

27 - 29 Septembre 2012
Villa Massalia - Marseille

Arboviroses émergentes en France



Pr. Rémi CHARREL

Aix Marseille Université, IRD (Institut de Recherche pour le Développement), EHESP (Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique), & IHU Méditerranée Infection, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, UMR_D 190 "Emergence des Pathologies Virales", 13005, Marseille, France

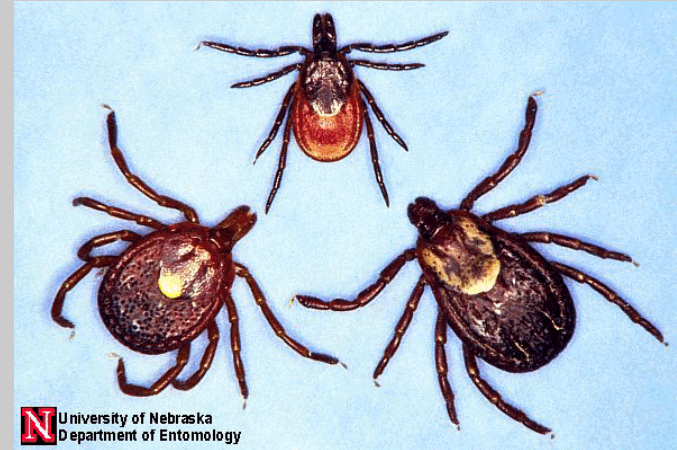
Common characteristics of emerging viruses

	RNA genome	Southern countries	Zoonosis Arbovirus	BSL
rotavirus				
Ebola				
Hantaan				
HTLV-1				
HIV				
Hepatitis E				
Hepatitis C				
Guanarito / Machupo				
Sin Nombre				
Hendra				
influenza				
Nipah				
RVFV				
Chikungunya				
West Nile				
SARS-CoV				
dengue				
JE				
monkeypox				
herpesvirus-8				

Examples of Arthropod Vectors



Aedes aegypti



University of Nebraska
Department of Entomology

Ticks



Phlebotomine Sand fly

Culex

Agents des Fièvres Hémorragiques

FAMILLE

TRANSMISSION

VIRUS EN CAUSE

Flaviviridae

Moustiques

ARBOVIRUS

Fièvre jaune

Dengue

Tiques

FH d'Omsk

Bunyaviridae

Moustiques

FH Crimée Congo

Déjection de
Rongeurs

Hantavirus

Arenaviridae

Déjection de
Rongeurs

Lassa; Junin;
Machupo; ...

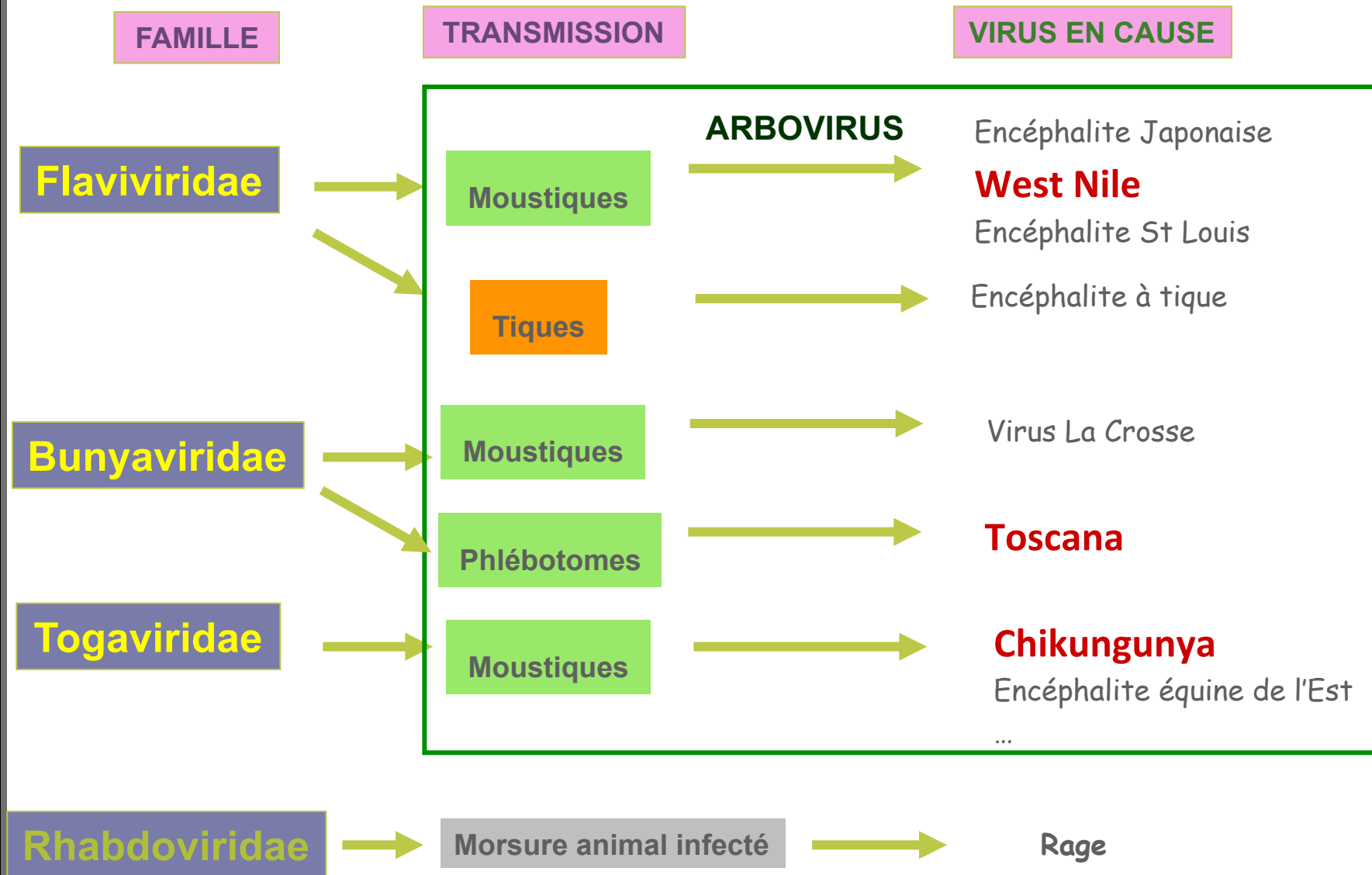
Filoviridae

Inconnu en 1ere intention,
Nosocomiale

Ebola

Marburg

Agents Responsables d'Encéphalites



Syndromes cliniques

Toscana, West Nile, dengue, chikungunya

- Fever and rash
 - non-specific illness resembling many other viral illnesses such as influenza, rubella, and enterovirus infections.
 - In most cases: self-resolutive, no complications
 - Sometimes, evolution towards severe forms
- Meningitis & encephalitis — Toscana virus, West Nile
- Haemorrhagic fever - dengue, chikungunya

Moustiques du genre *Aedes*

Aedes albopictus

- *Dengue*
- *Chikungunya*



La dengue

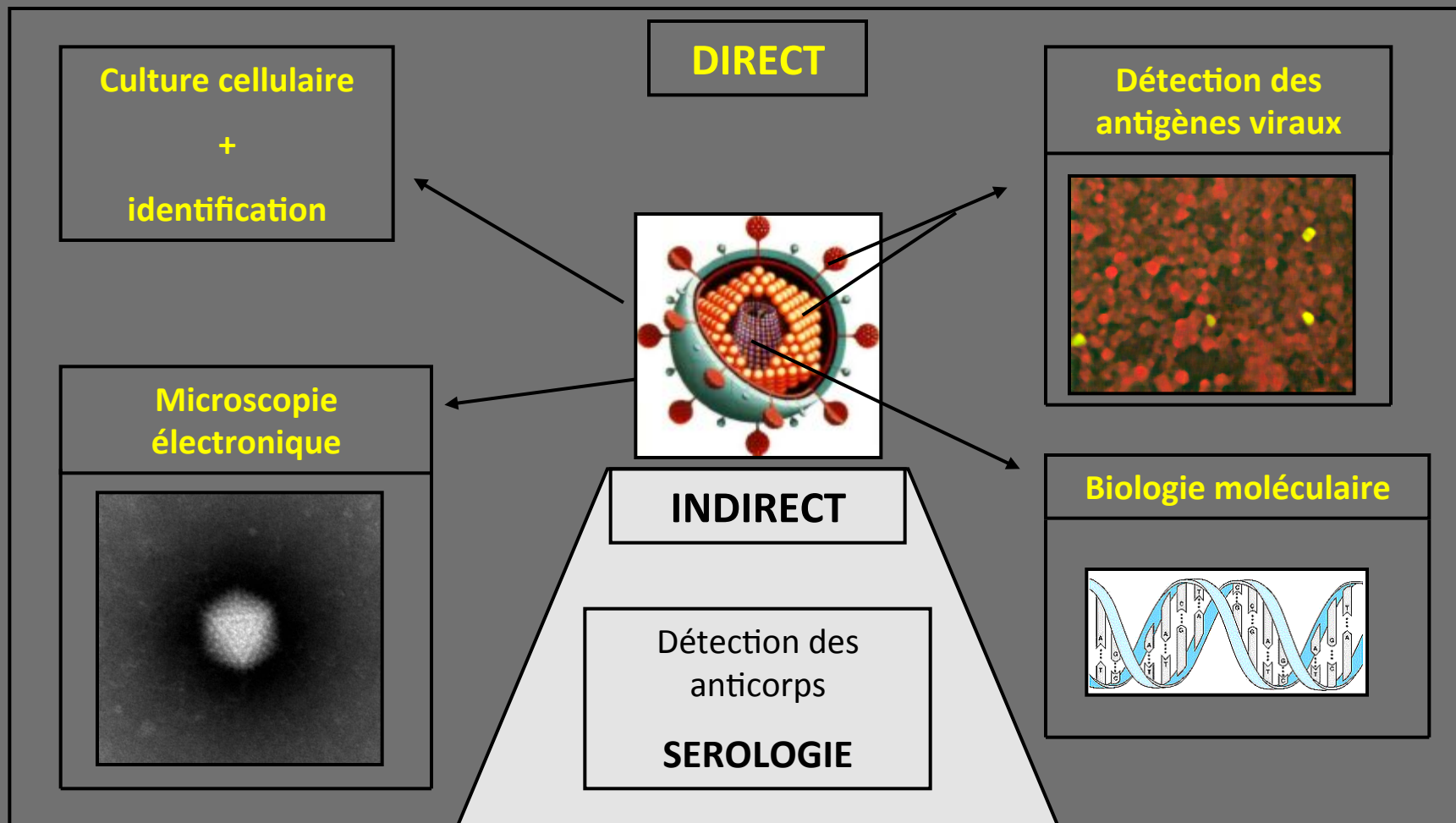
■ Clinique

Incubation : 5-8 jours

- ❑ Formes asymptomatiques (30%)
 - RAS ou syndrome fébrile 2-3 jours → pas de Cs
- ❑ Fièvre classique pdt 3-5 j
 - fièvre élevée, céphalées, algies généralisées musculaires et articulaires, exanthème généralisé, guérison spontanée, asthénie résiduelle
- ❑ Fièvre hémorragique
 - Idem + hémorragie (nez, gencives)
- ❑ Fièvre hémorragique + syndrome de choc
 - Après 3-5 j, purpura , hémorragies muqueuses et digestives, hépatite, collapsus
 - Décès 5-10%, risque + important chez les enfants

- Fréquence des formes cliniques
 - Épidémie 2010, Saint-Martin, Caraïbes
 - 1440 cas cliniquement évocateurs
 - 235 cas biologiquement confirmés
 - 11 cas hospitalisés (<1%)

Diagnostic des arboviroses - Généralités



Diagnostic de la dengue

- Diagnostic direct: sur sang EDTA
 - PCR temps réel: résultat rapide en <24h
 - Virémie 3-6 jours
 - Test rapide immunochromatographique
 - Antigène NS1 / IgM / IgG
 - sensibilité

Diagnostic de la dengue

■ Diagnostic direct: sur sang EDTA

- PCR temps réel: résultat rapide en <24h
 - Virémie 3-6 jours
- Test rapide immunochromatographique
 - Antigène NS1 / IgM / IgG
 - sensibilité

■ Serologie: sur sérum

- détection des anticorps spécifiques du virus
- détection des IgM à partir J5
- **+++ réactions croisées avec d'autres virus du genre +++**
 - **Diagnostic difficile, nécessitant le recours à des techniques de confirmation**

Virus Chikungunya



+++ Formes asymptomatiques rares +++

< 5%: une exception dans les arboviroses

Importance épidémiologique majeure

■ Symptômes cliniques:

- ❑ Incubation de 4 à 7 jours en moyenne,
- ❑ Fièvre élevée apparaît brutalement accompagnée d'arthralgies pouvant être intenses, touchant principalement les extrémités (poignets, chevilles, phalanges).
- ❑ Surviennent également des myalgies, des céphalées et une éruption maculopapuleuse. L'immunité acquise paraît durable.

Classic clinical form

Triade évocatrice

Fièvre --- Arthralgies --- Rash cutané

Fever	100%
Polyarthralgia	96%
Rash	40%

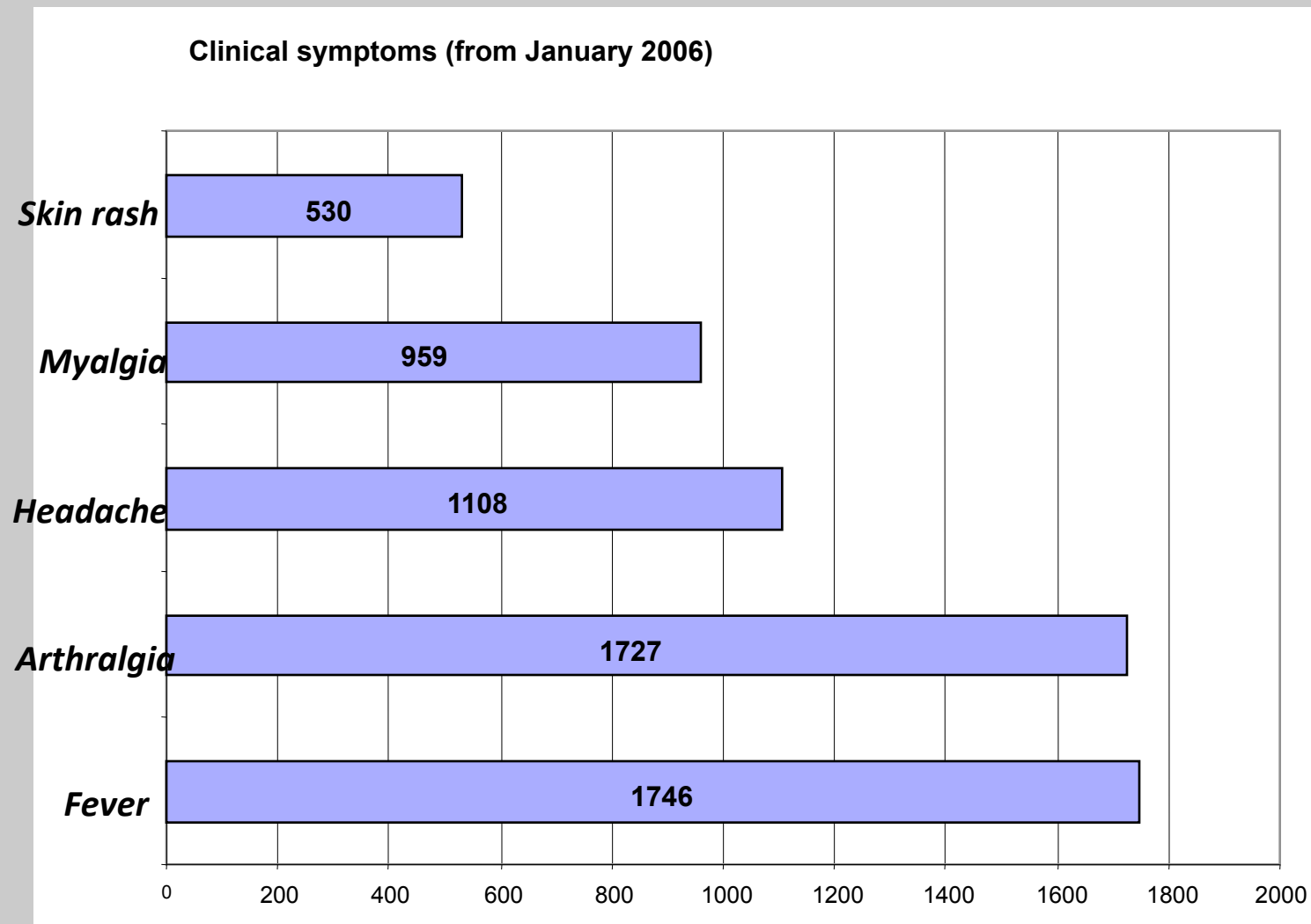
Incubation: 4-7 days

Onset brutal with fever, arthralgia (wrist, ankle, fingers), myalgia, headache, rash

Rare mild hemorrhagic signs



Clinical symptoms : La Réunion cases



- **Évolution clinique variable.**
 - ❑ Evolution favorable, sans séquelle
 - ❑ Peut aussi évoluer vers une phase chronique marquée par des arthralgies persistantes, provoquant une incapacité pendant plusieurs semaines, plusieurs mois ou années.
 - ❑ Facteurs de risque associés à la persistance des douleurs: l'âge (≥ 45 ans), des douleurs articulaires importantes lors de l'épisode initial et la présence d'une maladie ostéo-articulaire sous-jacente.

Clinical forms, adult

Rheumatologic forms

Forms with sequelae

Arthralgia, (ankle, wrist, knee)
« Rusty » morning

Chronic forms

Chronic arthralgia
major handicap

"Relapses"

Acute arthralgia with fever

Estimation of the relative proportion of forms

Direct virus role discarded, virus is not responsible for these late forms

Immunological mechanism is likely and currently investigated

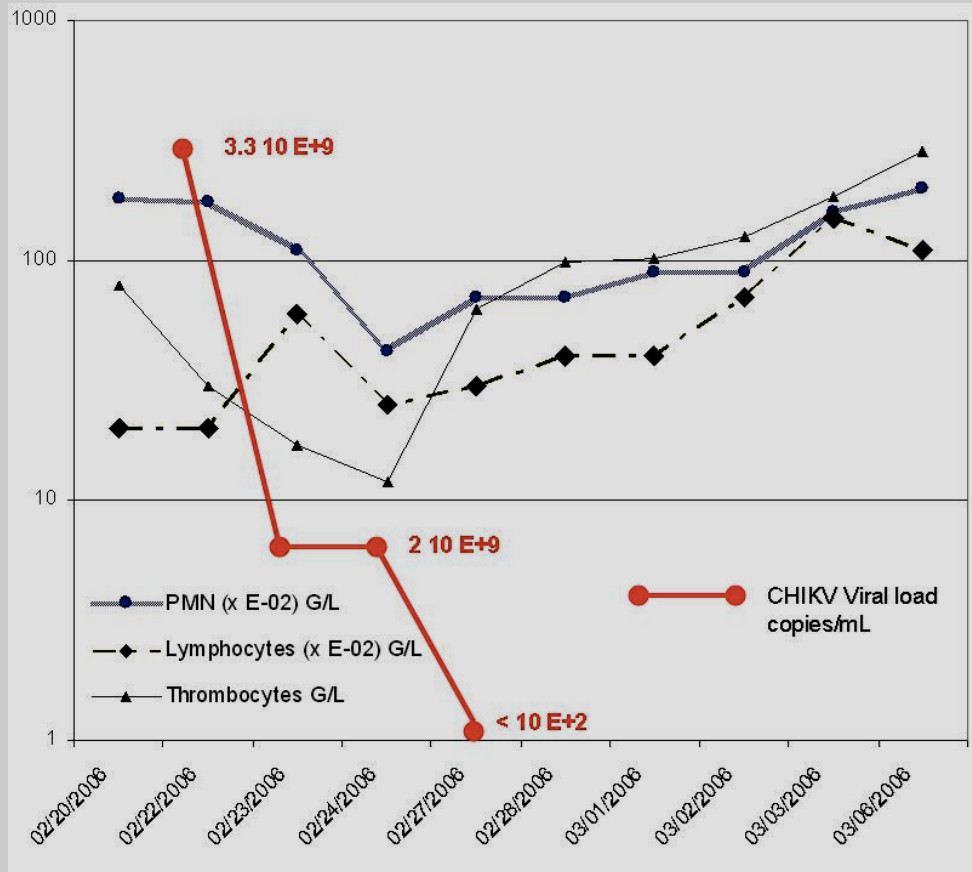
rash : classic form



Purpura



High viral loads in CHIKV infections



Patient 1 → 3.3×10^9
 Patient 2 → 1.0×10^7
 Patient 3 → 4.2×10^8 genome copies per mL.

Biological and virological parameters during the course of the disease. Evolution of the viral load and the blood cell counts during the acute phase of a 73-year-old man who returned from Reunion Island with CHIKV infection

Diagnostic

■ Diagnostic direct: sur sang EDTA

- PCR temps réel: résultat rapide en <24h
 - Virémie élevée et durable (5-9 jours)
- Pas de test immunochromatographique disponible

■ Serologie : sur sérum

- détection des anticorps spécifiques du virus
- pas de réactions croisées avec d'autres virus du genre
- immunofluorescence ou ELISA: détection des IgM à partir J5

Moustiques du genre *Culex*

Cx pipiens, *Cx restans*
Cx modestus...

- *West Nile virus*



Mouche des sables (sand fly) du genre *Phlebotomus*

Ph perniciosus,

Ph ariasi

Ph perfiliewi

Ph mascitii

- *Toscana virus*

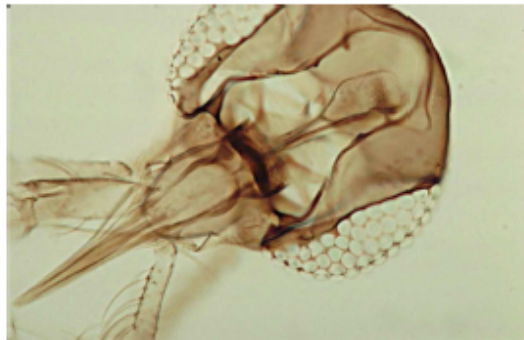
Sand flies and vector role

- ✓ Size : 2 to 5 mm
- ✓ Genus : Phlebotomus, Lutzomyia
- ✓ > **800 species**
- ✓ Mediterranean countries = summertime
- ✓ Active during the night
- ✓ Close to humans and domestic animals



Sand flies and vector role

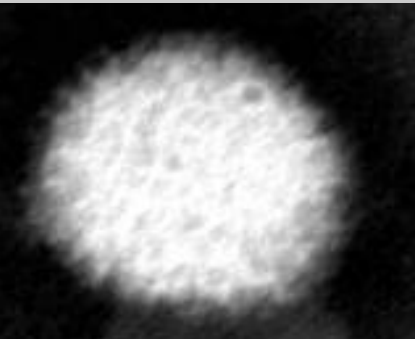
- ✓ Female : **hematophagous** (blood meal → develop eggs)
- ✓ **Anthropophilic** species



- ✓ 64 species recognized as **vector of pathogens** (Sharma et al, 2008)
 - Viral diseases : papatasi fever, toscana virus, sicilian...
 - Parasitic diseases : leishmaniasis
 - Bacterial diseases : bartonellosis

1971, a new phlebovirus discovered in central Italy: Toscana virus

- Isolation of a novel virus from *Phlebotomus perniciosus* in July 1971, in Tuscany, Italy by the group of Pr Paola Verani
 - Subsequent isolations from *P perniciosus* and *P perfiliewi*
 - Toscana virus is closely related to but antigenically distinct from Naples virus
- In 1987, 1st human case from Italy: seroconversion & PRNT (*Calisher et al 1987 Lancet*)
- In 1991, 1st large study in Italy: 155 cases (*Nicoletti et al 1991 Am J Trop Med Hyg*)
- In 1997, 1st study using PCR detection of the virus genome in Italy: 22 cases of meningitis (*Valassina et al 1997 J Clin Microbiol*)



➔ Toscana virus cause 80% of summer meningitis in central Italy

Toscana virus outside of Italy

- Spain 1988 & 2003: serologic and molecular evidence:
 - 15 strains isolated from patients,
 - 26% seroprevalence rate in Granada (*Mendoza-Montero et al 1998 Clin Infect Dis*)
 - France 2004: serologic and molecular evidence (*Hemmersbach-Miller et al 2004 Eur J Intern Med, Peyrefitte et al 2005 Emerg Infect Dis*).
 - France 2005-2009
 - seroprevalence 12% in healthy blood donors southeastern France
 - detection of TOSV RNA
 - in patients with meningitis
 - in *P. perniciosus* in Marseille and Nice
 - in *Sergentomyia minuta*
- ➔ Toscana virus is in the top-3 of causes of meningitis in France and Spain
- Turkey 2009: serologic and molecular evidence (*Ergunay et al Clin Microbiol Infect 2010*).
 - Greece 2010 (*Papa et al 2010*)
 - Elba island 2010 (*Gabriel et al 2010, Sonderegger et al 2009*)

Disease in humans and Toscana virus

clinical forms of the infection

- **asymptomatic or pauci-symptomatic infection**
seroprevalence studies suggest that a proportion of infections by TOSV are a- or pauci-symptomatic
- **febrile illness**
self-limiting febrile illness without CNS manifestation
usually neither hospitalized nor investigated further → may account for the underestimation of TOSV infection rates
- **meningitis**
CSF > 5-10 cells

glycorachia	normal
protéinorachia	normal

blood count
hyperleucocytosis (29%) or
leucopenia (6%)

Disease in humans and Toscana virus

clinical forms of the infection

- **other CNS manifestations**
 - meningoencephalitis (Baldelli et al 2004)
 - encephalitis (Dionisio et al 2001)
 - meningitis complicated by abducens nerve palsy was reported (Schwarz et al 1995)
- **other disease manifestations not involving the CNS**
 - no published data exist to suggest that TOSV could cause manifestations other than those aforementioned

Disease in humans and Toscana virus

clinical forms of the infection

Début brutal	70%
céphalées	100%
fièvre	76-97%
nausée, vomissements	67-88%
myalgies	18%

Rigidité nuque	53-95%
Signe Kernig	87%
↓ conscience	12%
tremblements	3%
paresies	2%
nystagmus	5%

Diagnostic methods / serology

- Immunofluorescence

Seroconversion and the detection of IgG and/or IgM can be achieved in cells infected with TOSV.

However, cross-reactivity exists between members of the genus *Phlebovirus* and specifically between TOSV and other serotypes of *Sandfly fever Naples virus*.

- ELISA

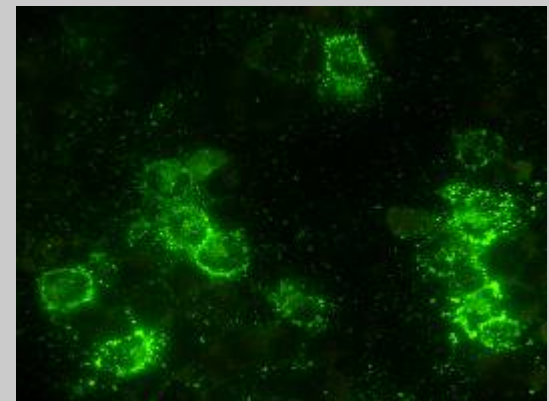
with either crude antigens or purified virus obtained from infected cells
capacity to rapidly test a large number of specimens
cross-reactions can also be observed.

- Plaque reduction neutralization test

test of choice when confirmation of the virus species is necessary

Sandfly fever Naples virus

Karimabad
Sandfly fever Naples
Sabin
Tehran
Toscana
Massilia
Punique
Granada



Diagnostic methods / PCR

- Real-time PCR TOSV → Weidmann 2008 *J Clin Virol*
spanish and italian genotypes
- Reat-time PCR TOSV → Perez-Ruiz 2007 *J Clin Virol*
spanish and italian genotypes

Vector(s)

Clinical Syndromes

**Toscana
Virus
(TOSV)**

P. perniciosus
P. perfliewi

**Sandfly fever
Aseptic meningitis**

Toscana virus cases in humans



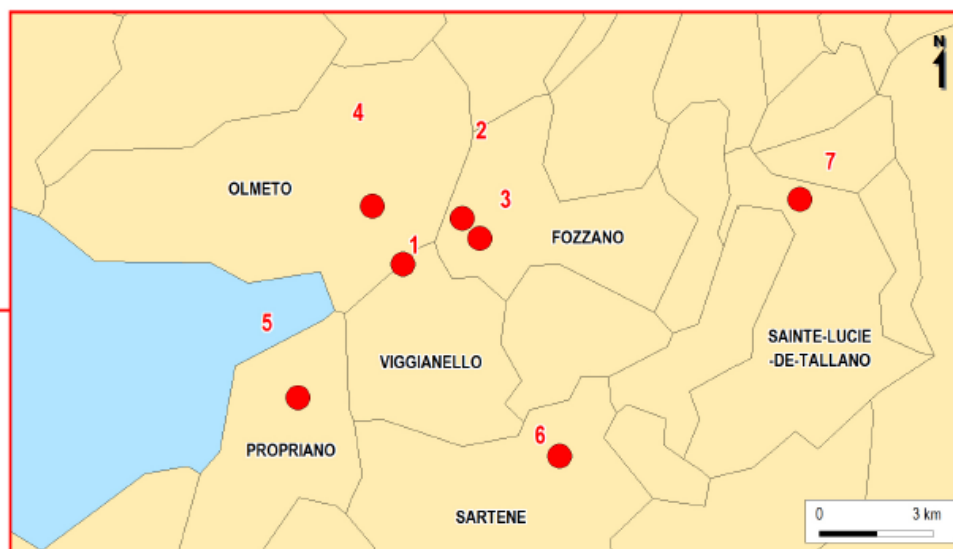
★, virus isolation, clinical cases

Capture de phlébotomes en Corse, 2010

CAMPAGNE DE CAPTURE DE PHLÉBOTOMES - CORSE JUILLET 2010



Site	Nb nuits capture	Nb phlébotomes
1	8	543
2	2	51
3	2	11
4	2	65
5	1	7
6	1	93
7	1	183
Total		953



Toscana virus cases diagnosed in Marseille, 2004-2011

WHO criteria

Sex	Age	Symptom beginning	Clinical data		Biological data
					CSF parameters
			Confirmed infection		
H	47	August 2009	●	Severe headaches and vomiting	WBC: 230 x10 ⁶ /L with 93% Lymphocytes
H	39	August 2009	●	Meningeal syndrome	WBC: 178 x10 ⁶ /L with 70% Lymphocytes; Protein >1g/L
H	17	June 2010	●	Meningeal syndrome with fever	WBC: 840 x10 ⁶ /L with 70% Lymphocytes
H	38	August 2008	●	Meningeal syndrome and hepatomegaly	WBC: 120 x10 ⁶ /L with 90% Lymphocytes
F	20	July 2008	●	Meningeal syndrome	WBC: 65 x10 ⁶ /L with 50% Lymphocytes
H	49	August 2011	●	Meningeal-encephalitis with seizures (back from Tuscany)	WBC: 106 x10 ⁶ /L with 70% Lymphocytes
F	50	July 2008	●	Fever with general asthenia and left lower limb fasciitis	-
H	7	July-August 2007	●	Meningeal syndrome	-
F	4	September 2009	●	Encephalitis	WBC: 54 x10 ⁶ /L with 59% Lymphocytes
F	40	July 2008	●	Meningeal syndrome with fever and myalgia (back from Croatia)	WBC: 4 x10 ⁶ /L
F	33	November 2009	●	Meningeal-encephalitis with fever and drowsyness	WBC: 150x10 ⁶ /L with 90% Lymphocytes
H	61	July 2010	●	Fever with myositis	-
H	43	July 2004	●	Meningeal syndrome	WBC: 28 x10 ⁶ /L with 95% Lymphocytes; Protein >0,4g/L
H	76	July 2007	●	Left upper limb hemiparesis with headaches and confusion	-
H	64	June 2009	●	Seizures with fever and stiff neck	WBC: 46 x10 ⁶ /L with 100% Neutrophils
			Probable infection		
F	42	March 2010	●	Fever with cervical lymphadenopathy	-
H	30	Avril 2007	●	Fever with headaches and sudden right facial paralysis	WBC: 1 x10 ⁶ /L; Protein >1g/L; Glucose >2,5mmol/L

Summary

- Toscana virus est l'arbovirose autochtone la plus fréquente
- il est transmis par les phlébotomes
- la distribution géographique de la maladie est dictée par celle du vecteur arthropode
- c'est un des 3 causes principales de méningites à liquide clair en France (EV, HSV)
- le syndrome clinique n'est PAS EVOCATEUR → il faut y penser systématiquement
- il faut faire des prélèvements adaptés pour documenter les cas → INDISPENSABLE à une meilleure connaissance de la maladie

A retenir

- 4 arboviroses à surveiller en Corse
 - Dengue, Chikungunya: risque d'introduction et d'endémisation
 - vecteur présent: *Aedes albopictus*
 - *syndrome fébrile pendant période estivale (Avril – Octobre)*
 - Toscana et West Nile: déjà présents
 - Syndromes fébriles ET Méningites à liq. clair pendant période estivale
 - Toscana >>> West Nile mais moins sévère
 - pas de tableau clinique spécifique
 - IMPOSE une attention renforcée ➔ Y PENSER systématiquement
- il faut faire des prélèvements adaptés pour documenter les cas ➔ INDISPENSBLE
à une meilleure connaissance de la maladie

Merci de votre attention