauvage (carnet de santé, interrogatoire du patient par le clinicien, dossier médical ou investigation de l'ARS).

Parmi les 17 virus d'intérêt identifiés par extraction informatique du système d'information du laboratoire il n'a été possible de séquencer, à partir de l'extrait d'ARN-ADN conservé au laboratoire que 5 virus pour le gène H et 4 virus pour le gène F. En effet même si le but initial était de séquencer les 17 virus, 4 extraits d'acides nucléiques avaient déjà été éliminés conformément à la procédure du laboratoire, 1 échantillon a été identifié rétrospectivement donc trop tardivement pour être inclus, 5 avaient des concentrations faibles ( $Ct > 30$ ), enfin 3 échantillons pour le gène H et 4 échantillons pour le gène F n'ont pas pu être séquencés entièrement pour des raisons techniques (Figure 19).

Figure 19 : Plan de sélection des virus séquencés parmi les 17 virus d'intérêts issus de patients *a priori* immunisés. A partir de 17 virus d'intérêt, il a été possible de séquencer le gène H et le gene F respectivement 5 et 4 de ces virus. Quatre échantillons ont été éliminés conformément à la procédure du laboratoire, 1 échantillon a été sélectionné *a posteriori*, 5 n'étaient pas suffisamment concentrés en virus et 3 (4) n'ont pas pu être séquencés complètement pour le gène H (F).



Les autres échantillons ont été choisis avec une forte concentration en virus dans le prélèvement (Ct < 20) de façon à faciliter le séquençage et de manière à obtenir deux groupes D8 et B3 de même effectif autant pour le gène H que F (gène H : 8 virus D8 et 8 virus B3, gène F : 8 virus D8 et 7 virus B3).

### III.2.2. Extraction

Les acides nucléiques totaux ont été extraits avec l'automate MagnaPure Compact (Roche) à partir de 400 µl de prélèvement pour obtenir 50 µl d'extrait. Les manipulations de cette étude ont été réalisées à partir des extraits conservés (à -20°C temporairement puis -80°C jusqu'à élimination) après la RT-PCR de détection du diagnostic initial. Les échantillons biologiques primaires ont été envoyés au CNR de Caen pour le génotypage du gène N dans le cadre de la surveillance épidémiologique et selon les recommandations de santé publique. Par conséquent la quantité de chaque prélèvement était limitée et n'a pas permis la répétition des analyses dans certains cas.

### III.2.3. Amplification

La rétro-transcription de l'ARN et l'amplification de l'ADN ont été réalisées grâce aux enzymes de la trousse « SuperScript III Platinum One-Step Quantitative RT-PCR System » (Invitrogen) et de 4 couples d'amorces pour le gène H, 6 couples pour le gène F fournis par le CNR de la rougeole de Caen (données non publiées). Les réactifs ont été mis en présence dans les proportions recommandées par le fabricant de l'enzyme (Tableau 10).

L'amplification a été faite sur un thermocycleur « Primus HT Quad Block » (MWG Biotech) (Tableau 11).

Tableau 10 : Composition du mélange réactionnel pour l'amplification des gènes H et F du virus de la rougeole

Reactifs	volume (μl)	concentration μM
2x Reaction mix 0,4mM	12,5	200
Amorce Fw 20μM	1	0,8
Amorce Rv 20μM	1	0,8
SuperScript III One step	0,5	
H2O	5	
Extrait	5	

Tableau 11 : Programme de la réaction pour l'amplification des gènes H et F du virus de la rougeole

Etape	Température (°C)	Durée	Nombre de cycle
Transcription reverse	50	30 min	1
Prédénaturation	94	3 min	1
Dénaturation	95	30 sec	
Hybridation	50	30 sec	40
Elongation	68	2 min	
Elongation finale	68	10 min	1
Fin de réaction	8	5 min	1

La purification du produit de PCR a été réalisée par nettoyage enzymatique en une seule étape avec la trousse « ExoSAP-IT™ Express PCR Product Cleanup Reagent » (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific)

#### III.2.4. Séquençage

La réaction de séquence (Tableau 12) a été réalisée à l'aide de la trousse « BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit » (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific), des amorces fournis par le CNR de la rougeole (données non publiées), sur le thermocycleur « MWG Biotech: Primus HT Quad Block » (Tableau 13).

Tableau 12 : Mélange réactionnel pour la réaction de séquence des gènes H et F du virus de la rougeole.

Reactifs	volume (µl)
Tampon 5x	3,5
Amorce 3,2 µM	1
Big Dye	1
H2O	12,5
Produit d'amplification	2

Tableau 13 : Programme de la réaction de séquence des gènes H et F du virus de la rougeole

Etape	Température (°C)	Durée	Nombre de cycle
Prédénaturation	95	3 min	1
Dénaturation	95	10 sec	
Hybridation	50	5 sec	40
Elongation	60	4 min	
Fin de réaction	4	5 min	1

Enfin l'appareil « Applied Biosystems® 3500xL Dx Genetic Analyzer » a été utilisé pour l'électrophorèse et la production des électrophoregramme.

### III.2.5. Analyse des données

Les séquences simples brins (8 pour le gène H et 12 pour le gène F ainsi obtenues ont été assemblées et analysées avec le logiciel SeqScape® Software (Thermo Fisher Scientific). Les séquences de références du gène H de génotype D8 (MVi/Manchester.GBR/30.94, GenBank : U29285) et B3 (MVi/New.York.USA/0.94, GenBank : L46752 ) ont été utilisées pour l'assemblage des séquences.

L'alignement des séquences des patients avec les séquences de référence et la préparation de l'arbre phylogénétique ont été effectués avec le logiciel « CLUSTAL 2.1 Multiple Sequence Alignments » pour le gène H et avec le logiciel « CLC Main Workbench 6 » pour le gène F. La méthode d'inférence phylogénétique du Neighbour Joining a été utilisée pour construire l'arbre, et le biais des mutations multiples a été corrigé par le modèle de Kimura.

L'arbre phylogénétique a été visualisé sur le site internet ITOL (<https://itol.embl.de/>) à partir du fichier « .phb » pour le gène H et avec le logiciel « CLC Main Workbench 6 » pour le gène F.

### III.3. Résultats

#### III.3.1. Séquençage des gènes de l'Hémagglutinine et de la protéine de Fusion

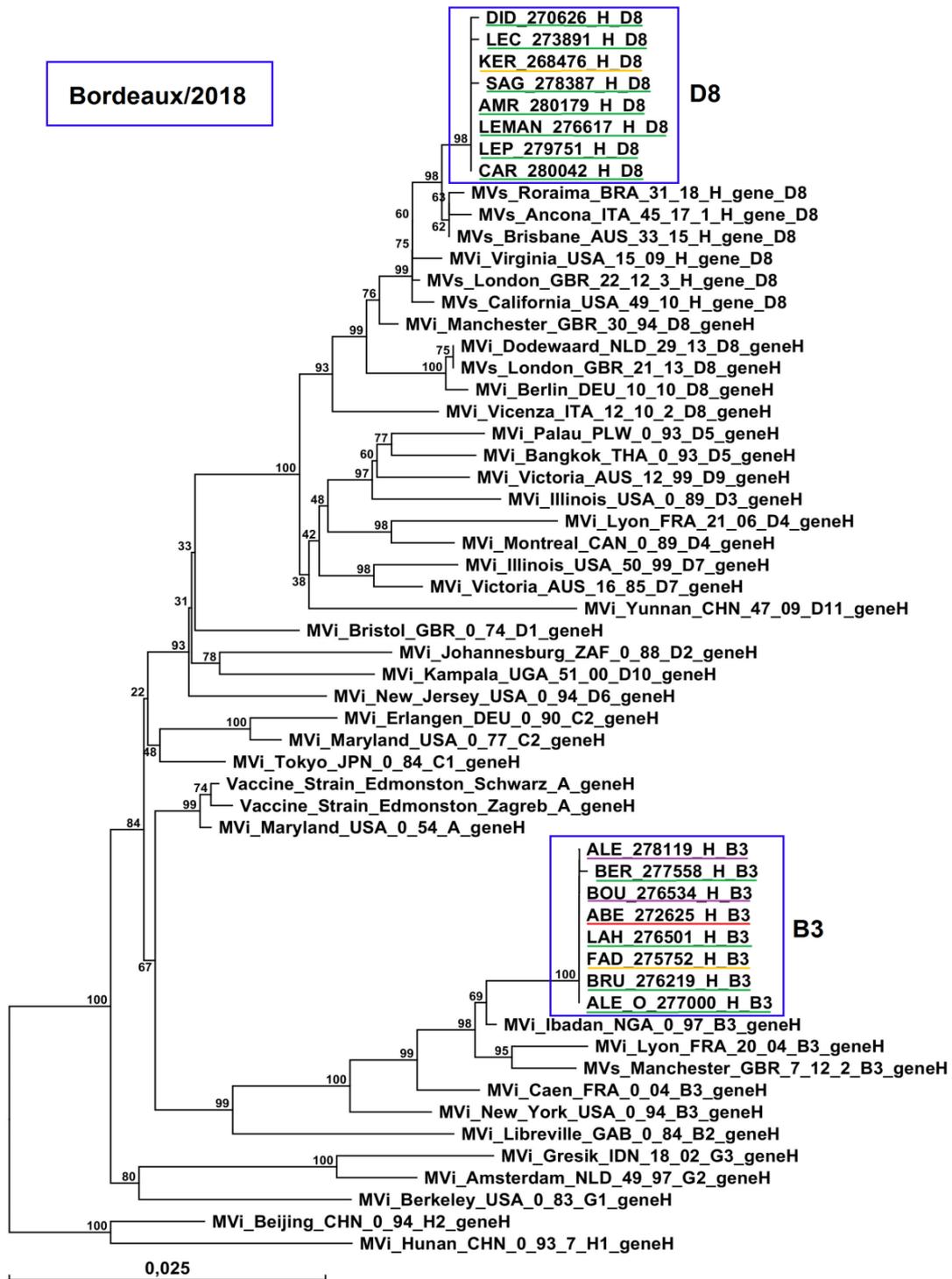
##### III.3.1.1. Séquençage du gène H

Concernant le gène de l'hémagglutinine, les virus de rougeole issus de 5 patients ayant un profil sérologique atypique (IgG positives) et ceux retrouvés chez 11 patients avec un profil sérologique classique (IgG négatives) se regroupent (cluster) sur la même branche aussi bien pour le génotype B3 que pour le génotype D8 (Figure 20).

Nous avons observé une différence d'une base par rapport au reste des virus de génotype D8 du cluster Bordelais pour les patients DID\_270626, LEC\_273891 et SAG\_278387. Nous avons observé une différence d'une paire de bases par rapport au reste des virus de génotype B3 du cluster Bordelais pour le patient BER\_277558.

Le séquençage de 5 virus rougeoleux de patients *a priori* immunisés contre la rougeole et 11 patients naïfs, indique que ces patients ont été infectés par des virus génétiquement peu distants du point de vue du gène H.

Figure 20 : Arbre phylogénétique montrant les séquences de 1740 paires de bases du gène H de 16 virus de rougeole ayant circulé pendant l'épidémie 2017-2018 retrouvés chez des patients avec des profils différents : soulignés en vert les patients avec des IgG négatives ; en rouge des IgG positives et deux doses de vaccin ; en orange des IgG positives et une dose de vaccin ; et en violet des IgG positives et non vaccinés. Il a été observé une différence d'une base pour 1 patient de génotype B3 et pour 3 patients de génotype D8 comparé au reste du cluster. Cet arbre a été construit en utilisant la méthode du Neighbor-Joining, 1000 réplicats. Le pourcentage d'arbres de réplication dans lesquels les séquences sont associées en cluster est affiché à côté des branches. Les distances évolutives ont été calculées selon la méthode de Kimura à 2 paramètres. Les analyses évolutives ont été menées dans CLC Main Workbench 6.



Au cours de l'épidémie de rougeole il semblerait qu'il y ait eu plus de réinfections chez les personnes immunisées avec des virus de génotype B3 (II.2.2) qu'avec le génotype D8. Sur 1700 paires de bases dans le gène H le pourcentage d'identité entre la souche vaccinale Edmonston-Schwarz est de 1648/1700 et 1638/1700 respectivement pour les virus de génotypes D8 et B3, soit 52 et 62 paires de bases différentes. Treize et 16 acides aminés sont différents pour les virus D8 et B3 dans le gène H. Au niveau du site 167-241 du gène H où 5 sites de glycosylations sont présents [57], il existe aussi des différences entre D8 et B3 (Tableau 14).

Tableau 14 : Différences entre la souche vaccinale Schwarz et les génotypes D8 et B3 de l'épidémie 2017-2018 entre les acides aminés 167-241 du gène H. Il a été observé 13 et 16 acides aminés différents respectivement pour les génotypes D8 et B3 dans le gène H, par rapport au virus de la souche vaccinale Edmonston-Schwarz.

<b>Virus de génotype D8</b>	<b>Virus de génotype B3</b>
T174A	N178T
T176A	S240N
G211S	

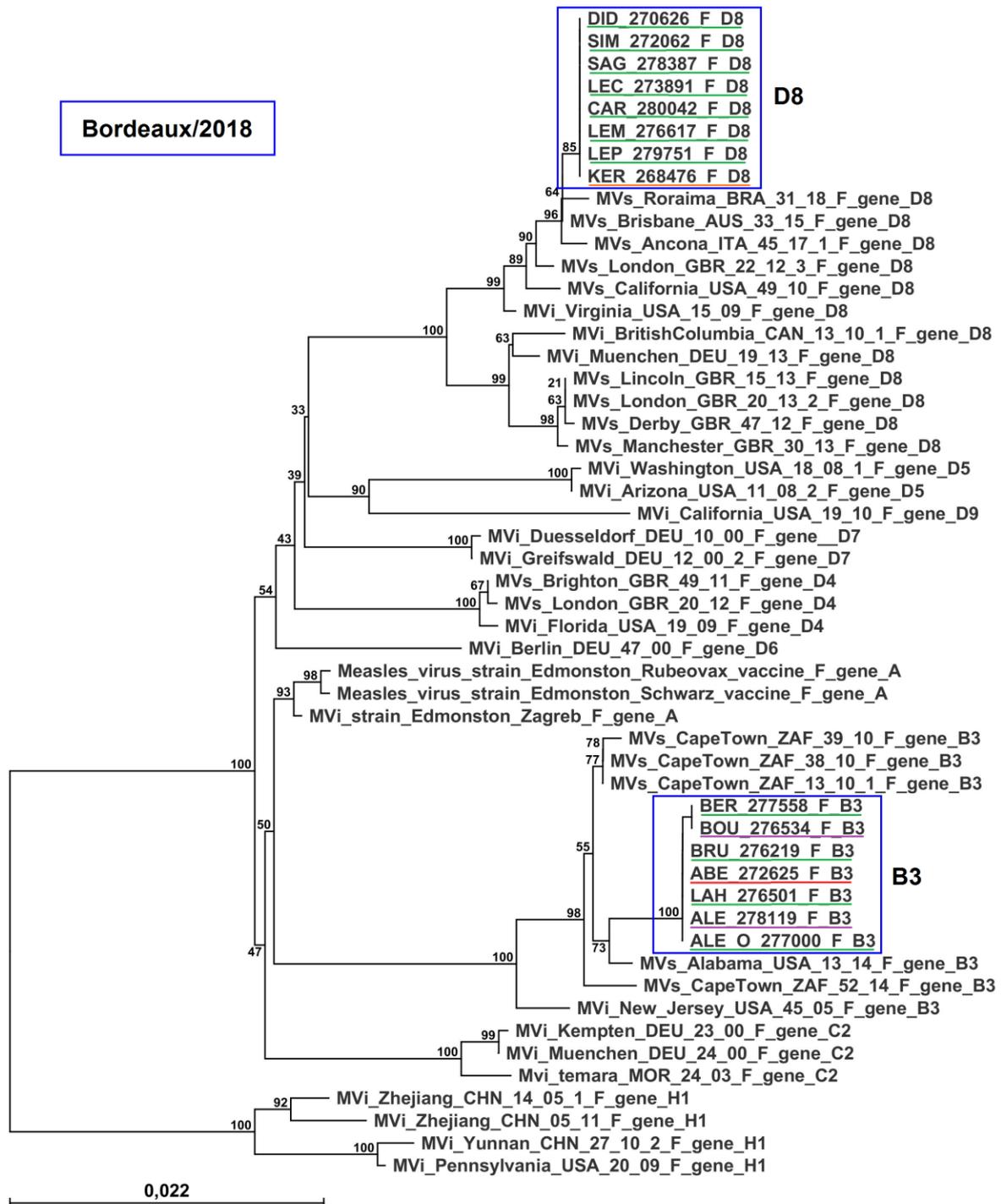
### III.3.1.2. Séquençage du gène F

Concernant le gène de la protéine de fusion F, les virus de rougeole issus de 4 patients ayant un profil sérologique atypique (IgG positives) et ceux retrouvés chez 12 patients avec un profil sérologique classique (IgG négatives) se regroupent sur la même branche aussi bien pour le génotype B3 que pour le génotype D8.

Nous avons observé une différence d'une paire de bases par rapport au reste des virus de génotype B3 du cluster Bordelais pour les patients BER\_277558 et BOU\_276534. Les prélèvements de ses deux patients ont été effectués à 11 jours d'intervalle. Il n'est pas exclu qu'il existe un lien épidémiologique entre les deux patients. A noter que l'un était *a priori* immunisé (Figure 21) au moment de l'infection (Ct = 22,74 cycles, J1 de l'éruption cutanée), et l'autre naïf de rougeole au moment de l'infection (Ct = 16,68 cycles, J3 de l'éruption cutanée). La variabilité du gène F semble être plus faible que celle du gène H [58].

Le séquençage de 4 virus rougeoleux de patients *a priori* immunisés contre la rougeole et 11 patients naïfs, indique que ces patients ont été infectés par des virus génétiquement peu distants du point de vue du gène F (Figure 21).

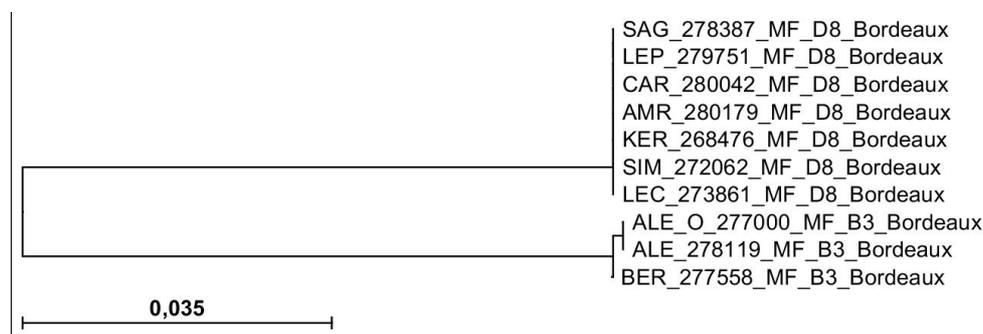
Figure 21 : Arbre phylogénétique montrant les séquences de 1649 paires de bases du gène F de 15 virus de rougeole ayant circulé pendant l'épidémie 2017-2018 retrouvés chez des patients avec des profils différents : soulignés en vert les patients avec des IgG négatives ; en rouge des IgG positives et deux doses de vaccin ; en orange des IgG positives et une dose de vaccin ; et en violet des IgG positives et non vaccinés. Il a été observé une différence d'une base pour 2 patients de génotype B3 comparé au reste du cluster. Cet arbre a été construit en utilisant la méthode du Neighbor-Joining, 1000 réplicats. Le pourcentage d'arbres de réplication dans lesquels les séquences sont associées en cluster est affiché à coté des branches. Les distances évolutives ont été calculées selon la méthode de Kimura à 2 paramètres. Les analyses évolutives ont été menées dans CLC Main Workbench 6.



### III.3.2. Séquençage de la région non codante MF par le CNR de Caen

Le séquençage de la région non codante MF de 1012 paires de base du virus de la rougeole par le CNR de Caen a confirmé l'homogénéité des séquences et un lien épidémiologique entre deux patients probablement de la même famille (Figure 22). Ces deux patients ont été prélevés et diagnostiqués à 11 jours d'écart, pour une seconde éruption apparue 12 jours après la première. Le diagnostic a été confirmé par RT-PCR pour les deux patients. Le premier ALE\_O\_277000 avait un profil de primo-infection rougeoleuse (IgM positives et IgG négatives à J0 de l'éruption cutanée). Le second patient ALE\_278119 avait un profil de réinfection (IgM négatives et IgG positives à J2 de l'éruption cutanée). Ce cas de rougeole avec une contamination familiale d'un sujet *a priori* immunisé par un sujet naïf, suggère que l'effet inoculum important de la contamination familiale pourrait expliquer la réinfection du second patient. L'hypothèse selon laquelle les cas de contamination intrafamiliale entraîneraient des rougeoles plus graves qu'en cas d'exposition extrafamiliale a été formulée [23], [59]. Il faut noter que le prélèvement du patient primo-infecté était plus concentré en virus (Ct = 17,23 cycles, J3 de l'éruption cutanée) que celui du patient *a priori* immunisé pourtant plus précoce (Ct = 23,28 cycles, J2 de l'éruption cutanée).

Figure 22 : Arbre phylogénétique montrant le séquençage par le CNR de la rougeole de Caen de la région non codante MF (1012pb) de 10 virus de rougeole envoyés par le laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux ayant circulés pendant l'épidémie 2017-2018. Toutes les séquences de génotype D8 sont identiques et les séquences de génotype B3 montrent une base de différence. Cet arbre a été construit en utilisant la méthode du Neighbor-Joining, 1000 répliquats. Les distances évolutives ont été calculées selon la méthode de Kimura à 2 paramètres. Toutes les positions ambiguës ont été supprimées pour chaque séquence de paires. Les analyses évolutives ont été menées dans MEGA X.



### III.4. Discussion : Séquençage des gènes H, F et de la région MF

Nous avons mis en évidence une grande homogénéité des séquences des gènes H et F entre les virus, qu'ils soient issus de patient *a priori* immunisés contre le virus de la rougeole ou non. Les glycoprotéines H et F sont la cible des anticorps neutralisants mais aussi nécessaires à la liaison aux récepteurs cellulaires. C'est pourquoi l'apparition de mutations au sein des épitopes neutralisants est interdite, car incompatible avec l'intégrité du site de liaison au récepteur. Tout virus émergent qui ne pourrait pas se lier au récepteur est éliminé lors du cycle infectieux suivant [58].

Le séquençage du CNR de la région non codante MF pour les mêmes virus a aussi révélé une homogénéité des séquences et un lien épidémiologique entre deux prélèvements issus de deux patients de la même famille qui n'avaient pas été révélé par le séquençage des deux autres gènes.

Dans cette étude génétique nous avons comparé uniquement des virus issus de patients de la même zone géographique. Il aurait été plus complet de comparer d'une part des virus d'épidémies distantes dans le temps ou dans l'espace, et d'autre part la proportion de cas de réinfections dans ces différentes épidémies selon le génotype. En effet si tous les cas de rougeole d'une épidémie sont dus à une seule souche de virus, d'éventuelles mutations responsables d'un échappement seraient retrouvées autant chez les sujets naïfs qu'immunisés.

Il est possible que l'apparente réinfection des cas atypiques soit simplement due à une absence de séroconversion pour les anticorps neutralisants, ou une décroissance de ce taux d'anticorps dans le temps, aboutissant à une protection insuffisante.

Au sujet de la comparaison des génotypes D8 et B3 avec la souche vaccinale, le pourcentage d'identité plus faible pour B3 est ininterprétable en l'état et d'autres études sont nécessaires pour pouvoir commenter ce résultat.

Il n'a pas été mis en évidence à notre connaissance de mutation dans le gène H ou F responsable d'un échappement à l'immunité de l'hôte ou retrouvée plus fréquemment dans les réinfections. L'interprétation des mutations entre les virus reste difficile, car le virus de la rougeole est considéré comme ayant un seul sérotype ce qui est attesté par le fait que le vaccin de génotype A protège contre l'ensemble des génotypes. C'est sans doute pourquoi 89% des infections pendant l'épidémie de rougeole 2017-2018 ont été déclarées chez des patients insuffisamment ou non vaccinés. Le vaccin de génotype A a donc protégé la population des génotypes D8 et B3 qui ont circulé.

Dans l'hypothèse probable où des mutations dans les gènes F et H des glycoprotéines de surface qui servent de support à la synthèse d'anticorps neutralisants pourraient effectivement favoriser l'échappement du virus à l'immunité, d'autres facteurs interviennent dans la clairance du virus. Par exemple le gène P a aussi un rôle dans la résistance à l'immunité, le virus induit une action anti-IFN par l'intermédiaire des deux protéines non-structurales V et C codées par ce gène P qui bloquent les voies de signalisations de la synthèse des interférons [60]. Il est possible également que la région non codante MF dont le rôle n'est pas encore connu ait une activité modulatrice. Il est important de souligner que si l'immunité humorale a un rôle majeur dans la protection contre le virus, l'immunité cellulaire est aussi importante dans sa réponse immédiate et adaptative pour la clairance du virus et la protection à long terme.

Les facteurs favorisant liés à l'hôte sont aussi à prendre en compte comme son état immunitaire. Il en découle certaines hypothèses : l'histoire immunologique vis-à-vis d'un virus d'un génotype particulier pourrait moins l'immuniser et rendre possible la réinfection par un autre génotype. De la même manière la pression des anticorps neutralisants dans la population pourrait favoriser l'émergence d'un génotype par rapport à un autre et expliquer l'alternance des génotypes avec l'apparition de certains et la disparition d'autres.

## Conclusion

---

L'épidémie de rougeole importante en Nouvelle-Aquitaine et au CHU de Bordeaux en 2017-2018 a eu un retentissement important sur l'activité du laboratoire de virologie (augmentation du nombre d'analyses) et du CHU de Bordeaux (gestion d'épidémie, cas nosocomiaux, cas professionnels, augmentation de l'activité).

Nous avons observé des cas cliniques particuliers (deux décès en Nouvelle-Aquitaine) et des cas probables de réinfection (détection du virus par RT-PCR chez des patients *a priori* immunisés). Ces réinfections étaient caractérisées par un taux d'IgM plus faible (Figure 17), et des concentrations en virus diminuées par rapport aux sujets non immunisés (III.3.2). Un cas de réinfection lors d'une exposition intrafamiliale pourrait renforcer l'hypothèse d'un « effet inoculum » ou de « surpeuplement » qui peut être un facteur favorisant la réinfection [23]. Aucune différence de séquence dans les gènes F, H ou dans la région non codante MF n'a pu être reliée à un cas de réinfection probable.

La surreprésentation du génotype B3 parmi les cas de réinfections probables et la tendance à un taux d'IgM plus faible dans la réponse au virus de ce génotype suggère qu'il est peut-être plus susceptible d'échapper à l'immunité. Cette hypothèse reste à explorer.

Le génotypage réalisé au CNR (gène N) a confirmé la présence de deux pics épidémiques. Le séquençage effectué au laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux (gène H et F) a révélé une grande homogénéité des séquences, quel que soit le statut sérologique des patients. Le séquençage de la région non codante MF par le CNR a révélé un lien épidémiologique entre deux patients qui n'avait pas été observé au séquençage des gènes H et F. Cette étude encore limitée (faible nombre de patients, zone géographique restreinte, séquençage de 2 gènes) est à poursuivre en association avec le CNR de la rougeole de Caen à plus grande échelle.

Cette étude est une bonne illustration des données de la littérature : le virus de la rougeole, malgré un vaccin efficace et la surveillance dont il fait l'objet, continue de circuler en 2019. Il circulera en France, en Europe et dans le monde tant que la couverture vaccinale n'atteindra pas 95% de seconde dose avant l'âge de 2 ans. La circulation du virus peut être comme en 2017-2018 d'ampleur importante et entraîner de nombreuses hospitalisations et des décès. C'est un virus qui est facilement importable grâce à son fort taux de réplication ( $R_0 = 15-20$ ) dans les pays et les régions qui ont éradiqué le virus. A l'image de la France où aucun département indemne de la rougeole ne peut se considérer à l'abri, aucun pays indemne de la rougeole n'est à l'abri d'une nouvelle circulation du virus. C'est ainsi que le Brésil et le Venezuela ont été retirés de la liste des pays ayant éliminé la rougeole, sur un continent qui avait été déclaré indemne de la rougeole en 2016.

## Références bibliographiques

---

- [1] « Épidémie de rougeole en France. Actualisation des données de surveillance au 13 février 2017. / Archives / Points d'actualités / Rougeole / Maladies à prévention vaccinale / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil ». [En ligne]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Rougeole/Points-d-actualites/Archives/Epidemie-de-rougeole-en-France.-Actualisation-des-donnees-de-surveillance-au-13-fevrier-2017>. [Consulté le: 06-avr-2019].
- [2] « Bulletin épidémiologique rougeole. Données de surveillance au 12 juin 2018. / Points d'actualités / Rougeole / Maladies à prévention vaccinale / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil ». [En ligne]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Rougeole/Points-d-actualites/Bulletin-epidemiologique-rougeole.-Donnees-de-surveillance-au-12-juin-2018>. [Consulté le: 01-août-2018].
- [3] W. J. Moss, « Measles », *Lancet*, vol. 390, n° 10111, p. 2490-2502, déc. 2017.
- [4] F. Freymuth, J. Dina, I. P. du Chatelet, B. Mourez, D. Waku-Kouomou, et A. Vabret, « La rougeole et son virus », *Virologie*, vol. 15, n° 1, p. 6-22, mars 2011.
- [5] « MeaNS - Measles Nucleotide Surveillance ». [En ligne]. Disponible sur: [http://who-measles.org/Public/Data\\_Mnt/who\\_map.php](http://who-measles.org/Public/Data_Mnt/who_map.php). [Consulté le: 20-déc-2018].
- [6] World Health Organization, « Measles vaccines: WHO position paper, April 2017 – Recommendations », *Vaccine*, vol. 37, n° 2, p. 219-222, janv. 2019.
- [7] Société française de microbiologie, *Referentiel en microbiologie médicale 5.2*, 5eme édition 2015., vol. tome II, 2 vol. 2015.
- [8] « WHO EpiBrief No. 2/2014 », 21-janv-2019. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/vaccines-and-immunization/publications/surveillance-and-data/who-epibrief/who-epibrief-no.-22014>.
- [9] N. Ono, H. Tatsuo, Y. Hidaka, T. Aoki, H. Minagawa, et Y. Yanagi, « Measles viruses on throat swabs from measles patients use signaling lymphocytic activation molecule (CDw150) but not CD46 as a cellular receptor », *J. Virol.*, vol. 75, n° 9, p. 4399-4401, mai 2001.
- [10] World Health Organization, « Immunological basis for immunization: Measles (Update 2009) », *WHO*. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.who.int/immunization/documents/ISBN9789241597555/en/>.
- [11] R. T. Chen *et al.*, « Measles antibody: reevaluation of protective titers », *J. Infect. Dis.*, vol. 162, n° 5, p. 1036-1042, nov. 1990.
- [12] F. Kobune, H. Sakata, et A. Sugiura, « Marmoset lymphoblastoid cells as a sensitive host for isolation of measles virus », *J. Virol.*, vol. 64, n° 2, p. 700-705, févr. 1990.
- [13] L. M. Esolen, S. W. Park, J. M. Hardwick, et D. E. Griffin, « Apoptosis as a cause of death in measles virus-infected cells », *J. Virol.*, vol. 69, n° 6, p. 3955-3958, juin 1995.
- [14] J. L. McKimm-Breschkin, A. M. Breschkin, et F. Rapp, « Characterization of the Hallé SSPE measles virus isolate », *J. Gen. Virol.*, vol. 59, n° Pt 1, p. 57-64, mars 1982.
- [15] HCSP, « Évolution de la stratégie de gestion en cas d'épidémie de rougeole », Haut Conseil de la Santé Publique, Paris, avr. 2018.
- [16] « Bulletin épidémiologique rougeole. Données de surveillance au 19 septembre 2018. / Points d'actualités / Rougeole / Maladies à prévention vaccinale / Maladies infectieuses /

Dossiers thématiques / Accueil ». [En ligne]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Rougeole/Points-d-actualites/Bulletin-epidemiologique-rougeole.-Donnees-de-surveillance-au-19-septembre-2018>. [Consulté le: 20-sept-2018].

- [17] P. Mitchell, N. Turner, L. Jennings, et H. Dong, « Previous vaccination modifies both the clinical disease and immunological features in children with measles », *J Prim Health Care*, vol. 5, n° 2, p. 93-98, juin 2013.
- [18] J. B. Rosen *et al.*, « Outbreak of measles among persons with prior evidence of immunity, New York City, 2011 », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 58, n° 9, p. 1205-1210, mai 2014.
- [19] H. Jia *et al.*, « Transmission of measles among healthcare Workers in Hospital W, Xinjiang Autonomous Region, China, 2016 », *BMC Infect. Dis.*, vol. 18, n° 1, p. 36, déc. 2018.
- [20] R. Sá Machado *et al.*, « Measles outbreak in a tertiary level hospital, Porto, Portugal, 2018: challenges in the post-elimination era », *Euro Surveill.*, vol. 23, n° 20, mai 2018.
- [21] S. J. M. Hahné *et al.*, « Measles Outbreak Among Previously Immunized Healthcare Workers, the Netherlands, 2014 », *J. Infect. Dis.*, vol. 214, n° 12, p. 1980-1986, déc. 2016.
- [22] R. Ma *et al.*, « A measles outbreak in a middle school with high vaccination coverage and evidence of prior immunity among cases, Beijing, P.R. China », *Vaccine*, vol. 34, n° 15, p. 1853-1860, avr. 2016.
- [23] R. T. Perry et N. A. Halsey, « The clinical significance of measles: a review », *J. Infect. Dis.*, vol. 189 Suppl 1, p. S4-16, mai 2004.
- [24] « Measles: Clinical manifestations, diagnosis, treatment, and prevention - UpToDate ». [En ligne]. Disponible sur: [https://www.uptodate.com/contents/measles-clinical-manifestations-diagnosis-treatment-and-prevention?search=measles&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/measles-clinical-manifestations-diagnosis-treatment-and-prevention?search=measles&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1). [Consulté le: 07-juin-2018].
- [25] A. Baldolli *et al.*, « Measles inclusion-body encephalitis (MIBE) in a immunocompromised patient », *J. Clin. Virol.*, vol. 81, p. 43-46, aout 2016.
- [26] J. C. M. MSc, G. J. D.-H. MD, S. L. K. MD, W. J. S. MD, et P. J. H. M. PhD, *Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases: 2-Volume Set*, 8 edition. Elsevier, 2018.
- [27] R. T. Johnson *et al.*, « Measles Encephalomyelitis — Clinical and Immunologic Studie », *New England Journal of Medicine*, vol. 310, n° 3, p. 137-141, janv. 1984.
- [28] D. E. Griffin, « Measles virus and the nervous system », *Handb Clin Neurol*, vol. 123, p. 577-590, juillet 2014.
- [29] R. K. Garg, « Subacute sclerosing panencephalitis », *J. Neurol.*, vol. 255, n° 12, p. 1861-1871, déc. 2008.
- [30] D. E. Griffin et M. B. A. Oldstone, Éd., *Measles: pathogenesis and control*. Berlin: Springer, 2009.
- [31] I. U. Ogbuanu *et al.*, « Maternal, fetal, and neonatal outcomes associated with measles during pregnancy: Namibia, 2009-2010 », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 58, n° 8, p. 1086-1092, avr. 2014.
- [32] HCSP, « Problématique de la rougeole chez la femme enceinte », Haut Conseil de la Santé Publique, Paris, mai 2011.

- [33]H. Okada *et al.*, « Extensive lymphopenia due to apoptosis of uninfected lymphocytes in acute measles patients », *Arch. Virol.*, vol. 145, n° 5, p. 905-920, mai 2000.
- [34]L. J. Kaplan, R. S. Daum, M. Smaron, et C. A. McCarthy, « Severe measles in immunocompromised patients », *JAMA*, vol. 267, n° 9, p. 1237-1241, mars 1992.
- [35]C. Colomba, L. Saporito, C. Gioè, F. Tramuto, A. Firenze, et A. Cascio, « Fatal measles as AIDS presentation in Italy », *HIV Med.*, janv. 2019.
- [36]J. C. Butler *et al.*, « Measles severity and serum retinol (vitamin A) concentration among children in the United States », *Pediatrics*, vol. 91, n° 6, p. 1176-1181, juin 1993.
- [37]P. P. Glasziou et D. E. Mackerras, « Vitamin A supplementation in infectious diseases: a meta-analysis », *BMJ*, vol. 306, n° 6874, p. 366-370, févr. 1993.
- [38]G. D. Hussey et M. Klein, « A randomized, controlled trial of vitamin A in children with severe measles », *N. Engl. J. Med.*, vol. 323, n° 3, p. 160-164, juill. 1990.
- [39]« WHO | 24 July 2015, vol. 90, 30 (pp. 373–380) », *WHO*. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.who.int/wer/2015/wer9030/en/>. [Consulté le: 29-juin-2018].
- [40]Direction générale de la santé, « Instruction du 28 septembre 2018 relative à la conduite à tenir autour d'un ou plusieurs cas de rougeole », Instruction DGS/SP/SP1/2018/205, sept. 2018.
- [41]« LIAISON® Measles IgM ([REF] 318820) ». .
- [42]« LIAISON® Measles IgG ([REF] 318810) ». .
- [43]« Epidémiologie de la rougeole en France. Données de surveillance au 12 février 2018. / Archives / Points d'actualités / Rougeole / Maladies à prévention vaccinale / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil ». [En ligne]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Rougeole/Points-d-actualites/Archives/Epidemiologie-de-la-rougeole-en-France.-Donnees-de-surveillance-au-12-fevrier-2018>. [Consulté le: 06-avr-2019].
- [44]DICOM\_Jocelyne.M, « Calendrier des vaccinations 2018 », *Ministère des Solidarités et de la Santé*, 12-févr-2018. [En ligne]. Disponible sur: <https://solidarites-sante.gouv.fr/actualites/presse/communiqués-de-presse/article/calendrier-des-vaccinations-2018>.
- [45]E. E. Seagle *et al.*, « Measles, mumps, and rubella antibody patterns of persistence and rate of decline following the second dose of the MMR vaccine », *Vaccine*, vol. 36, n° 6, p. 818-826, janv. 2018.
- [46]M. S. Dine, S. S. Hutchins, A. Thomas, I. Williams, W. J. Bellini, et S. C. Redd, « Persistence of vaccine-induced antibody to measles 26-33 years after vaccination », *J. Infect. Dis.*, vol. 189 Suppl 1, p. S123-130, mai 2004.
- [47]A. P. Fiebelkorn *et al.*, « Measles Virus Neutralizing Antibody Response, Cell-Mediated Immunity, and Immunoglobulin G Antibody Avidity Before and After Receipt of a Third Dose of Measles, Mumps, and Rubella Vaccine in Young Adults », *J. Infect. Dis.*, vol. 213, n° 7, p. 1115-1123, avr. 2016.
- [48]Service d'hygiène hospitalière, « Retour d'expérience : implication des hygiénistes dans l'épidémie de rougeole », CHU de Bordeaux, Direction générale, janv. 2019.
- [49]« Bulletin épidémiologique rougeole. Données de surveillance au 11 juillet 2018. / Points d'actualités / Rougeole / Maladies à prévention vaccinale / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil ». [En ligne]. Disponible sur: [Jacques FOURGEAUD | Thèse d'exercice | Université de Limoges | 2019  
Licence CC BY-NC-ND 3.0](http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-</a></p>
</div>
<div data-bbox=)

a-prevention-vaccinale/Rougeole/Points-d-actualites/Bulletin-epidemiologique-rougeole.-Donnees-de-surveillance-au-11-juillet-2018. [Consulté le: 30-juill-2018].

- [50] European Centre for Disease Prevention and Control, « Monthly Measles and Rubella monitoring report », p. 8, juill 2018.
- [51] « Bulletin de santé publique Nouvelle Aquitaine. Avril 2018. / Nouvelle Aquitaine / Tous les numéros / Bulletin de veille sanitaire / Publications et outils / Accueil ». [En ligne]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Bulletin-de-veille-sanitaire/Tous-les-numeros/Nouvelle-Aquitaine/Bulletin-de-sante-publique-Nouvelle-Aquitaine.-Avril-2018>. [Consulté le: 12-mars-2019].
- [52] « Bulletin épidémiologique rougeole. Données de surveillance au 27 juin 2018. / Points d'actualités / Rougeole / Maladies à prévention vaccinale / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil ». [En ligne]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Rougeole/Points-d-actualites/Bulletin-epidemiologique-rougeole.-Donnees-de-surveillance-au-27-juin-2018>. [Consulté le: 12-mars-2019].
- [53] « Surveillance de la rougeole en région Nouvelle-Aquitaine. Point épidémiologique au 27 juin 2018. / 2018 / Aquitaine / Limousin / Poitou-Charentes / Tous les numéros / Points épidémiologiques / Publications et outils / Accueil ». [En ligne]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr/Publications-et-outils/Points-epidemiologiques/Tous-les-numeros/Aquitaine-Limousin-Poitou-Charentes/2018/Surveillance-de-la-rougeole-en-region-Nouvelle-Aquitaine.-Point-epidemiologique-au-27-juin-2018>. [Consulté le: 12-mars-2019].
- [54] « Bulletin épidémiologique rougeole. Données de surveillance au 30 mai 2018. / Points d'actualités / Rougeole / Maladies à prévention vaccinale / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil ». [En ligne]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Rougeole/Points-d-actualites/Bulletin-epidemiologique-rougeole.-Donnees-de-surveillance-au-30-mai-2018>. [Consulté le: 13-mars-2019].
- [55] S. B. Sowers *et al.*, « High Concentrations of Measles Neutralizing Antibodies and High-Avidity Measles IgG Accurately Identify Measles Reinfection Cases », *Clin. Vaccine Immunol.*, vol. 23, n° 8, p. 707-716, août 2016.
- [56] « GenBank Overview ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>. [Consulté le: 21-janv-2019].
- [57] J. S. Rota, K. B. Hummel, P. A. Rota, et W. J. Bellini, « Genetic variability of the glycoprotein genes of current wild-type measles isolates. », *Virology*, vol. 188, n° 1, p. 135-142, mai 1992.
- [58] B. Grigorov et D. Gerlier, « Récepteurs cellulaires du virus de la rougeole et dissémination in vivo », *Virologie*, vol. 14, n° 5, p. 322-333, sept. 2010.
- [59] M. A. Koenig, D. Bishai, et M. A. Khan, « Health Interventions and Health Equity: The Example of Measles Vaccination in Bangladesh », *Population and Development Review*, vol. 27, n° 2, p. 283-302, juin 2001.
- [60] J. M. Fontana, B. Bankamp, W. J. Bellini, et P. A. Rota, « Regulation of interferon signaling by the C and V proteins from attenuated and wild-type strains of measles virus », *Virology*, vol. 374, n° 1, p. 71-81, avr. 2008.
- [61] « Maladie à déclaration obligatoire - Rougeole ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.service-public.fr/professionnels-entreprises/vosdroits/R17773>.

## Annexes

---

Annexe 1. Séquences de référence des 24 géotypes de virus rougeoleux .....	81
Annexe 2. Fiche de déclaration rougeole .....	82

## Annexe 1. Séquences de référence des 24 génotypes de virus rougeoleux

Figure 23 : Séquences de référence des 24 génotypes de virus rougeoleux selon l'OMS [39]

Genotype – Génotype	Last detected <sup>b</sup> – Dernière détection <sup>b</sup>	Reference strain – Souche de référence	GenBank H <sup>d</sup>	GenBank N <sup>d</sup>
A	2008	MVi/Maryland.USA/0.54	U03669	U01987
B1 <sup>c</sup>	1983	MVi/Yaounde.CMR./12.83	AF079552	U01998
B2	2011	MVi/Libreville.GAB/0.84	L46753	U01994
B3	Ongoing – Actuel	MVi/New York.USA/0.94	L46752	L46753
		MVi/Ibadan.NGA/0.97/1	AJ239133	AJ232203
C1 <sup>c</sup>	1992	MVi/Tokyo.JPN/0.84	AY047365	AY043459
C2 <sup>c</sup>	2004	MVi/Maryland.USA/0.77	M81898	M89921
		MVi/Erlangen.DEU/0.90	Z80808	X84872
D1 <sup>c</sup>	1986	MVi/Bristol.GBR/0.74	Z80805	D01005
D2 <sup>c</sup>	2005	MVi/Johannesburg.ZAF/0.88/1	AF085498	U64582
D3 <sup>c</sup>	2004	MVi/Illinois.USA/0.89/1	M81895	U01977
D4	Ongoing – Actuel	MVi/Montreal.CAN/0.89	AF079554	U01976
D5	2009	MVi/Palau.PLW/0.93	L46757	L46758
		MVi/Bangkok.THA/12.93/1	AF009575	AF079555
D6	2007	MVi/New Jersey.USA/0.94/1	L46749	L46750
D7	2007	MVi/Victoria.AUS/16.85	AF247202	AF243450
		MVi/Illinois.USA/50.99	AY043461	AY037020
D8	Ongoing – Actuel	MVi/Manchester.GBR/30.94	U29285	AF280803
D9	Ongoing – Actuel	MVi/Victoria.AUS/12.99	AY127853	AF481485
D10	2005	MVi/Kampala.UGA/51.00/1	AY923213	AY923185
D11	2010	MVi/Menglian.Yunnan.CHN/47.09	GU440576	GU440571
E <sup>c</sup>	1987	MVi/Goettingen.DEU/0.71	Z80797	X84879
F <sup>c</sup>	1994	MVs/Madrid.ESP/0.94 [SSPE]	Z80830	X84865
G1 <sup>c</sup>	1983	MVi/Berkeley.USA/0.83	AF079553	U01974
G2 <sup>c</sup>	2004	MVi/Amsterdam.NLD/49.97	AF171231	AF171232
G3	Ongoing – Actuel	MVi/Gresik.IDN/18.02	AY184218	AY184217
H1	Ongoing – Actuel	MVi/Hunan.CHN/0.93/7	AF045201	AF045212
H2 <sup>c</sup>	2003	MVi/Beijing.CHN/0.94/1	AF045203	AF045217

## Annexe 2. Fiche de déclaration rougeole

Figure 24 : Formulaire de déclaration obligatoire de la Rougeole - Cerfa n°1254\*03 [61]

République française		
<b>Médecin ou biologiste déclarant (tampon)</b> Nom : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____ Signature : _____	<b>Si notification par un biologiste</b> Nom du clinicien : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p style="text-align: center; font-size: small;">Maladie à déclaration obligatoire</p> <p style="text-align: center; font-size: x-small;"><b>cerfa</b></p> <p style="text-align: center; font-size: x-small;">N° 12554*03</p> <p style="text-align: center; font-weight: bold; font-size: large;">Rougeole</p> <p style="font-size: x-small;">Important : tout cas de rougeole, clinique ou confirmé, doit être signalé immédiatement au moyen de cette fiche ou par tout moyen approprié (téléphone, télécopie...) au médecin de l'ARS sans attendre les résultats biologiques. Cette maladie visant à être éliminée en France, toute forme clinique devrait bénéficier d'un test biologique qui seul permettra d'affirmer le diagnostic.</p> </div>
Initiale du nom : <input type="checkbox"/> Prénom : _____ Sexe : <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F Date de naissance : _____		
Code d'anonymat : _____ (A établir par l'ARS) Date de la notification : _____		
<hr/> Code d'anonymat : _____ (A établir par l'ARS) Date de la notification : _____		
<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F Date de naissance : _____ Code postal du domicile du patient : _____		
<b>Signes cliniques :</b> Date du début de l'éruption : _____ Fièvre $\geq 38,5$ °C : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Exanthème maculo-papuleux : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Généralisé : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Toux : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Conjonctivite : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Coryza : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Présence du signe de Koplik : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Hospitalisation : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Si oui, préciser la date de l'hospitalisation : _____ Lieu de l'hospitalisation : _____ Séjour en réanimation : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Complications : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Si oui : <input type="checkbox"/> encéphalite <input type="checkbox"/> pneumopathie <input type="checkbox"/> autres, préciser : _____ Evolution (à la date de la notification) : <input type="checkbox"/> encore malade <input type="checkbox"/> guéri <input type="checkbox"/> décès Si décès, date : _____		<p style="text-align: center; font-weight: bold;">Rougeole</p> <p style="font-size: x-small;"><b>Critères de notification</b></p> <p style="font-size: x-small;">* Cas clinique : fièvre <math>\geq 38,5</math> °C associée à une éruption maculo-papuleuse et à au moins un des signes suivants : conjonctivite, coryza, toux, signe de Koplik.</p> <p style="font-size: x-small;">* Cas confirmé :                      - cas confirmé biologiquement (détection d'IgM spécifiques* dans la salive ou le sérum et/ou séroconversion ou élévation de quatre fois au moins du titre des IgG* et/ou PCR positive et/ou culture positive) ou                      - cas clinique ayant été en contact dans les 7 à 18 jours avant le début de l'éruption avec un cas confirmé.                      * en l'absence de vaccination récente</p>
<b>Confirmation du diagnostic :</b> Confirmation biologique demandée : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Si oui : <input type="checkbox"/> recherche d'IgM salivaires : <input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> en cours Date du prélèvement : _____ <input type="checkbox"/> recherche d'IgM sériques : <input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> en cours Date du prélèvement : _____ <input type="checkbox"/> séroconversion, ascension des IgG : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> en cours Date du premier prélèvement : _____ Date du dernier prélèvement : _____ <input type="checkbox"/> PCR/isolement du virus Spécimen : _____ <input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> en cours Date du prélèvement : _____		
<b>Origine possible de la contamination :</b> Séjour à l'étranger dans les 7 à 18 jours avant le début de l'éruption : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> ne sait pas Si oui, préciser le pays : _____ Contact avec un cas de rougeole 7 à 18 jours avant le début de l'éruption : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> ne sait pas Si oui, lieu : <input type="checkbox"/> famille <input type="checkbox"/> lieu de garde <input type="checkbox"/> école <input type="checkbox"/> autres, préciser : _____ S'agit-il d'un cas confirmé : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> ne sait pas Si "ne sait pas", l'ARS peut-elle authentifier que ce contact était un cas confirmé : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non (information à renseigner par l'ARS) Autres cas dans l'entourage : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> ne sait pas Si oui : lieu : <input type="checkbox"/> famille <input type="checkbox"/> lieu de garde <input type="checkbox"/> école <input type="checkbox"/> autres, préciser : _____ Avez-vous connaissance d'un sujet à risque de rougeole grave dans l'entourage familial du cas (en particulier femme enceinte, nourrisson, immunodéprimé) : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Le cas fréquente-t-il une collectivité accueillant des sujets à risque de rougeole grave : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Si oui : <input type="checkbox"/> structure d'accueil de la petite enfance <input type="checkbox"/> milieu de soins <input type="checkbox"/> autre, préciser : _____ Avez-vous connaissance d'un projet de voyage hors métropole du cas pendant sa période de contagiosité : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Si oui, préciser la destination : _____		
<b>Antécédents vaccinaux :</b> Le sujet est-il vacciné contre la rougeole : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> statut vaccinal inconnu Si oui : <input type="checkbox"/> avec 1 dose <input type="checkbox"/> avec 2 doses Date de la dernière dose : _____ Informations recueillies d'après : <input type="checkbox"/> Interrogatoire <input type="checkbox"/> carnet de santé ou de vaccination/dossier médical		
Souhaitez-vous recevoir des kits pour prélèvements et envois d'échantillons de salive au CNR (recherche d'IgM/PCR) : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Si oui, combien : _____		
<b>Médecin ou biologiste déclarant (tampon)</b> Nom : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____ Signature : _____	<b>Si notification par un biologiste</b> Nom du clinicien : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____	<b>ARS (signature et tampon)</b> _____ _____
Maladie à déclaration obligatoire (Art L 3113-1, R 3113-1, R 3113-2, R 3113-5, R 3113-7 du Code de la santé publique) Information individuelle des personnes - Droit d'accès et de rectification pendant 6 mois par le médecin déclarant (loi du 6 janvier 1978) - Centralisation des informations à l'Institut de veille sanitaire		

## Serment De Galien

---

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

## Épidémie de Rougeole 2017-2018 en Nouvelle Aquitaine : Point de vue du Laboratoire de Virologie

---

**Introduction** En France, une forte recrudescence de la rougeole a été observée depuis novembre 2017. Au Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux devant des suspicions de réinfection et des cas graves, les caractéristiques biologiques des cas confirmés et les souches de virus rougeoleux des patients séropositifs en IgG dès l'apparition de l'éruption cutanée ont été étudiées. **Matériel et méthodes** 214 prélèvements positifs en RT-PCR et/ou en sérologie vis-à-vis de la rougeole ont été étudiés. Parmi 106 patients qui avaient une RT-PCR positive et une sérologie, 17 virus issus de patients *a priori* immunisés ont été sélectionnés (antécédent de vaccination ou RT-PCR positive associée à des IgG positives > 30 UA/ml sur un prélèvement datant de moins de 4 jours après l'éruption). Le gène H de 16 virus et le gène F de 15 virus a été séquencé, chez des patients *a priori* immunisés et non immunisés. **Résultats** Parmi 214 cas confirmés, 129 échantillons ont été génotypés par le CNR, montrant 94 (65%) souches de génotype D8 et 35 (24%) de génotype B3. Parmi 17 cas *a priori* immunisés : 11(65%), 5 (29%) et 1(6%) avaient respectivement des IgM négatives, positives et douteuses. 7/35 virus de génotype B3 et 5/94 virus de génotype D8 ont été retrouvés chez des patients *a priori* immunisés. Le séquençage des gènes F et H des virus de génotypes B3 et D8 a révélé une grande homogénéité des séquences. **Conclusions** Pour les cas *a priori* immunisés, les IgM sont inconstamment présentes, les virus de génotype B3 sont surreprésentés ( $P=0,017$ ) et il n'y a pas de différence dans les séquences des gènes H et F quel que soit le statut immunologique de l'hôte.

---

Mots-clés : Rougeole, Epidémie, Immunité, Sérologie, Génotype, Séquençage

## Measles outbreak in Nouvelle-Aquitaine Region, France: A virology laboratory point of view

---

**Introduction** A recrudescence of measles cases has been reported in France since November 2017. Suspicions of reinfection and severe cases have been reported at the University Hospital of Bordeaux. We studied this measles outbreak from a biological perspective and characterized measles virus strains identified in IgG-positive patients at rash onset. **Material and methods** 214 measles-positive samples (RT-PCR assay and / or serology) were investigated. Among 106 positives RT-PCR, 17 strains were selected from previously immunized patients (detection of IgG > 30 AU/ml in a serum collected  $\leq 4$  days after rash onset or previous vaccination). H gene was sequenced for 16 viruses and F gene for 15 viruses in both *a priori* immunized and non-immunized patients. **Results** Among 214 confirmed measles cases, 129 samples were genotyped by the CNR : 94 (65%) belonged to D8 genotype and 35 (24%) to B3. Of 17 *a priori* immunized cases: 11 (65%), 5 (29%) and 1(6%) had respectively negative, positive and equivocal IgM. In *a priori* immunized group, 7/35 viruses of genotype B3 and 5/94 viruses of genotype D8 were found. Sequencing of F and H genes in B3 and D8 genotyped viruses revealed very few differences. **Conclusions** For *a priori* immunized cases at rash onset, IgM detection is inconsistent, genotype B3 viruses are overrepresented ( $P=0,017$ ) and there is no difference in the H and F gene sequences regardless of the immunological status.

---

Keywords : Measles, Outbreak, Immunity, Serology, Genotype, Sequencing

