

# Stratégie de diagnostic biologique de la dengue

Collection  
*Documents*

Janvier 2011



**COMMISSION SPECIALISEE MALADIES TRANSMISSIBLES  
COMITE DES MALADIES LIEES AUX VOYAGES  
ET DES MALADIES D'IMPORTATION**

**Stratégie de diagnostic biologique de la dengue**

**Rapport du groupe de travail**

**21 janvier 2011**



## SOMMAIRE

<b>SAISINE</b>	<b>5</b>
<b>COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL</b>	<b>7</b>
<b>1. Introduction</b>	<b>9</b>
<b>2. Les virus de la dengue</b>	<b>9</b>
<b>3. La transmission des virus, données entomologiques</b>	<b>10</b>
<b>4. Relations hôte-DENV, physiopathologie des formes graves</b>	<b>11</b>
<b>5. Epidémiologie : zones de transmission, modalités de surveillance, données outre-mer et métropole</b>	<b>11</b>
5.1 Situation 1. En l'absence de circulation virale autochtone établie : situation actuelle en France métropolitaine	12
5.1.1 <i>Situation 1A - Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) en métropole chez un patient revenant d'une zone d'endémie (cas importé)</i>	12
5.1.2 <i>Situation 1B - Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) autochtone (en zone d'implantation d'Aedes albopictus et pendant la période d'activité du moustique)</i>	13
5.2 Situation 2. Circulation virale autochtone faible ou modérée : situation actuelle de l'Océan indien, de la Réunion et de Mayotte	13
5.2.1 <i>Situation 2A - Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) chez un patient revenant d'une zone d'endémie (cas importé)</i>	13
5.2.2 <i>Situation 2B - Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) autochtone</i>	13
5.2.3 <i>Situation 2C - En situation d'épidémie (idem phase 3B, cf. infra)</i>	13
5.3 Situation 3. Forte circulation virale autochtone : situation dans les DFA	13
5.3.1 <i>Situation 3A – Phase de circulation sporadique ou foyers de cas de dengue</i>	13
5.3.2 <i>Situation 3B – Phase d'épidémie avérée</i>	14
5.3.3 <i>Situation 3C – Phase de fin d'épidémie</i>	14
<b>6. Aspects cliniques</b>	<b>16</b>
6.1 Classification	16
6.2 Clinique	17
<b>7. Le diagnostic biologique</b>	<b>19</b>
7.1 Le diagnostic direct ou diagnostic précoce de la dengue	19
7.1.1 <i>Détection du virus ou de son génome</i>	19
7.1.2 <i>Détection antigénique : la protéine NS1</i>	20
7.2 Le diagnostic indirect ou diagnostic sérologique	23
7.2.1 <i>Cinétique des anticorps dirigés contre DENV</i>	23
7.2.2 <i>Les tests immunoenzymatiques (ELISA) ou immunochromatographiques (ICT)</i>	25

<b>8. Modalités du diagnostic biologique</b>	<b>25</b>
<b>9. Conclusion</b>	<b>29</b>
<b>REFERENCES</b>	<b>30</b>
<b>ANNEXE</b>	<b>34</b>
<b>GLOSSAIRE</b>	<b>38</b>
<b>TABLE DES MATIERES</b>	<b>39</b>



Ministère de la Santé et des Sports

Direction Générale de la Santé  
Sous-direction Prévention des risques infectieux  
Bureau des risques infectieux et de la politique vaccinale  
DGS/RI 1 - N° 424  
Personnes chargées du dossier :  
Frédéric Jourdain / Thierry Comolet

Paris, le 20 SEP 2010

Le Directeur général de la santé  
à  
Monsieur le Président  
du Haut Conseil de la Santé Publique  
11 Place des cinq Martyrs du lycée Buffon  
75014 Paris

**Objet :** Elaboration d'une stratégie de diagnostic biologique de la dengue précisant la place des différents tests disponibles.

Depuis plusieurs décennies, la dengue est en progression constante dans le monde, notamment dans les départements français d'Amérique (DFA). Il en résulte une augmentation significative du nombre de cas dans ces trois départements, ainsi que du nombre de cas importés en France métropolitaine. Dans ce contexte, pour tenter de limiter la progression, en complément de la lutte anti moustique, les besoins de diagnostics biologiques rapides sont de plus en plus importants.

Un test de dépistage de l'antigène NS1 a reçu un avis favorable de la HAS en termes de Service Attendu en juin 2009 dans une indication<sup>1</sup> et vient d'être inscrit à la nomenclature des actes de biologie médicale. Ce test, qui peut être utilisé dans la phase précoce de la maladie, doit voir son rôle bien précisé dans la stratégie diagnostique de la dengue.

Dans ce contexte il me semble important de bien définir l'algorithme de diagnostic biologique de la dengue. Les recommandations pratiques destinées aux professionnels de santé devront préciser la place des différents tests de diagnostic biologique de la maladie (tests sérologiques anticorps, test antigénique NS1, RT-PCR, etc) et devront :

<sup>1</sup> Le service attendu est considéré suffisant. Par conséquent, l'avis de la HAS, mentionné au quatrième alinéa de l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale, quant à l'inscription de l'acte à la liste des actes prévue à cet article est favorable. **1. Indication principale :** Diagnostic précoce de la dengue, du 1er au 5e jour après l'apparition des signes cliniques.

- Etre adaptées aux différentes situations épidémiologiques de la dengue rencontrées sur le territoire français : absence de circulation autochtone, comme en métropole ; circulation modérée, comme dans l'Océan Indien ; forte circulation telle que dans la sous-région Antilles-Guyane, avec juxtaposition d'infections primaires et secondaires ;
- Tenir compte d'une évolution potentielle de la situation épidémiologique (par exemple : épidémie dans les DFA ayant un impact en métropole par l'augmentation importante du nombre de cas importés).

Aussi, je vous serais reconnaissant de bien vouloir saisir le président du Comité des maladies liées aux voyages et d'importation (CMVI) pour élaborer de telles recommandations et de tout mettre en œuvre afin que je puisse disposer d'un avis du HCSP d'ici début novembre 2010.

*L'actualité récente souligne  
aussi l'importance du sujet en  
métropole.*

*Le Directeur Général de la Santé.*

*Didier Houssin*  
Pr Didier HOUSSIN

## COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

**Martin Danis**, HCSP, président du CMVI

**Thierry Debord**, HCSP, CMVI, président du groupe de travail

**André Cabié**, CHU Fort-de-France

**Philippe Dussart**, Institut Pasteur de Cayenne

**Florence Fouque**, Institut Pasteur de Paris

**Marc Grandadam**, CNR Arbovirus, Institut Pasteur de Paris

**Eric Laforgerie**, Afssaps

**Corinne Le Goaster**, Secrétariat général du HCSP

**Isabelle Leparç-Goffart**, CNR associé Arbovirus, IRBA-IMTSSA Marseille

**Olivier Scemama**, HAS

**Yvan Souares**, InVS

**Arnaud Tarantola**, InVS

**Cécile Vaugelade**, Afssaps



## 1. Introduction

La dengue est une arbovirose transmise par des moustiques du genre *Aedes*. Dans les cinquante dernières années, son incidence a été multipliée par 30, avec une extension géographique à de nouveaux pays. Environ 2,5 milliards d'individus vivent en zone endémique et on estime à 50 millions le nombre d'infections annuelles, dont 1 % de formes hémorragiques, avec 30 000 décès, surtout des enfants.

Depuis plusieurs décennies, la dengue est en progression constante dans les départements français d'Amérique (DFA), avec des poussées épidémiques répétées et une augmentation significative du nombre de cas dans ces trois départements, ainsi que du nombre de cas importés en France métropolitaine où *Aedes albopictus*, vecteur potentiel de la dengue et d'autres arboviroses, s'est implanté depuis 2004, dans le sud-est du pays.

Le diagnostic précis de la maladie est d'une grande importance pour la prise en charge clinique, mais aussi pour les mesures de surveillance, de contrôle des épidémies, sans parler des objectifs de recherche.

La mise à disposition récente de tests de diagnostic précoce et/ou rapide nécessite de préciser la stratégie diagnostique de la dengue et la place des différents tests de diagnostic biologique.

## 2. Les virus de la dengue

Les virus de la dengue (genre *Flavivirus*) constituent un groupe indépendant au sein de la famille des *Flaviviridae* (Vasilakis & Weaver, 2008). Le genre *Flavivirus* est subdivisé en complexes antigéniques définis sur la base de la réactivité des antigènes viraux et des anticorps induits par ces virus dans des tests d'inhibition d'hémagglutination et de séroneutralisation. Les principaux complexes sont: le groupe Fièvre jaune, le complexe du virus de l'encéphalite japonaise, le complexe des virus des encéphalites à tiques et le groupe des virus dengue (DENV). Ce dernier est constitué de quatre sérotypes. En dépit de leur forte proximité génétique et antigénique, les quatre DENV constituent réellement des entités infectieuses indépendantes. En effet, l'infection par l'un des sérotypes induit différents types d'anticorps parmi lesquels certains sont à l'origine de réactions croisées avec les autres sérotypes (voire avec d'autres complexes antigéniques). En revanche, les anticorps neutralisants ne sont efficaces que contre le sérotype homologue. Un individu vivant en zone endémo-épidémique peut donc en théorie contracter quatre fois la dengue.

Les quatre sérotypes de dengue circulent dans toutes les régions inter-tropicales. Leur répartition est cependant variable, les quatre sérotypes n'ayant pas forcément été identifiés dans tous les pays. La fréquence de circulation est également hétérogène. En Asie et dans la région Antilles-Guyane, les sérotypes 1, 2 et 3 sont les plus fréquemment rencontrés. En Afrique, les sérotypes 1 et 2 sont majoritaires par rapport au sérotype 4 et au sérotype 3, ce dernier n'ayant été identifié en Afrique continentale qu'à partir de 2008. Peu de données sont disponibles quant à la circulation des sérotypes dans la région Océan indien. L'épidémie de 1977-78, qui a notamment touché La Réunion, était probablement due au sérotype 2 et celle de 2004 au sérotype 1. Depuis le mois de mai 2010, des cas autochtones de dengue liés au sérotype 3 ont été notifiés à La Réunion, en lien avec l'épidémie ayant frappé les Comores. Des cas importés virémiques d'infection à sérotype 4 ont été identifiés mais n'ont pas été suivis d'une implantation pérenne de ce sérotype à La Réunion.

Des formes graves associées à tous les sérotypes ont été rapportées avec des incidences supérieures des sérotypes 1, 2 et 3 par rapport au sérotype 4. Cette apparente virulence supérieure des sérotypes 1, 2 et 3 est à rapporter à leur incidence globale plus élevée par rapport au sérotype 4. Les mécanismes favorisant les formes graves sont multiples, encore mal identifiés et font certainement intervenir des facteurs liés à l'hôte (âge, terrain fragilisé...) et au virus (Vasilakis & Weaver, 2008). Aucun marqueur génétique de virulence n'a été identifié de façon formelle au sein des génomes viraux. Le risque de forme grave serait d'autant plus important que la charge virale du patient serait élevée (Vaughn *et al.* 2000). Des anticorps produits au cours d'infections antérieures à virus dengue et peut être par d'autres *Flavivirus* pourraient jouer un rôle facilitant et participer à l'aggravation de la maladie. Enfin, en cas de réinfection, l'enchaînement des sérotypes (théorie séquentielle) aurait un impact sur le pronostic de la maladie, la combinaison dengue 1 suivie d'une infection à sérotype 2 étant la plus à risque de déboucher sur une forme grave (Sangkawibha *et al.*, 1984).

### 3. La transmission des virus, données entomologiques

Les DENV sont transmis à l'être humain par des moustiques appartenant au genre *Aedes* et principalement par l'espèce *Aedes aegypti* (Vasilakis & Weaver, 2008). Ce moustique originaire d'Afrique est maintenant présent dans les zones inter-tropicales de tous les continents et il reste capable de recoloniser des zones d'où il a été éradiqué, comme l'Europe méditerranéenne. Son importance dans la transmission des DENV est liée à son écologie domestique. Il se reproduit dans l'environnement humain, en particulier dans des gîtes d'eaux domestiques et a développé une forte préférence à piquer l'être humain (Jensen & Beebe, 2010). Une autre espèce d'*Aedes*, plutôt considérée comme un vecteur secondaire, *Aedes albopictus*, peut également jouer un rôle dans la transmission des épidémies de dengue. Enfin, d'autres espèces d'*Aedes* ont été trouvées porteuses de souches selvatiques des DENV comme *Aedes niveus* en Asie et *Aedes furcifer* en Afrique, mais ces espèces piquent plutôt des singes et ne sont pas responsables d'épidémies humaines.

Seules les femelles de moustiques prennent des repas sanguins pour se procurer les acides aminés nécessaires à l'ovogenèse. La capacité des moustiques femelles à transmettre les DENV dépend de nombreux paramètres qui sont principalement la durée de l'amplification extrinsèque du virus dans le moustique, la durée moyenne de vie des moustiques, les densités de moustiques, les nombres de piqûres par moustique et le taux d'infection. Ces paramètres varient en fonction des conditions environnementales et climatiques (Halstead, 2008). Mais l'intensité de la transmission dépend aussi de l'immunité de la population humaine touchée. La transmission concomitante de pathogènes différents a été mise en évidence chez l'espèce *Ae. aegypti* avec chikungunya et un densovirus et il est fort probable que cette espèce soit aussi capable de transmettre plusieurs DENV en même temps. Les DENV peuvent se maintenir dans des cycles selvatiques en Afrique et en Asie et circuler entre des populations de primates plus ou moins sensibles et des moustiques vecteurs. Des anticorps contre la dengue ont également été trouvés chez des singes sauvages en forêt amazonienne laissant supposer l'existence d'un cycle selvatique en Amérique tropicale. Les DENV peuvent également être maintenus dans des populations de moustiques par transmission trans-ovarienne, appelée aussi transmission verticale. En effet, il a été démontré expérimentalement que les femelles d'*Ae. aegypti* infectées par les DENV pouvaient transmettre ces virus à leur descendance (Rosen *et al.*, 1983). Les virus vont se disséminer dans les ovaires puis dans les œufs et enfin dans les adultes issus de ces œufs. Les réservoirs des DENV peuvent donc être les humains, les moustiques, les primates et peut-être des mammifères sauvages.

Le rôle de l'espèce *Ae. albopictus* dans la transmission des DENV mérite une réflexion particulière dans la mesure où cette espèce est actuellement en expansion géographique et à cause de sa compétence à amplifier de nombreux pathogènes en laboratoire (Gratz, 2004). Cette espèce est préoccupante car elle a été reconnue vecteur unique dans les épidémies de dengue qui ont touché Madagascar et l'île de La Réunion en présence d'une forme non compétente d'*Ae. aegypti* et aussi lors d'une bouffée épidémique à Hawaï en 2001. Son rôle de vecteur dominant est également suspecté dans d'autres épidémies comme celle de Nagasaki dans les années 1940 et en Chine depuis longtemps. Cette espèce est capable de coloniser des pays tempérés car ses œufs peuvent entrer en diapause si les conditions climatiques sont défavorables et sa présence est avérée dans le sud de la France depuis environ 10 ans. *Ae. albopictus* peut également, en laboratoire, amplifier et transmettre plusieurs pathogènes comme les DENV et le virus du chikungunya. Enfin, des études expérimentales réalisées au Japon sur une souche diapausante ont montré une transmission verticale de la dengue de la génération infectée à la suivante dans certaines conditions. Ces résultats indiquent donc que les œufs diapausants d'*Ae. albopictus* peuvent maintenir un DENV pendant au moins une génération, ce qui pourrait survenir en France métropolitaine, bien que les données expérimentales manquent. La présence d'*Ae. albopictus* représente donc un risque non négligeable d'installation d'un cycle de transmission de la dengue, en raison de son anthropophilie.

La circulation des DENV à l'échelle d'une région géographique semble plutôt liée à la circulation d'êtres humains infectés voyageant avec ou sans signes cliniques mais l'introduction du virus reste possible par des moustiques adultes infectés lorsque les voyages ne dépassent pas quelques jours, ou par des œufs infectés par transmission verticale, le risque pouvant alors persister (parfois plusieurs mois) jusqu'à l'éclosion des œufs. Les autres réservoirs de DENV ont plus probablement un rôle local. Enfin, les voyages aériens d'humains infectés sur de très longues distances sont très certainement à l'origine de la circulation mondiale des souches de dengue actuellement observée.

#### **4. Relations hôte-DENV, physiopathologie des formes graves**

En l'absence de modèle animal performant, la physiopathologie de la dengue n'est pas encore bien comprise. Les principales cellules cibles des DENV sont les monocytes circulants et les macrophages tissulaires. Après la piqûre d'un *Aedes* infecté par un DENV, les premières cibles virales sont les cellules dendritiques dermiques. De nouveaux virions sont produits localement et la migration de ces cellules vers les ganglions lymphatiques va permettre la présentation du DENV au lymphocyte T, et l'atteinte de nouvelles cellules cibles (monocytes et macrophages). L'issue de cette infection (asymptomatique ou non, sévère ou non) est sous la dépendance d'interactions complexes entre des facteurs viraux, les caractéristiques génétiques de l'hôte, et le statut immunologique de l'hôte vis-à-vis des DENV (immunité préexistante à un ou plusieurs sérotypes de DENV) (Rothman, 2004 ; Fink *et al.* 2006 ; Halstead, 2007 ; Appanna *et al.*, 2010).

Même si la fièvre dengue hémorragique peut survenir au cours d'une première infection par l'un des DENV, de nombreuses études épidémiologiques, menées en Asie comme en Amérique, ont montré que le risque de survenue de cette forme clinique était accru en cas de dengue secondaire. La séquence des sérotypes infectants, la co-circulation de plusieurs sérotypes et le délai entre deux infections semblent aussi moduler le risque de survenue d'une fièvre dengue hémorragique. Ces observations ont permis à Halstead dans les années 1970 de proposer la théorie de la «facilitation immunologique» par des anticorps non neutralisants hétérologues complexés à des DENV qui «facilitent» l'entrée de ces virus dans les cellules cibles par l'intermédiaire du récepteur du fragment Fc des immunoglobulines (antibody-dependent enhancement [ADE]). Le corollaire de la facilitation immunologique au niveau de la réponse T est «le péché antigénique originel», les lymphocytes T répondant mieux au précédent virus qu'au virus de l'infection présente. Cette réponse immunologique inadaptée pourrait se traduire par une réplication virale plus importante, un délai dans l'élimination virale, une activation excessive de ces cellules T et une libération accrue de cytokines pro-inflammatoires pouvant altérer la perméabilité de l'endothélium vasculaire. Ainsi tout se passerait comme si une hypo-réactivité initiale du système immunitaire favorisant un inoculum viral élevé aboutissait dans un deuxième temps à une hyper-réactivité avec libération massive de médiateurs conduisant aux manifestations sévères de la dengue.

Des facteurs génétiques et immunogénétiques semblent jouer un rôle important dans la survenue de la fièvre dengue hémorragique. Plusieurs études, dont une menée à Haïti, montrent un risque moins important d'évolution vers une fièvre dengue hémorragique chez les patients ayant des origines africaines. Le phénotype HLA semble avoir une importance avec, selon les populations, des allèles « protecteurs » et d'autres associés à un risque accru de dengue hémorragique. Certains polymorphismes au niveau du récepteur de la vitamine D sont associés à une protection contre la dengue hémorragique. Une mutation du promoteur du TNF en position 308, déjà connue comme étant associée au paludisme grave, est à l'inverse associée à une protection contre la dengue hémorragique.

Enfin l'âge peut conditionner l'expression clinique de la dengue. L'infection primaire est le plus souvent asymptomatique chez l'enfant, le risque d'avoir des symptômes augmentant avec l'âge. La situation est différente pour une dengue secondaire. Actuellement la dengue hémorragique est observée le plus souvent chez l'enfant dans le Sud-Est Asiatique et chez l'adulte dans la région Amérique. Une étude menée à Cuba a montré que la dengue hémorragique est plus sévère en termes de morbidité et de mortalité chez les enfants et les adultes de plus de 50 ans. Cette étude confirme la plus grande sensibilité des enfants au syndrome de fuite plasmatique.

#### **5. Epidémiologie : zones de transmission, modalités de surveillance, données Outre-mer et métropole**

L'infection par le virus de la dengue présente des profils épidémiologiques très variés selon le territoire français considéré : le virus est hyper-endémique dans les DFA, il menace d'émerger dans les zones où des vecteurs compétents sont présents (territoires de l'Océan Indien et sud-est de la France), tandis que le risque paraît nul à ce stade hors situation de risque ponctuel (importation ou site de stockage de pneus, par ex.) sur le reste du territoire métropolitain. Si certains travaux ont évoqué un rôle possible du réchauffement climatique dans l'extension de l'aire d'implantation du vecteur dans les années à venir - extension qui paraît inéluctable – ce sont essentiellement les

activités humaines qui sont en cause. Le nombre important de voyageurs rentrant de zone endémo-épidémique vers des zones où des vecteurs sont présents fait que le risque d'émergence est réel. Notons que des épidémies de dengue, parfois intenses, sont également régulièrement décrites dans les pays français du Pacifique.

Les responsables de la surveillance en France sont donc confrontés à des profils épidémiologiques divers, justifiant la mise en place de dispositifs de surveillance et de confirmation diagnostique adaptables et répondant à des logiques très différentes.

Le diagnostic des cas de dengue repose sur les meilleurs moyens disponibles, compromis entre l'état de la science et les exigences opérationnelles. Quelles que soient les stratégies retenues par les cliniciens et les autorités de santé dans l'intérêt des patients, l'InVS souhaite rappeler ici les principes du recours aux tests diagnostiques seulement en termes de **surveillance populationnelle** dans un objectif de **santé publique**, déclinés selon le profil des zones à risque. La démarche à appliquer est celle recommandée dans la partie « stratégie diagnostique » du document. Dans tous les cas, les liens entre le réseau de cliniciens, de laboratoires et les responsables de la surveillance à tous les niveaux devront être renforcés.

## **5.1 Situation 1. En l'absence de circulation virale autochtone établie (situation actuelle de France métropolitaine)**

Le Plan Anti-Dissémination<sup>1</sup> a pour objectif d'identifier tout cas importé en période virémique ou tout cas autochtone sur le territoire. Ce plan vise à limiter le risque de dissémination et d'implantation du chikungunya et de la dengue en métropole en adoptant des mesures progressives de gestion du risque afin de ne pas saturer les équipes assurant le diagnostic ou la lutte anti-vectorielle (LAV). Elles ne sont ici abordées que sous le seul angle de la santé publique.

### **5.1.1 Situation 1A. Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) en métropole chez un patient revenant d'une zone d'endémie (cas importé)**

- Il est nécessaire dans l'intérêt de la santé publique de confirmer le diagnostic par tous les moyens disponibles dans les zones d'implantation d'*Aedes albopictus* et pendant la période d'activité du moustique (mai à novembre). L'objectif du signalement des cas suspects importés est d'empêcher la dissémination et l'implantation du virus par la mise en place rapide des mesures de LAV ciblées autour des cas potentiellement virémiques :
  - confirmation diagnostique pour tous les cas suspects potentiellement virémiques identifiés par la surveillance ;
  - sérotypage essentiel pour la veille internationale, en contribuant à identifier les sérotypes circulant dans les zones endémo-épidémiques, à adapter en fonction des capacités du CNR :
    - pour tous les cas importés s'il y a peu de cas ;
    - en présence de nombreux cas importés (par ex. lors d'une épidémie dans les DFA) : surveillance exhaustive pour détecter les cas importés virémiques mais surveillance des sérotypes circulants uniquement pour les cas importés ne revenant pas de zones d'épidémie (où les sérotypes sont déjà connus).
- Hors zone d'implantation d'*Aedes albopictus* ou hors période d'activité du moustique, l'objectif est uniquement de documenter le sérotype circulant responsable de l'épidémie dans le territoire de provenance. Elle sera faite pour les cas confirmés dans le cadre de la prise en charge clinique (fonction des recommandations formulées dans la partie « recommandations diagnostiques pour la prise en charge individuelle des cas ») et adaptée en fonction des capacités du CNR :
  - en dehors d'un contexte de nombreux cas importés : surveillance des sérotypes circulants pour tout ou une partie des cas confirmés importés selon le nombre observé de cas et les possibilités des laboratoires de référence ;
  - en présence de nombreux cas importés (ex. lors d'une épidémie dans les DFA) : surveillance des sérotypes circulants uniquement pour les cas importés ne revenant pas de zones d'épidémie (où les sérotypes sont déjà connus).

---

<sup>1</sup> [www.circulaires.gouv.fr/pdf/2010/05/cir\\_31164.pdf](http://www.circulaires.gouv.fr/pdf/2010/05/cir_31164.pdf)

### **5.1.2 Situation 1B. Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) autochtone (en zone d'implantation d'*Aedes albopictus* et pendant la période d'activité du moustique)**

- Il est indispensable de confirmer le diagnostic (puis le sérotype) **par tous les moyens** afin d'entreprendre au plus vite les mesures de LAV et l'enquête épidémiologique sur l'origine de la contamination. Celle-ci ne peut être envisagée qu'après confirmation diagnostique accélérée, car la probabilité qu'il s'agisse d'un cas de dengue (ou de chikungunya) est faible.

## **5.2 Situation 2. Circulation virale autochtone faible ou modérée : situation actuelle de l'Océan indien, de La Réunion et de Mayotte**

### **5.2.1 Situation 2A. Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) chez un patient revenant d'une zone d'endémie (cas importé)**

- Il est nécessaire de confirmer le diagnostic par tous les moyens disponibles dans l'intérêt de la santé publique afin de limiter l'introduction du virus sur le territoire :
  - confirmation diagnostique pour tous les cas suspects importés signalés potentiellement virémiques ;
  - sérotypage :
    - en l'absence d'un contexte épidémique régional : sérotypage pour tous les cas confirmés ;
    - en cas d'épidémie régionale (ex. épidémie aux Comores) : sérotypage pour tout ou une partie des cas importés confirmés et virémiques, selon le nombre observé de cas (pour les cas importés de la zone d'épidémie, on peut limiter cette surveillance lorsque les sérotypes sont déjà connus).

### **5.2.2 Situation 2B. Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) autochtone**

- En début et en fin de circulation virale, il est indispensable de confirmer le diagnostic et d'identifier le(s) sérotype(s) circulant(s) par tous moyens.

### **5.2.3 Situation 2C. En phase d'épidémie (idem phase 3B, cf. infra)**

- La surveillance sentinelle se substitue à la surveillance exhaustive au-delà d'un seuil de 400-500 cas hebdomadaires ;
- Surveillance syndromique dans les sites sentinelles ;
- Surveillance des sérotypes circulants sur un échantillon des syndromes dengue-like ;
- Maintien du diagnostic biologique des formes graves ou pédiatriques.

Les patients hospitalisés (en théorie : les patients présentant des facteurs de risque, des signes d'alerte ou des formes sévères) doivent pouvoir bénéficier prioritairement d'un diagnostic biologique, y compris par RT-PCR, selon le nombre de jours écoulés depuis le début de l'infection.

## **5.3 Situation 3. Forte circulation virale autochtone : situation dans les DFA**

Dans les Antilles et la Guyane, la stratégie diagnostique est fonction des phases du Programme de Surveillance d'Alerte et de Gestion des Epidémies de dengue (PSAGE dengue), variables selon le territoire considéré. Est considéré ici à titre d'exemple le PSAGE en cours en Martinique<sup>2</sup>. On distingue donc les profils de transmission et les exigences de santé publiques suivants (tableau 1) :

### **5.3.1 Situation 3A. Phases de circulation sporadique ou foyers de cas de dengue**

Au cours de ces phases, tout syndrome clinique évocateur de dengue (syndrome dengue-like) doit faire l'objet d'un diagnostic biologique pour les motifs suivants :

---

<sup>2</sup> Phase 1 : transmission sporadique, Phase 2 niveau1 : foyers isolés, Phase2 niveau 2 : circulation active du virus, Phase 3 : risque épidémique, Phase4 niveau1 : épidémie confirmée, Phase 4 niveau2 : épidémie avec fréquence élevée de formes sévères. Voir : [http://www.invs.sante.fr/surveillance/dengue/psage\\_dengue\\_martinique\\_0510.pdf](http://www.invs.sante.fr/surveillance/dengue/psage_dengue_martinique_0510.pdf)

- identifier d'éventuels foyers de dengue
  - afin de mettre en place les mesures de démostication ciblées, individuelles et collectives.
- assurer une surveillance des sérotypes circulants, réalisée à partir d'un réseau de médecins sentinelles et pour les patients hospitalisés, cette surveillance permet de connaître la répartition des sérotypes circulants et éventuellement d'anticiper l'ampleur potentielle d'une épidémie à venir (en cas d'identification d'un sérotype n'ayant pas circulé depuis de nombreuses années dans la région).

### **5.3.2 Situation 3B. Phase d'épidémie avérée**

En cas d'épidémie avérée, le diagnostic biologique systématique pour tout patient présentant un syndrome évocateur de dengue n'est plus nécessaire en termes de santé publique. En effet, la surveillance intermittente basée sur le réseau sentinelle se substitue à la surveillance biologique exhaustive, cette dernière apportant peu de plus-value au dispositif de surveillance en phase épidémique. En cours d'épidémie les services de LAV ne peuvent plus assurer une démostication ciblée et réactive autour de tous les cas biologiquement confirmés. La stratégie de démostication visant à retarder/atténuer l'épidémie doit donc s'appuyer sur l'identification par les réseaux de médecins sentinelles de zones (quartier, communes) nouvellement ou plus touchées que d'autres ainsi que sur les sites sensibles (établissements médico-sociaux, centre hospitaliers, cabinets médicaux, laboratoires de biologie médicale, crèches...).

Les patients hospitalisés (en théorie : les patients présentant des facteurs de risque, des signes d'alerte ou des formes sévères) doivent pouvoir bénéficier prioritairement d'un diagnostic biologique, y compris par RT-PCR.

### **5.3.3 Situation 3C. Phase de fin d'épidémie**

La stratégie diagnostique à appliquer en fin d'épidémie doit être similaire à celle appliquée durant les phases de circulation sporadique ou foyers de cas de dengue : diagnostic biologique exhaustif, pour identifier les foyers résiduels et pouvoir calculer un taux de positivité.

Quelle que soit la phase, les patients hospitalisés (en théorie : les patients présentant des facteurs de risque, des signes d'alerte ou des formes sévères) doivent pouvoir bénéficier prioritairement d'un diagnostic biologique, y compris par RT-PCR, selon le nombre de jours **écoulés** depuis le début des symptômes.

Tableau 1 - Stratégies de dépistage dans l'intérêt de la surveillance\*, selon le profil épidémiologique des zones du territoire français au 30/11/2010

Zones	Cas suspect autochtone (potentiellement virémique)	Rationnel	Cas suspect importé (potentiellement virémique)	Rationnel
<b>Zone sans circulation virale autochtone établie (ex : Métropole)</b>	Présence du vecteur, en période d'activité	Détecter une émergence locale et guider la LAV	Confirmer tous les cas par tous les moyens disponibles. Sérotypage exhaustif sauf si provenance d'une zone épidémique déjà connue.	Guider la LAV pour prévenir une implantation locale
	Présence du vecteur, hors période d'activité ou absence de vecteur	Pas de risque notable d'installation d'un cycle de transmission.	Confirmer si retour d'une zone où la circulation/sérotype non documenté(e)s	Identifier la circulation ou les sérotypes circulants en zone visitée, si non documentées
<b>Zone de circulation autochtone faible (ex : Océan Indien)</b>	Confirmer et sérotyper par tous les moyens disponibles en début et fin d'épidémie. Si épidémie avérée: confirmation intermittente et tous cas graves ou particuliers.	Détecter une émergence locale et guider la LAV Identifier les sérotypes circulants et confirmer que les cas sévères, les décès et les formes atypiques sont dus à la dengue.	Confirmer tous les cas par tous les moyens disponibles en début et fin d'épidémie. Sérotypage exhaustif sauf si provenance d'une zone épidémique déjà connue. Si épidémie, voir CAT zone épidémique ci-dessous.	Guider la LAV pour prévenir une implantation locale
<b>Zone endémo-épidémique (ex : DFA)</b>	Confirmer et sérotyper par tous les moyens disponibles en début et fin d'épidémie les prélèvements adressés dans le cadre du réseau sentinelle. Si épidémie avérée : confirmation intermittente et tous cas graves ou particuliers.	Documenter le début, la fin de l'épidémie et certaines formes cliniques. Identifier les sérotypes circulants et confirmer que les cas sévères, les décès et les formes atypiques sont dus à la dengue.	Pas de confirmation nécessaire pour la SP	Identifier la circulation ou les sérotypes circulants en zone visitée, si non documentées

\*Seuls les impératifs de santé publique sont mentionnés : les exigences de confirmation dans le cadre d'impératifs des patients ou des cliniciens ne sont pas abordées ici.

## 6. Aspects cliniques

### 6.1 Classification

La dengue comprend une **grande variété de formes cliniques** avec une **évolution souvent imprévisible**. Si la plupart des sujets infectés guérit spontanément, certains étant même complètement asymptomatiques, une petite proportion va évoluer vers une forme grave, caractérisée par une fuite plasmatique avec ou sans hémorragies.

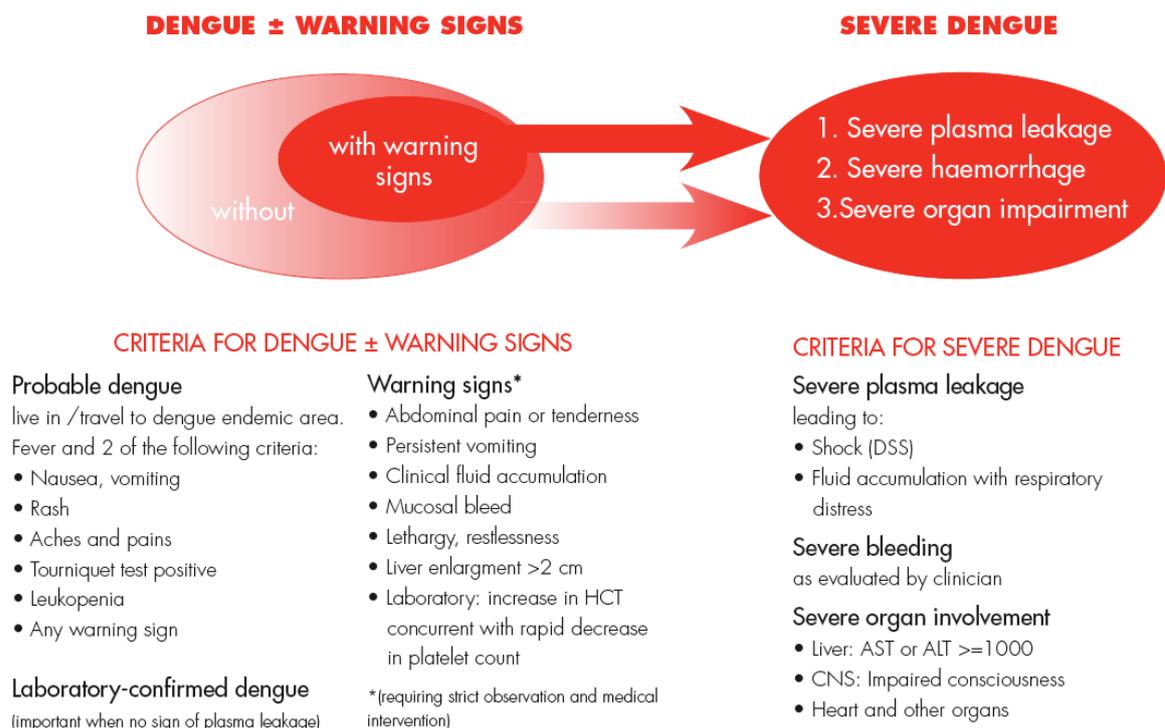
La classification précédente de la dengue n'étant pas adaptée aux situations cliniques, un groupe d'experts s'est réuni en 2008 sous l'égide de l'OMS et a proposé une nouvelle classification basée sur les niveaux de gravité (figure 1) (WHO, 2009).

On distingue la dengue probable ou confirmée, avec ou sans signe d'alarme, et la dengue grave caractérisée par :

- une fuite plasmatique sévère ;
- des hémorragies sévères ;
- une atteinte organique grave (foie, système nerveux central, cœur ou autre).

Figure 1 – Classification de la dengue et niveaux de gravité

Figure 1.4 Suggested dengue case classification and levels of severity



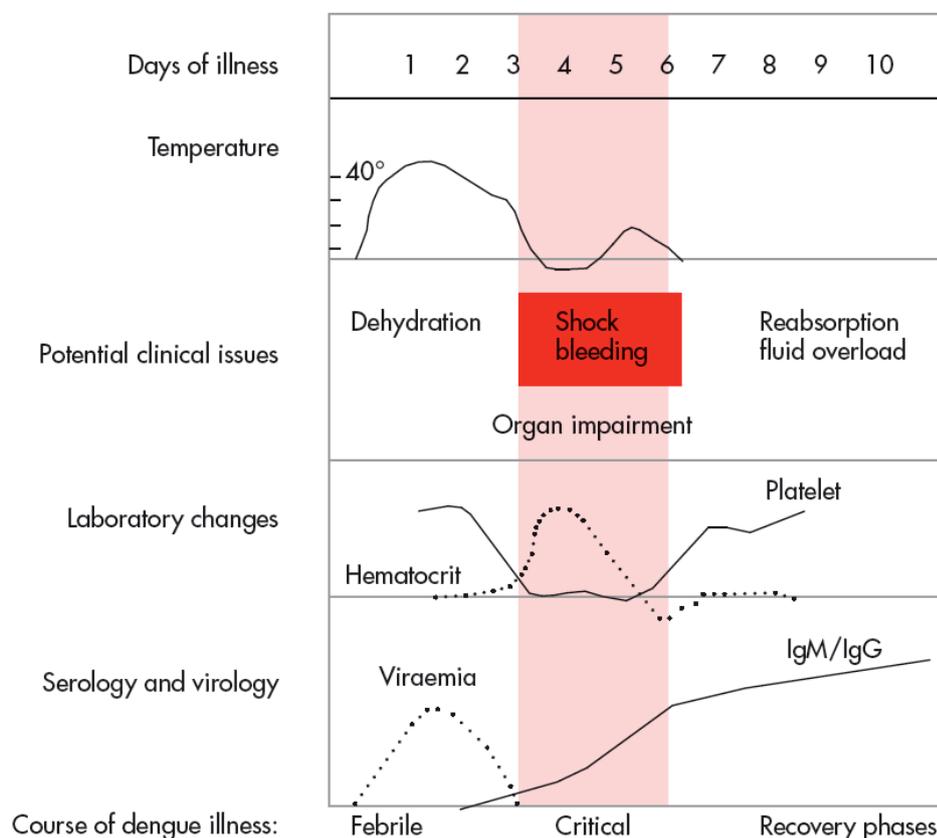
Source : WHO. *Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New Edition, 2009.*

## 6.2 Clinique

La dengue est une maladie systémique et dynamique. Ses manifestations cliniques sont très variées. Après une incubation de 4 à 10 jours, la maladie débute brutalement et évolue en 3 phases : fébrile, critique et de guérison (figure 2).

Figure 2 – Evolution de la dengue

Figure 2.1 The course of dengue illness\*



\* Source: adapted from Yip (2) by chapter authors.

Source : WHO. *Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New Edition, 2009.*

Sa prise en charge est cependant simple, efficace et peu coûteuse si les interventions sont correctes et effectuées au bon moment. La clé repose sur une **reconnaissance précoce** et une compréhension des problèmes cliniques au cours des différentes phases de la maladie, conduisant à une approche rationnelle de la prise en charge.

**La phase fébrile** dure 2 à 7 jours et associe une fièvre élevée, un syndrome algique diffus, un exanthème et une asthénie. Anorexie, nausées, vomissements sont fréquents.

Un signe du lacet positif à cette phase augmente la probabilité diagnostique. En période épidémique, la survenue d'un érythème et/ou de pétéchies après 3 ou 4 jours de fièvre confirment le diagnostic.

La recherche de signes d'alarme est importante :

- douleurs abdominales ou sensibilité à l'examen,
- vomissements persistants,
- saignements muqueux
- signes d'épanchements liquidiens,
- léthargie ou agitation,

- hépatomégalie,
- à la biologie, augmentation de l'hématocrite ou baisse rapide des plaquettes.

**La phase critique** survient vers le 3<sup>e</sup>-7<sup>e</sup> jour de la maladie, au moment où la température baisse. Deux à 4 % des patients développent un syndrome de fuite plasmatique de gravité variable, qui se traduit par une élévation de l'hématocrite. Il dure 2 à 3 jours. Il aboutit rarement à un état de choc. Des manifestations hémorragiques peuvent compliquer cette situation.

**En résumé**, la vigilance doit être maximum autour du 4<sup>e</sup> jour. L'apparition de signes d'alarme nécessite un bilan immédiat en milieu hospitalier. **Une information précise sur ces signes d'alerte doit être délivrée au malade et à son entourage.** Les signes précoces de choc doivent être recherchés dans tous les cas : hypotension ou pincement de la différentielle < 20 mm Hg, temps de recoloration unguéal > 2 sec, râles crépitants aux bases pulmonaires.

La NFS est utile à ce moment : leucopénie et thrombopénie sont classiques. Elle permet le dépistage d'une hémococoncentration avec une élévation de l'hématocrite et de l'hémoglobine.

Certains patients justifient une prise en charge spécialisée : âges extrêmes, femmes enceintes au 3<sup>e</sup> trimestre, co-morbidités associées (drépanocytose, diabète, immunodépression, troubles de coagulation ...).

Au cours des épidémies, le risque est d'attribuer toute fièvre à la dengue et de méconnaître d'autres infections nécessitant un traitement spécifique urgent : paludisme, pyélonéphrite, méningite, pneumonie, péritonite, leptospirose, salmonellose (Tableau 2). A l'inverse, devant les premiers cas, le risque est de ne pas évoquer le diagnostic.

Il est donc indispensable de confirmer ou d'infirmer un diagnostic de dengue pour plusieurs raisons :

- Pour adapter précocement la prise en charge.  
La prise en charge optimale de la dengue nécessite la recherche répétée de signes d'alerte, en particulier de signes de fuite plasmatique et la pratique d'une hydratation précoce et soutenue jusqu'à la guérison. Il est souvent nécessaire, notamment pendant la période critique, de voir les patients quotidiennement. Cette démarche est plus facile à organiser et à poursuivre quand le diagnostic est certain.
- Ecarter le diagnostic de dengue.  
Ecarter un diagnostic de dengue (avec un test suffisamment sensible) permet de se concentrer sur la recherche d'autres diagnostics dont certains vont conduire à la prescription d'une antibiothérapie (pyélonéphrite, leptospirose...), d'antiviraux ou d'antipaludiques.
- Interpréter correctement les résultats des examens biologiques.  
Au cours de la dengue, des anomalies biologiques, parfois inquiétantes, apparaissent selon une cinétique assez stéréotypée : lymphopénie, hyperlymphocytose, allongement du TCA, thrombopénie, cytolysse hépatique. Une thrombopénie à 20 000/mm<sup>3</sup> à 6 jours d'une dengue n'est pas inquiétante, ce qui n'est pas le cas dans d'autres infections. Dans le premier cas, la guérison est proche, dans les autres, il s'agit d'un signe de gravité.
- Renseigner précocement les services de LAV.  
Aux Antilles et en Guyane, c'est principalement la positivité des examens biologiques qui déclenche les actions de LAV.

Tableau 2 – Diagnostic différentiel de la dengue (d'après OMS 2009)

<p>↳ <u>A la phase fébrile :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Paludisme non compliqué</li> <li>- Primo-infection VIH</li> <li>- Virose aiguë exanthématique (rougeole, rubéole, MNI)</li> <li>- Autre arbovirose (Chikungunya,...)</li> <li>- Grippe</li> </ul>
<p>↳ <u>A la phase critique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Paludisme grave</li> <li>- Gastro-entérite aiguë</li> <li>- Leptospirose</li> <li>- Salmonellose</li> <li>- Rickettsiose</li> <li>- Méningo-encéphalite (dont infections invasives à méningocoque)</li> <li>- Sepsis bactérien</li> <li>- Abdomen aigu (appendicite, cholécystite, perforation...)</li> <li>- Maladie de Kawasaki</li> </ul>

## 7. Le diagnostic biologique

Le diagnostic biologique de la dengue fait appel à la détection du virus, de son génome ou d'antigènes viraux, constituant le diagnostic direct réservé au stade précoce de la maladie. La détection d'anticorps, ou diagnostic indirect, est quant à elle privilégiée à partir du 5<sup>e</sup> jour de la maladie (Shu & Huang, 2004).

### 7.1 Le diagnostic direct ou diagnostic précoce de la dengue

#### 7.1.1 Détection du virus ou de son génome

A partir de sérums obtenus entre le 1<sup>er</sup> et le 7<sup>e</sup> jour de maladie, la détection du virus peut être effectuée par isolement sur lignées continues de cellules de moustiques d'*Ae. pseudocustellaris* (AP61) ou d'*Ae. albopictus* (C6/36). Cependant, du fait de la classification des DENV comme agents biologiques de classe 3, il est impératif lors de la mise en culture de disposer d'un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (LSB 3). Cette technique est donc réservée aux centres nationaux de référence ou aux laboratoires de recherche ou hospitaliers équipés d'une telle infrastructure. De plus, cette méthode, bien que toujours considérée comme la technique de référence par l'OMS, ne permet de poser un diagnostic que dans un délai de trois à dix jours et n'est donc pas adaptée aux réponses en situation d'urgence.

Les méthodes moléculaires basées sur la RT-PCR (*Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction*) ont contribué à améliorer le diagnostic de la dengue en phase symptomatique et ouvert la voie à la caractérisation des types de DENV, primordiale dans un but de surveillance épidémiologique plus qu'à des fins diagnostiques (Lanciotti *et al.*, 1992; Harris *et al.*, 1998; Raengsakulrach *et al.*, 2002).

Plus récemment, des techniques de RT-PCR en temps réel se sont développées pour détecter DENV ou le sérotype en cause (Callahan *et al.*, 2001; Ito *et al.*, 2004; Chien *et al.*, 2006; Chao *et al.*, 2007; Levi *et al.*, 2007; Leparc-Goffart *et al.*, 2009). Bien qu'encore coûteuses, ces techniques permettent de s'affranchir des contraintes imposées par la RT-PCR conventionnelle liées principalement au risque de contamination mais ne présentent pas toujours une sensibilité suffisante pour supplanter complètement les techniques conventionnelles. L'isolement viral associé au séquençage permet de réaliser des études d'épidémiologie moléculaire utiles pour les autorités de santé et pour la compréhension de la circulation des souches de virus de la dengue.

### **7.1.2 Détection antigénique : la protéine NS1**

De récentes études sur la protéine non structurale 1 (NS1), spécifique de la dengue, ont mis en évidence de fortes concentrations sériques variant de 0,04 à 2 µg/ml entre J0 et J7 dans le sérum des patients infectés, et jusqu'au 9<sup>e</sup> jour de la maladie dans certains cas (Young *et al.*, 2000; Libraty *et al.*, 2002; Alcon *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2006). Bien que son rôle dans la pathogenèse de la maladie ne soit pas encore élucidé, la détection de cette protéine NS1 ouvre une nouvelle voie dans le diagnostic précoce de la dengue. Ainsi, en 2006, un premier test ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) basé sur la détection de l'antigène NS1 par immunocapture a été commercialisé. Ce test permet la mise en évidence de l'antigène NS1 dans le sérum des patients dès l'apparition des premiers signes cliniques et offre par la même un diagnostic précoce d'infection par DENV avec une sensibilité comprise entre 37 et 93 % en fonction des études (Tableau 3 : données des fabricants et Tableau 4 : évaluations publiées). Il a été proposé une stratégie diagnostique, validée en France par la Haute Autorité de Santé, qui recommande l'utilisation d'un test NS1 pour les prélèvements précoces obtenus entre J0 et J4 de la maladie et celle d'un test sérologique de type MAC-ELISA (*Immunoglobuline M Capture-ELISA*) au delà, permettant ainsi d'accroître la sensibilité du diagnostic de la dengue (Quentin, 2009). Un second test immunoenzymatique est commercialisé depuis celui de 1<sup>ère</sup> génération, présentant des performances moindres en termes de sensibilité, vraisemblablement à cause de la nature des anticorps pré-sensibilisés sur microplaques (Blacksell *et al.*, 2008; Bessoff *et al.*, 2008; Dussart *et al.*, 2008; McBride, 2009). Enfin, des tests rapides de type immunochromatographique (ICT) sous forme de bandelette rapide ou cassette ont récemment vu le jour, rendant encore plus accessible le diagnostic précoce de la dengue. Leurs performances restent néanmoins inférieures à celles des tests immunoenzymatiques (Dussart *et al.*, 2008; Hang *et al.*, 2009; Tricou *et al.*, 2010). Afin de minimiser les moindres performances des tests immunochromatographiques, un fabricant a couplé dans la même trousse deux cassettes permettant de détecter en parallèle l'antigène NS1 et les anticorps de type IgM et IgG mais les performances de la cassette anticorps ne sont pas bonnes (Diagnostics Evaluation Series n° 3, WHO 2009). Devant la multiplicité des tests NS1 au cours des dernières années, nous nous proposons de faire un récapitulatif le plus exhaustif possible des différentes évaluations publiées (tableau 4).

Au total, ces tests, s'ils ont une bonne spécificité, présentent une sensibilité très variable en fonction du sérotype de virus de la dengue responsable de l'infection (sensibilité souvent moins bonne pour le sérotype DENV-4). Ces tests présentent aussi une sensibilité moindre pour les patients développant une dengue secondaire. Ainsi, les IgG spécifiques dirigées contre le virus et exprimées très précocement lors d'une dengue secondaire pourraient se complexer aux protéines NS1 virales solubles, empêchant ainsi la détection de NS1 lors de la réalisation du test DENV (Kumarasamy *et al.*, 2007; Chuansumrit *et al.*, 2008; Bessoff *et al.*, 2008; Dussart *et al.*, 2008). Ceci amène donc à s'interroger sur l'utilisation de ce test dans les régions endémiques où une grande majorité des patients, en dehors des nourrissons, ne sont pas naïfs vis-à-vis d'une infection par le virus de la dengue. De la même manière, dans les situations où, comme en France métropolitaine, un diagnostic de certitude est nécessaire rapidement afin de prévenir la dissémination locale du virus, l'utilisation de ces tests sera sujette à caution. Par ailleurs, dans les zones géographiques où l'incidence de la maladie est faible, la valeur prédictive positive (VPP) du test de recherche de la protéine NS1 sera faible et son intérêt limité.

Tableau 3 - Caractéristiques des tests de dépistage de l'antigène NS1 de la dengue ayant le marquage CE, disponibles en France (actualisation septembre 2010, Afssaps)

Dénomination commerciale	Fabricant / Distributeur Fr.	Format	Performances annoncées par le fabricant (notice d'utilisation du réactif)
Platelia dengue NS1 Ag	Bio-Rad	Microplaque ELISA	<u>Sensibilité</u> : 91 % (n=177 par rapport à une RT-PCR) 87,1 % à 100 % en fonction des sérotypes De 100 % (J0 : apparition des symptômes) à 35,7 % (J>6) Dengue primaire : 98,5 % / dengue secondaire : 85,6 %  <u>Spécificité</u> : 100 % (n=618)
Dengue NS1 Ag Strip	Bio-Rad	Test rapide ICT unitaire (x 25)	<u>Sensibilité</u> : 92,3 % (n=237 par rapport au Platelia NS1) Dengue primaire : 97,3 % / dengue secondaire : 86,7 %  <u>Spécificité</u> : 100 % (n=253)
Dengue Early ELISA	Panbio / Diasorin	Microplaque ELISA	<u>Sensibilité</u> : Site 1 : 77,7 % (n=188 49 primaires / 139 secondaires) Site 2 : 76,0 % (n=75)  <u>Spécificité</u> : Site 1 : 93,6 % (n=47) Site 2 : 98,4 % (n=182)
Dengue Duo Rapid Test (Ag NS1 + IgG IgM)	Standard Diagnostics/ Eurobio	Test rapide ICT NS1 + anticorps unitaire (x 10 ou x 25)	<u>Sensibilité</u> : 92,8 % (n=107 par rapport à une RT-PCR)  <u>Spécificité</u> : 98,4 % (n=189)
SD Bioline NS1	Standard Diagnostics/ Eurobio	Test rapide ICT unitaire (x 10 ou x 25)	<u>Sensibilité</u> : 92,8 % (n=107 par rapport à une RT-PCR)  <u>Spécificité</u> : 98,4 % (n=189)
SD Dengue NS1 Ag ELISA (marqué CE mai 2010)	Standard Diagnostics/ Eurobio	Microplaque ELISA	<u>Sensibilité</u> : 92,7 % (n=131 par rapport à une RT-PCR et/ou culture)  <u>Spécificité</u> : 98,4 % (n=204)

Tableau 4 - Performances des différents tests de dépistage de l'antigène NS1 de la dengue dans différentes études publiées

Test	Sensibilité	Spécificité	Etude
<b>Platelia (Bio-Rad) (ELISA)</b>	67,3 % (57,1-76,4)	-	Finlande (Huhtamo <i>et al.</i> , 2010)
	37 %	99,5 %	Vietnam (Phuong <i>et al.</i> , 2009)
	73,6 % (63,7-81,6)	-	Australie (McBride, 2009)
	83,2 % (75,5-89,3)	100 % (86,7-100)	Vietnam (Hang <i>et al.</i> , 2009)
	71,3 % (61-80)	86,1 % (70,9-94,4)	Venezuela (Ramirez <i>et al.</i> , 2009)
	63,2 % (55,7-70,0)	98,4 % (91,7-99,7)	Thaïlande (Lapphra <i>et al.</i> , 2008)
	83,2 % (77,5-87,7)	100 % (92,1-100)	Porto Rico (Bessoff <i>et al.</i> , 2008)
	82,4 % (77,3-86,7)	100 % (92,6-100)	Guyane (Dussart <i>et al.</i> , 2008)
	92,3 % (64-99,8)	100 %	Thaïlande (Chuansumrit <i>et al.</i> , 2008)
	93,4 % (89,2-96,3)	100 % (98,9-100)	Singapore (Kumarasamy <i>et al.</i> , 2007)
	88,7 % (94-92,4)	100 % (98,9-100)	Guyane (Dussart <i>et al.</i> , 2006)
	66 % (34-76)	100 %	Amérique Latine & Asie du Sud-Est (Guzman <i>et al.</i> , 2010)
	83,6 %	98,7 %	Brésil (Lima Mda <i>et al.</i> , 2010)
	71,4 %	100 %	Inde (Datta & Wattal, 2010)
	61,2 % (55,2-67,2)	100 %	Martinique (Najioullah <i>et al.</i> , 2010)
81,7 % (73,1-88,4)	100 % (96,4-100)	Singapour (Pok <i>et al.</i> , 2010)	
<b>Pan E (Panbio) (ELISA)</b>	63,7 % (53,5-72)	-	Australie (McBride, 2009)
	60,9 % (50,4-70,5)	94,4 % (80,9-99,4)	Venezuela (Ramirez <i>et al.</i> , 2009)
	83,3 % (65,2-94,3)	-	Chine (Qiu <i>et al.</i> , 2009)
	64,9 % (58,2-71,1)	97,8 % (88,4-99,6)	Porto Rico (Bessoff <i>et al.</i> , 2008)
	55,1 % (49,0-61,2)	97,9 % (88,9-99,9)	Guyane (Dussart <i>et al.</i> , 2008)
	63 % (53-73)	100 %	Laos (Blacksell <i>et al.</i> , 2008)
	52 % (24-72)	89 %	Amérique Latine & Asie du Sud-Est (Guzman <i>et al.</i> , 2010)
	72,3 %	100 %	Brésil (Lima Mda <i>et al.</i> , 2010)
	67 % (57,3-75,7)	100 % (96,4-100)	Singapour (Pok <i>et al.</i> , 2010)

	72,8 % (64,1–80,3)	100 % (91,6–100)	Vietnam (Hang <i>et al.</i> , 2009)
	67,8 % (57,4–76,7)	94,4 % (80,9–99,4)	Venezuela (Ramirez <i>et al.</i> , 2009)
	90,4 % (86,6–94,4)	99,5 % (97,4–99,9)	Malaisie (Zainah <i>et al.</i> , 2009)
	98,9 % (96,8–100)	90,6 % (85,6–95,7)	Thaïlande (Chaiyaratana <i>et al.</i> , 2009)
<b>STRIP (Bio-Rad)</b>	77,3 % (0.54–0.92)	100 %	Chine (Shu <i>et al.</i> , 2009)
<b>(ICT)</b>	77,6 % (72.1–82.4)	100 % (92,6–100)	Guyane (Dussart <i>et al.</i> , 2008)
	61,6 % (55,2–67,8)	100 % (93,8–100)	Vietnam (Tricou <i>et al.</i> , 2010)
	89,6 %	99,1 %	Brésil (Lima Mda <i>et al.</i> , 2010)
	78,9 % (70,0–86,1)	99 % (94,6–99,9)	Singapour (Pok <i>et al.</i> , 2010)
	49,4 % (43.2–55.6)	100 %	Martinique (Najioullah <i>et al.</i> , 2010)
<b>SD NS1 (Standard Diagnostics)</b>	52 % (44–60)	98,75 %	Malaisie (Wang & Sekaran, 2010a)
<b>(ELISA ou ICT Duo)</b>	76,7 % (70–82,9)	98,3 % (94,9–100)	Malaisie (Wang & Sekaran, 2010b)
	62,4 % (56,1–68,4)	100 % (93,8–100)	Vietnam (Tricou <i>et al.</i> , 2010)

## 7.2 Le diagnostic indirect ou diagnostic sérologique

Le diagnostic sérologique de la dengue repose sur la détection d'IgM et d'IgG spécifiques en fonction de leur cinétique d'apparition au cours du temps. La détection des IgM met en œuvre des techniques ELISA de type capture, celle des IgG utilise préférentiellement des techniques de type ELISA indirect.

### 7.2.1 Cinétiques des anticorps dirigés contre DENV

Au cours d'une infection primaire, les IgM apparaissent au bout de cinq à six jours et les IgG sept à dix jours après les premiers signes cliniques et atteignent leur maximum en deux à trois semaines. Les IgM atteignent leur pic de sécrétion deux semaines après le début de la maladie. Dans certains cas, elles peuvent persister jusqu'à six mois après le premier épisode infectieux (Chen *et al.*, 1991; Talarmin *et al.*, 1998) (Fig. 3 A).

Lors d'une infection secondaire caractérisée par un contact avec un virus hétérologue, les IgG apparaissent plus précocement et leur taux croît progressivement durant environ deux semaines. Les IgM sont détectées à des taux plus faibles et dans certains cas peuvent être fugaces voire même absentes (Vaughn *et al.*, 1997; WHO, 1997; Shu & Huang, 2004). D'une manière générale, le titre global en anticorps augmente très rapidement dès la phase aiguë de l'infection et ces anticorps présentent une réactivité croisée significative vis-à-vis d'autres antigènes de *Flavivirus* (Burke & Nisalak, 1982; Innis *et al.*, 1989; Allwinn *et al.*, 2002; Vazquez *et al.*, 2003). D'un point de vue technique, l'observation d'une ascension du titre des IgG est rarement effectuée faute d'un second prélèvement effectué pendant la période de convalescence (Fig. 3 B).

Figure 3 A - Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection par DENV. Cas d'une infection primaire.

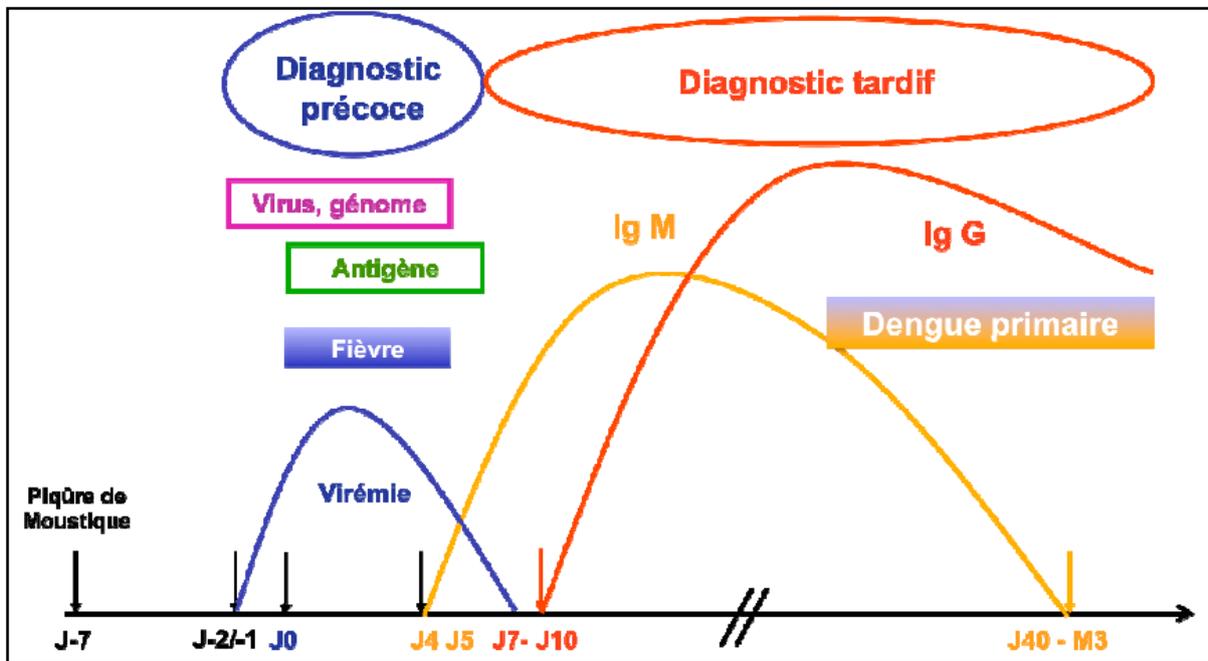
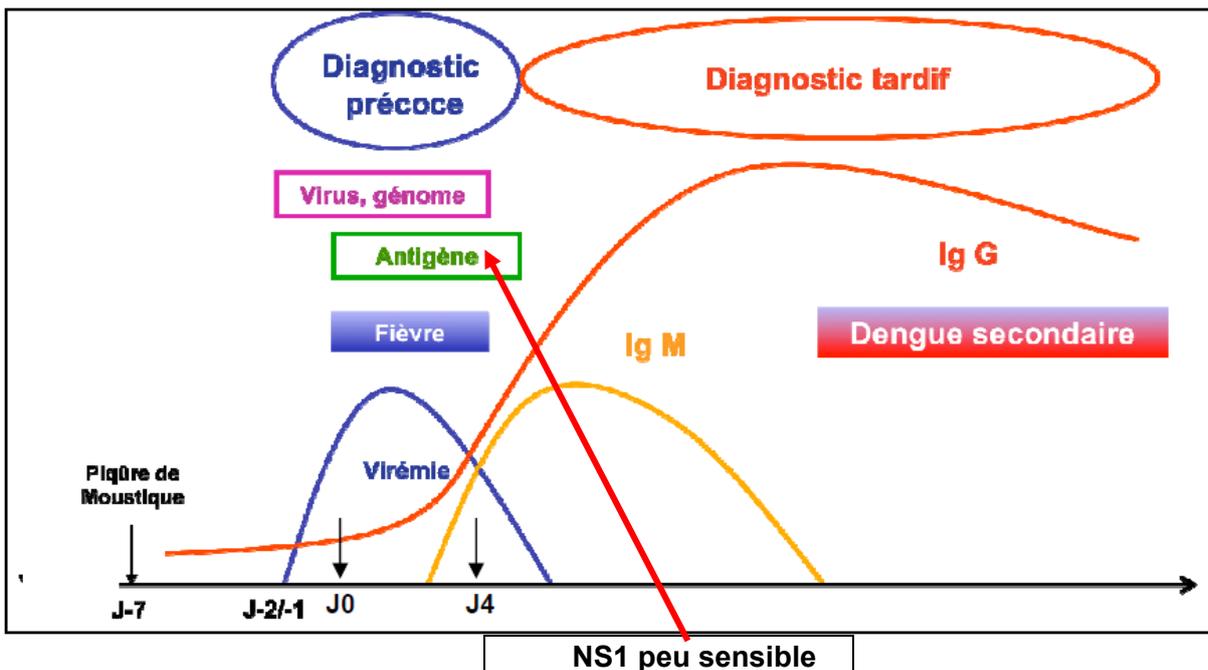


Figure 3 B – Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection par DENV. Cas d'une infection secondaire par un sérotype viral hétérologue.



### 7.2.2 Les tests immunoenzymatiques (ELISA) ou immunochromatographiques (ICT)

#### ➤ Les tests à visée diagnostique

La plupart des tests commerciaux actuellement disponibles utilisent des protéines virales d'enveloppe E et de membrane M pour la détection des IgM et des IgG. Certaines techniques développées par des laboratoires spécialisés de type centre de référence utilisent des extraits de broyats de cerveaux de souriceaux ou bien des antigènes obtenus à partir de surnageant de culture de cellules d'insectes ou de mammifères infectées. Le problème majeur de ces techniques mettant en jeu un mélange d'antigènes est leur manque de spécificité vis-à-vis des autres *Flavivirus* en raison de l'existence de réactivités croisées.

Devant le nombre important de tests commerciaux, l'OMS a récemment lancé un programme d'évaluation des principaux tests immunoenzymatiques disponibles sur le marché pour la détection des IgM via un réseau de laboratoires de référence afin d'en déterminer les performances (Hunsperger *et al.*, 2009).

A côté des trousse immunoenzymatiques, des tests commerciaux de type immunochromatographique (ICT) sont également disponibles (Guzman & Kouri, 2004), mais tous ne présentent pas des performances optimales (Blacksell *et al.*, 2008). D'après les données de l'évaluation de l'OMS, aucun de ces tests ICT ne montre une performance acceptable (Hunsperger *et al.*, 2009) (Diagnostics Evaluation Series n° 3, WHO 2009). Enfin, d'après les données de cette étude, il y a aussi des cas de faux positifs IgM dengue pour ces tests commerciaux avec des sérums de patients atteints du paludisme et des sérums de patients atteints de leptospirose.

En conclusion, le diagnostic de la dengue basé sur la détection du virus, de son génome ou de la protéine NS1 représente un diagnostic précoce ou diagnostic de certitude. A contrario, la détection d'anticorps représente un diagnostic tardif et probabiliste en dehors d'un contexte épidémiologique connu, du fait d'un manque de spécificité des tests sérologiques actuellement disponibles vis-à-vis des autres *Flavivirus*.

#### ➤ Les tests permettant de différencier une dengue primaire d'une dengue secondaire

Au delà du diagnostic sérologique de la dengue, du fait de la théorie de la facilitation immunologique, il apparaît important, d'un point de vue épidémiologique, de pouvoir discriminer précocement le statut immunologique d'un patient, "infection primaire" ou "infection secondaire". Les méthodes de séroneutralisation ou d'inhibition de l'hémagglutination sur une paire de sérums sont les tests de références pour distinguer dengue primaire et secondaire, mais sont difficilement réalisables en pratique courante et manquent de spécificité vis-à-vis du virus ou de l'antigène viral testé.

Des techniques, basées sur le calcul du ratio IgM/IgG spécifiques dirigées contre DENV, permettent de distinguer une infection primaire d'une infection secondaire (Innis *et al.*, 1989; Shu *et al.*, 2003). Ces méthodes initialement issues de techniques propres à un laboratoire sont actuellement fréquemment utilisées, et mêmes disponibles sous forme de kits commerciaux. Certaines trousse permettent la capture des IgG et n'utilisent pas un format de type ELISA indirect : suivant leur négativité ou positivité durant les 5 premiers jours de la maladie, elles discriminent correctement une infection primaire d'une secondaire (Shu & Huang, 2004) (Fig. 1). Le test Panbio *Dengue IgG Capture ELISA* (Brisbane, Australia) a fait l'objet d'évaluation montrant une discrimination des infections primaires et secondaires suffisante pour permettre son utilisation dans des études cliniques (Vaughn *et al.*, 1999; Vazquez *et al.*, 2007; Thomas *et al.*, 2008). La persistance des IgM spécifiques dans certains cas jusqu'à six mois après l'infection, conjuguée aux possibles réactions croisées des IgM induites par d'autres *Flavivirus*, rend difficile la classification des cas selon les résultats des IgM.

## 8. Modalités du diagnostic biologique

La place des différents tests du diagnostic biologique de la dengue est précisée dans le tableau 5, indépendamment de la situation épidémiologique dans la zone considérée.

Dans une région géographique donnée, les indications respectives de ces tests sont fonction :

- de la situation épidémiologique ;

- de la disponibilité des tests ;
- de la situation clinique.

La disponibilité des tests est précisée dans le tableau 6. Le tableau 7 résume les différentes situations.

- **En France métropolitaine, en zone d'implantation d'*Ae. albopictus***, le diagnostic biologique direct de la dengue chez un cas suspect importé ou autochtone repose sur la pratique d'emblée de la RT-PCR, pour assurer une confirmation diagnostique et effectuer un sérotypage (sauf en présence de nombreux cas importés revenant d'une zone épidémique déjà connue).  
La pratique de ces tests relève dans ce contexte des CNR. En cas d'activité importante des CNR, il faut envisager de faire pratiquer ces tests au niveau des laboratoires de biologie des hôpitaux (CHU, CHR) en anticipant un transfert de technologie.  
Dans cette situation, l'utilisation du test de recherche de l'Ag NS1 ne pourra être recommandée pour le diagnostic de cas cliniquement suspects de dengue, que dans la seule éventualité d'une épidémie avérée sur le territoire métropolitain, dans le but de soulager les capacités diagnostiques des structures réalisant le diagnostic direct par RT-PCR (CHU, CHR, CNR).
- **En Métropole, en dehors de la zone d'implantation d'*Ae. Albopictus***, la RT-PCR reste le test diagnostique direct de première intention. La pratique du test ne relève pas ici d'un objectif de surveillance épidémiologique mais d'une stratégie diagnostique. De façon à ne pas surcharger l'activité des CNR, la pratique du test doit s'envisager au niveau des laboratoires de biologie médicale privés agréés et des laboratoires des CHU et CHR. La prise en charge de l'examen justifierait son inscription sur la liste des actes pris en charge par l'Assurance maladie.  
L'utilisation du test de recherche de l'Ag NS1 ne pourra être recommandée que pour le diagnostic de cas cliniquement suspects de dengue importés d'une zone d'épidémie avérée, en raison d'une valeur prédictive positive (VPP) du test un peu plus élevée.
- **En Martinique et en Guadeloupe**, la forte probabilité de survenue d'infections récentes secondaires (pour lesquelles la sensibilité du test de recherche de l'Ag NS1 est faible) conduit à recommander (et en pratique, à utiliser) le recours immédiat au diagnostic direct par RT-PCR.  
En période épidémique, l'intérêt du test de recherche de l'Ag NS1 restera également très limité pour le diagnostic des formes simples, la VPP de la définition d'un cas clinique devenant très élevée. Les patients hospitalisés (signes d'alerte, formes sévères, comorbidités) bénéficieront d'un diagnostic immédiat par RT-PCR.  
La pratique du test dans ce contexte justifierait son inscription sur la liste des tests pris en charge par l'Assurance maladie.
- **En Guyane**, en dehors du Centre national de référence de l'Institut Pasteur de Cayenne, l'absence de laboratoire en mesure d'effectuer un diagnostic direct par RT-PCR amène les professionnels de santé à utiliser largement le test de recherche de l'Ag NS1 dans les Centres hospitaliers et les Centres de santé périphériques. Il s'agit là d'une utilisation par défaut.
- **Dans l'Océan indien**, la VPP du test de recherche de l'antigène NS1 est faible en raison de la très faible incidence de la maladie. La pratique immédiate du test direct par RT-PCR est ici également recommandée.  
L'utilisation du test de recherche de l'Ag NS1 ne pourra être recommandée pour le diagnostic de cas cliniquement suspects de dengue, que pour les cas importés d'une zone d'épidémie avérée, ou au cours d'une épidémie avérée dans ce territoire, dans le but de soulager les capacités diagnostiques des structures réalisant le diagnostic direct par RT-PCR.
- **La situation dans la région Pacifique Sud** est comparable à celle observée dans les DFA.

Les algorithmes décisionnels dans les différentes localisations géographiques, en fonction des situations cliniques, sont présentés en annexe.

Tableau 5 - Place des différents tests de diagnostic biologique de la dengue, indépendamment de la zone géographique.

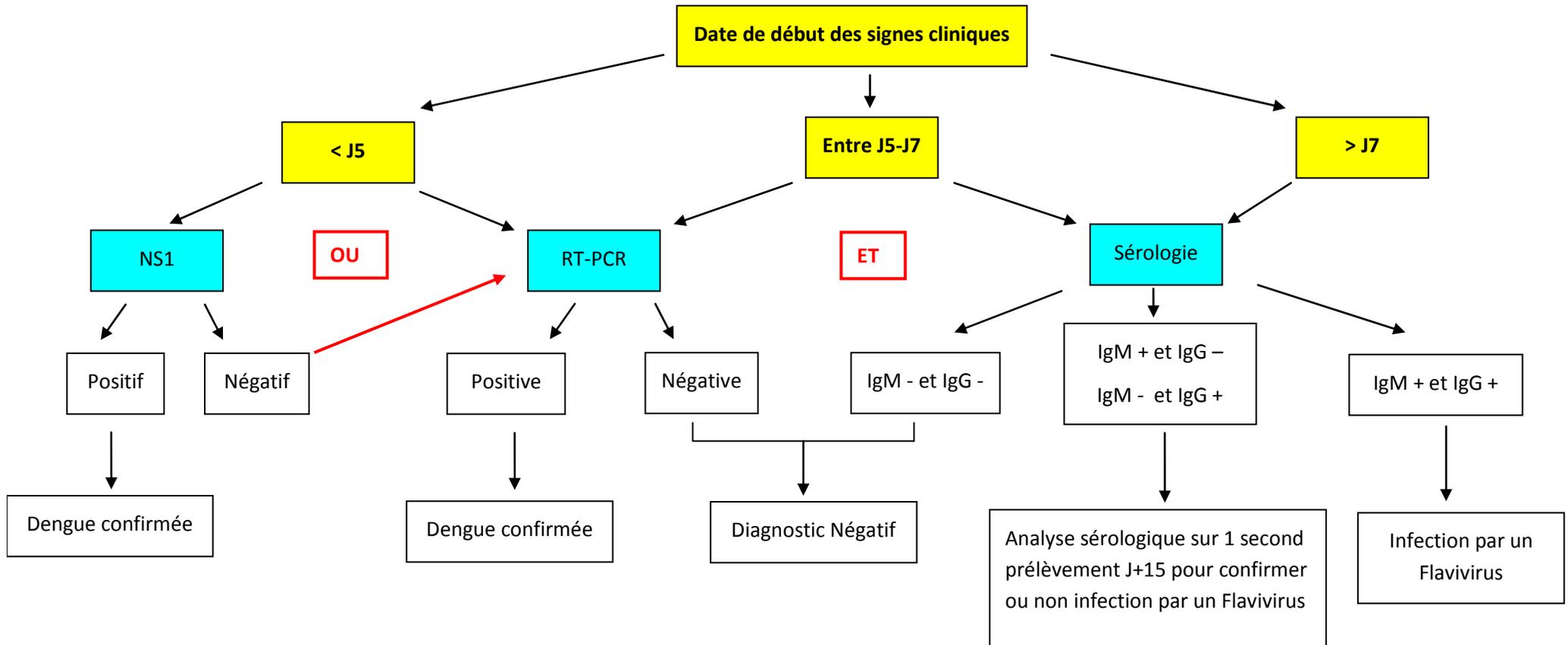


Tableau 6 - Capacités en tests de diagnostic biologique de la dengue selon les régions et établissements

Régions / Etablissements	Diagnostic indirect				Diagnostic direct					
	ELISA		Tests rapides		RT-PCR		Antigénémie NS1		Isolement viral	
	Routine	En développement	Routine	En développement	Routine	En développement	Routine	En développement	Routine	En développement
<b>Métropole</b>										
CNR IP, Paris	X				X		**		X	
CNR associé IRBA, Marseille	X				X		**		X	
CHU La Timone, Marseille	X		X		X		X			
CHU Nice										
CHU Bordeaux		X			X					
CHU Avicenne, Paris		X	X				X			
Laboratoire Biomnis	X				X			X		
Laboratoire CERBA	X					X		X		
CHU Montpellier						X				
HIA Legouest (Metz)					X					
<b>Région Antilles - Guyane</b>										
IP Guyane	X				X				X	
LABM (Guyane)							X			
CHU Fort de France, Martinique	X				X					
CHU Pointe à Pitre, Guadeloupe	X						X			
IP de la Guadeloupe										
<b>Région Océan Indien</b>										
CHR Félix Guyon, St Denis, La Réunion	X				X				*	
GHSR, St Pierre, La Réunion	X				X				*	
<b>Région Pacifique Sud</b>										
IP Nouvelle-Calédonie	X				X		X			
Institut Malardé, Tahiti	X				X		X		*	
CH de Polynésie française			X			X	X			

X : test disponible ; \* : en capacité ; \*\* : recours occasionnel

Tableau 7 - Indication des différents tests de diagnostic biologique de la dengue en fonction de la situation épidémiologique

<b>Zone géographique</b>	<b>Situation épidémiologique</b>	<b>Tests à réaliser</b>	<b>Indications selon situation clinique</b>
<b>Métropole Zone Aedes +</b>	rare	En fonction de la date de début, PCR ou sérologie.  Tests NS1 si situation épidémique (débordement des CNR)	Voir tableaux suivants
<b>Océan indien</b>	sporadique	En fonction de la date de début, PCR ou sérologie.  Tests NS1 si situation épidémique	
<b>Antilles</b>	Hyper-endémique	En fonction de la date de début, PCR ou sérologie.	
<b>Guyane</b>	Hyper-endémique	NS1 (insuffisance infrastructure)	

## 9. Conclusion

La place des différents tests biologiques pour le diagnostic de la dengue doit s'envisager dans une région géographique donnée en fonction de la situation épidémiologique, de la situation clinique et de la disponibilité des tests. Les modalités de diagnostic présentées dans ces recommandations tiennent compte de ces éléments.

La mise à disposition de tests de diagnostic direct (RT-PCR et détection de la protéine NS1) amène à envisager le positionnement de ces tests dans le diagnostic précoce de la maladie.

Du fait des limites liées à la sensibilité des méthodes de détection de la protéine NS1, la pratique de la RT-PCR en première intention fait l'objet de recommandations larges.

Dans ce contexte, il faut envisager, dans certaines situations, de faire pratiquer ce test en métropole au niveau des laboratoires de biologie des hôpitaux (CHU et CHR) et des laboratoires de biologie médicale privés agréés. En Guyane, il faut assurer une mise à disposition plus large de la technique de RT-PCR pour le diagnostic précoce de la dengue.

La pratique de ce test dans une stratégie diagnostique et non de surveillance épidémiologique doit faire envisager l'inscription de l'examen sur la liste des actes pris en charge par l'Assurance maladie.

Les données présentées dans ce document mériteront d'être mises à jour en fonction de l'évolution des tests diagnostiques et de l'épidémiologie de la maladie.

## RÉFÉRENCES

- Alcon S, Talarmin A, Dedruyne M, Falconar A, Deubel V, Flamand M. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 376-81.
- Allwinn R, Doerr HW, Emmerich P, Schmitz H, Preiser W. Cross-reactivity in flavivirus serology: new implications of an old finding? *Med Microbiol Immunol* 2002; 190: 199-202.
- Appanna R, Ponmampalavanar S, Lum Chai See L, Sekaran SD. Susceptible and Protective HLA Class 1 Alleles against Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever Patients in a Malaysian Population. *PLoS ONE* 2010 ;5(9):e13029.
- Bessoff K, Delorey M, Sun W, Hunsperger E. Comparison of two commercially available dengue virus (DENV) NS1 capture enzyme-linked immunosorbent assays using a single clinical sample for diagnosis of acute DENV infection. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15: 1513-8.
- Blacksell SD, Mammen MP Jr, Thongpaseuth S, Gibbons RV, Jarman RG, Jenjaroen K, Nisalak A., Phetsouvanh R, Newton PN, Day NP. Evaluation of the Panbio dengue virus nonstructural 1 antigen detection and immunoglobulin M antibody enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of acute dengue infections in Laos. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60: 43-9.
- Burke DS, Nisalak A. Detection of Japanese encephalitis virus immunoglobulin M antibodies in serum by antibody capture radioimmunoassay. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 353-61.
- Callahan JD, Wu SJ, Dion-Schultz A, Mangold BE, Peruski LF, Watts DM, Porter KR, Murphy GR, Suharyono W, King CC, Hayes CG, Temenak JJ. Development and evaluation of serotype- and group-specific fluorogenic reverse transcriptase PCR (TaqMan) assays for dengue virus. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4119-24.
- Castro-Jorge LA, Machado PR, Favero CA, Borges MC, Passos LM, De Oliveira RM, Fonseca BA. Clinical evaluation of the NS1 antigen-capture ELISA for early diagnosis of dengue virus infection in Brazil. *J Med Virol* 2010; 82: 1400-5.
- Chaiyaratana W, Chuansumrit A, Pongthanapisith V, Tangnararatchakit K, Lertwongrath S, Yoksan S. Evaluation of dengue nonstructural protein 1 antigen strip for the rapid diagnosis of patients with dengue infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 64: 83-4.
- Chao DY, Davis BS, Chang GJ. Development of multiplex real-time reverse transcriptase PCR assays for detecting eight medically important flaviviruses in mosquitoes. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 584-9.
- Chen WJ, Hwang KP, Fang AH. Detection of IgM antibodies from cerebrospinal fluid and sera of dengue fever patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1991; 22: 659-63.
- Chien LJ, Liao TL, Shu PY, Huang JH, Gubler DJ, Chang GJ. Development of real-time reverse transcriptase PCR assays to detect and serotype dengue viruses. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1295-304.
- Chuansumrit A, Chaiyaratana W, Pongthanapisith V, Tangnararatchakit K, Lertwongrath S, Yoksan S. The use of dengue nonstructural protein 1 antigen for the early diagnosis during the febrile stage in patients with dengue infection. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: 43-8.
- Datta S, Wattal C. Dengue NS1 antigen detection: a useful tool in early diagnosis of dengue virus infection. *Indian J Med Microbiol* 2010; 28: 107-10.
- Dussart P, Labeau B, Lagathu G, Louis P, Nunes MR, Rodrigues SG, Storck-Herrmann C, Cesaire R, Morvan J, Flamand M, Baril L. Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of dengue virus NS1 antigen in human serum. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13: 1185-9.
- Dussart P, Petit L, Labeau B, Bremand L, Leduc A, Moua D, Matheus S, Baril L. (2008) Evaluation of Two New Commercial Tests for the Diagnosis of Acute Dengue Virus Infection Using NS1 Antigen Detection in Human Serum. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2: e280.
- Fink J, Gu F, Vasudevan SG. Role of T cells, cytokines and antibody in dengue fever and dengue haemorrhagic fever. *Rev Med Virol*. 2006; 16(4): 263-75.
- Gratz NG. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Med Vet Entomol* 2004; 18: 215-27.

- Guzman MG, Jaenisch T, Gaczkowski R, Ty Hang VT, Sekaran SD, Kroeger A, Vazquez S, Ruiz D, Martinez E, Mercado JC, Balmaseda A, Harris E, Dimano E, Leano PS, Yoksan S, Villegas E, Benduzu H, Villalobos I, Farrar ., Simmons CP. Multi-country evaluation of the sensitivity and specificity of two commercially-available NS1 ELISA assays for dengue diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4.
- Guzman MG, Kouri G. Dengue diagnosis, advances and challenges. *Int J Infect Dis* 2004; 8: 69-80.
- Halstead SB. Dengue. *Lancet* 2007; 370 (9599): 1644-52.
- Halstead SB. Dengue virus-mosquito interactions. *Annu Rev Entomol* 2008; 53: 273-291.
- Hang VT, Nguyet NM, Trung DT, Tricou V, Yoksan S, Dung NM, Van Ngoc T, Hien TT, Farrar J, Wills B, Simmons CP. Diagnostic Accuracy of NS1 ELISA and Lateral Flow Rapid Tests for Dengue Sensitivity, Specificity and Relationship to Viraemia and Antibody Responses. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; 3: e360.
- Harris E, Roberts TG, Smith L, Selle J, Kramer LD, Valle S, Sandoval E, Balmaseda A. Typing of dengue viruses in clinical specimens and mosquitoes by single-tube multiplex reverse transcriptase PCR. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2634-9.
- Huhtamo E, Hasu E, Uzcategui NY, Erra E, Nikkari S, Kantelle A, Vapalahti O, Piiparinen H. Early diagnosis of dengue in travelers: comparison of a novel real-time RT-PCR, NS1 antigen detection and serology. *J Clin Virol* 2010; 47: 49-53.
- Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P, Nguyen VC, Sekaran SD, Enria DA, Pelegrino JL, Vazquez S, Artsob H, Drebot M, Gubler DJ, Halstead SB, Guzman MG, Margolis HS, Nathanson CM, Rizzo Lic NR, Bessoff KE, Kliks S, Peeling RW. Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 436-40.
- Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerdchariya S, Chongswasdi V, Suntayakorn S, Puttisri P, Hoke CH. An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 40: 418-27.
- Ito M, Takasaki T, Yamada K, Nerome R, Tajima S, Kurana I. Development and evaluation of fluorogenic TaqMan reverse transcriptase PCR assays for detection of dengue virus types 1 to 4. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 5935-7.
- Jansen CC, Beebe NW. The dengue vector *Aedes aegypti*: what comes next. *Microbes and Infection* 2010; 12: 272-279.
- Kumarasamy V, Wahab AH, Chua SK, Hassan Z, Chem YK, Mohamad M, Chua K. B. Evaluation of a commercial dengue NS1 antigen-capture ELISA for laboratory diagnosis of acute dengue virus infection. *J Virol Methods* 2007; 140: 75-9.
- Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 545-51.
- Lapphra K, Sangcharaswichai A, Chokephaibulkit K, Tiengrim S, Piriyaakarnsakul W, Chakorn T, Yoksan S., Wattanamongkolsil L, Thamlikitkul V. Evaluation of an NS1 antigen detection for diagnosis of acute dengue infection in patients with acute febrile illness. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60: 387-91.
- Leparc-Goffart I, Baragatti M, Tennam S, Tuiskunen A, Moureau G., Charrel R, de Lamballerie X. Development and validation of real-time one-step reverse transcription-PCR for the detection and typing of dengue viruses. *J Clin Virol* 2009; 45: 61-6.
- Levi JE, Tateno AF, Machado AF, Ramalho DC, De Souza VA, Guilarde AO, De Rezende Feres VC, Martelli CM, Turchi MD, Siqueira JB Jr., Pannuti CS. Evaluation of a commercial real-time PCR kit for detection of dengue virus in samples collected during an outbreak in Goiania, Central Brazil, in 2005. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1893-7.
- Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, Vaughn DW, Nisalak A, Ennis FA, Rothman AL. High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2002; 186: 1165-8.

- Lima Mda R, Nogueira RM, Schatzmayr HG, Dos Santos FB. Comparison of three commercially available dengue NS1 antigen capture assays for acute diagnosis of dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e738.
- McBride WJ. Evaluation of dengue NS1 test kits for the diagnosis of dengue fever. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 64: 31-6.
- Najioullah F, Combet E., Patrel L, Martial J, Koulmann L, Thomas L, Hatchuel Y, Cabié A, Cesaire R. Prospective evaluation of NS1 ELISA and rapid immunochromatographic tests to detect dengue virus in patients with acute febrile illness. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; In press.
- Phuong HL, Thai KT, Nga TT, Giao PT, Hung Le Q, Binh TQ, Nam NV, Groen J, De Vries PJ. Detection of dengue nonstructural 1 (NS1) protein in Vietnamese patients with fever. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 63: 372-8.
- Pok KY, Lai YL, Sng J., Ng L. C. Evaluation of Nonstructural 1 Antigen Assays for the Diagnosis and Surveillance of Dengue in Singapore. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010; 10(10): 1009-16
- Qiu LW, Di B, Wen K, Wang XS, Liang WH, Wang YD, Pan YX, Wang M, Ding YQ, Che XY. Development of an antigen capture immunoassay based on monoclonal antibodies specific for dengue virus serotype 2 nonstructural protein 1 for early and rapid identification of dengue virus serotype 2 infections. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16: 88-95.
- Quentin F. Détection de l'antigène NS1 de la dengue - Rapport d'évaluation technologique. Haute Autorité de santé: Service évaluation des actes professionnels, 2009; pp 1-52.
- Raengsakulrach B, Nisalak A, Mannekarn N, Yenchitsomanus PT, Limsomwong C, Jairungsri A, Thirawuth V, Green S, Kalayanarooj S, Suntayakorn S, Sittisombut N, Malasit P, Vaughn D. Comparison of four reverse transcription-polymerase chain reaction procedures for the detection of dengue virus in clinical specimens. *J Virol Methods* 2002; 105: 219-32.
- Ramirez AH, Moros Z, Comach G, Zambrano J, Bravo L, Pinto B, Vielma S, Cardier J, Liprandi F. Evaluation of dengue NS1 antigen detection tests with acute sera from patients infected with dengue virus in Venezuela. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 65: 247-53.
- Rosen L, Shroyer DA, Tesch RB, Freier JE, Lien JC. Transovarial transmission of dengue viruses by mosquitoes: *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 1983; 32: 1108-1119.
- Rothman AL. Dengue: defining protective versus pathologic immunity. *J. Clin. Invest.* 2004; 113(7): 946-951.
- Sangkawibha N, Rojanasuphot S, Ahandrik S *et al.* Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Thailand. *Am J Epidemiol* 1984; 120: 653-69.
- Shu PY, Chen LK, Chang SF, Yueh YY, Chow L, Chien LJ, Chin C, Lin TH, Huang JH. Comparison of capture immunoglobulin M (IgM) and IgG enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and nonstructural protein NS1 serotype-specific IgG ELISA for differentiation of primary and secondary dengue virus infections. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10: 622-30.
- Shu PY, Huang JH. Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11: 642-50.
- Shu PY., Yang CF., Kao JF, Su CL, Chang SF *et al.* Application of the dengue virus NS1 antigen rapid test for on-site detection of imported dengue cases at airports. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16: 589-91.
- Talarmin A, Labeau B, Lelarge J, Sarthou JL. Immunoglobulin A-specific capture enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of dengue fever. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1189-92.
- Thomas L, Verlaeten O, Cabié A, Kaidomar S, Moravie V, Martial J, Najioullah F, Plumelle Y, Fonteau C, Dussart P, Cesaire R. Influence of the dengue serotype, previous dengue infection, and plasma viral load on clinical presentation and outcome during a dengue-2 and dengue-4 co-epidemic. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78: 990-8.
- Tricou V, Vu HT, Quynh NV, Nguyen CV, Tran HT, Farrar J, Wills B, Simmons CP. (2010) Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infect Dis*, 2010; 10: 142.

- Vasilakis N, Weaver SC. The history and evolution of human dengue emergence. *Adv Virus Res* 2008; 72: 1-76.
- Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Rothman AL, Ennis FA, Nisalak A. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. *J Infect Dis* 1997; 176: 322-30.
- Vaughn DW, Nisalak A, Solomon T, Kalayanarooj S, Nguyen MD, Kneen R, Cuzzubbo A, Devine P.L. Rapid serologic diagnosis of dengue virus infection using a commercial capture ELISA that distinguishes primary and secondary infections. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60: 693-8.
- Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Endy TP, Raengsakulrach B, Rothmann AL, Ennis FA, Nisalak A. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis*. Jan 2000; 181(1): 2-9
- Vazquez S, Hafner G, Ruiz D, Caldaza N, Guzman MG. Evaluation of immunoglobulin M and G capture enzyme-linked immunosorbent assay Panbio kits for diagnostic dengue infections. *J Clin Virol* 2007; 39: 194-8.
- Vazquez S, Valdes O, Pupo M, Delgado I, Alvarez M, Pelegrino JL, Guzman MG. MAC-ELISA and ELISA inhibition methods for detection of antibodies after yellow fever vaccination. *J Virol Methods* 2003; 110: 179-84.
- Wang SM, Sekaran SD. Early diagnosis of Dengue infection using a commercial Dengue Duo rapid test kit for the detection of NS1, IGM, and IGG. *Am J Trop Med Hyg* 2010a; 83: 690-5.
- Wang SM, Sekaran SD. Evaluation of a commercial SD dengue virus NS1 antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay kit for early diagnosis of dengue virus infection. *J Clin Microbiol* 2010b; 48: 2793-7.
- WHO. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control, Geneva, World Health Organization, 2007.
- WHO. Diagnostics Evaluation Series n°3, 2009.
- WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition 2009.
- Xu H, Di B, Pan YX, Qiu LW, Wang YD, Hao W, He L.J, Yuen KY, Che XY. Serotype 1-specific monoclonal antibody-based antigen capture immunoassay for detection of circulating nonstructural protein NS1: Implications for early diagnosis and serotyping of dengue virus infections. *J Clin Microbiol*, 2006; 44: 2872-8.
- Young PR, Hilditch PA, Bletchly C, Halloran W. An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1053-7.
- Zainah S, Wahab AH, Mariam M, Fauziah MK, Khairul AH, Roslina I, Sairulakhma A, Kadimon SS, Jais MS, Chua KB. Performance of a commercial rapid dengue NS1 antigen immunochromatography test with reference to dengue NS1 antigen-capture ELISA. *J Virol Methods* 2009; 155: 157-60.

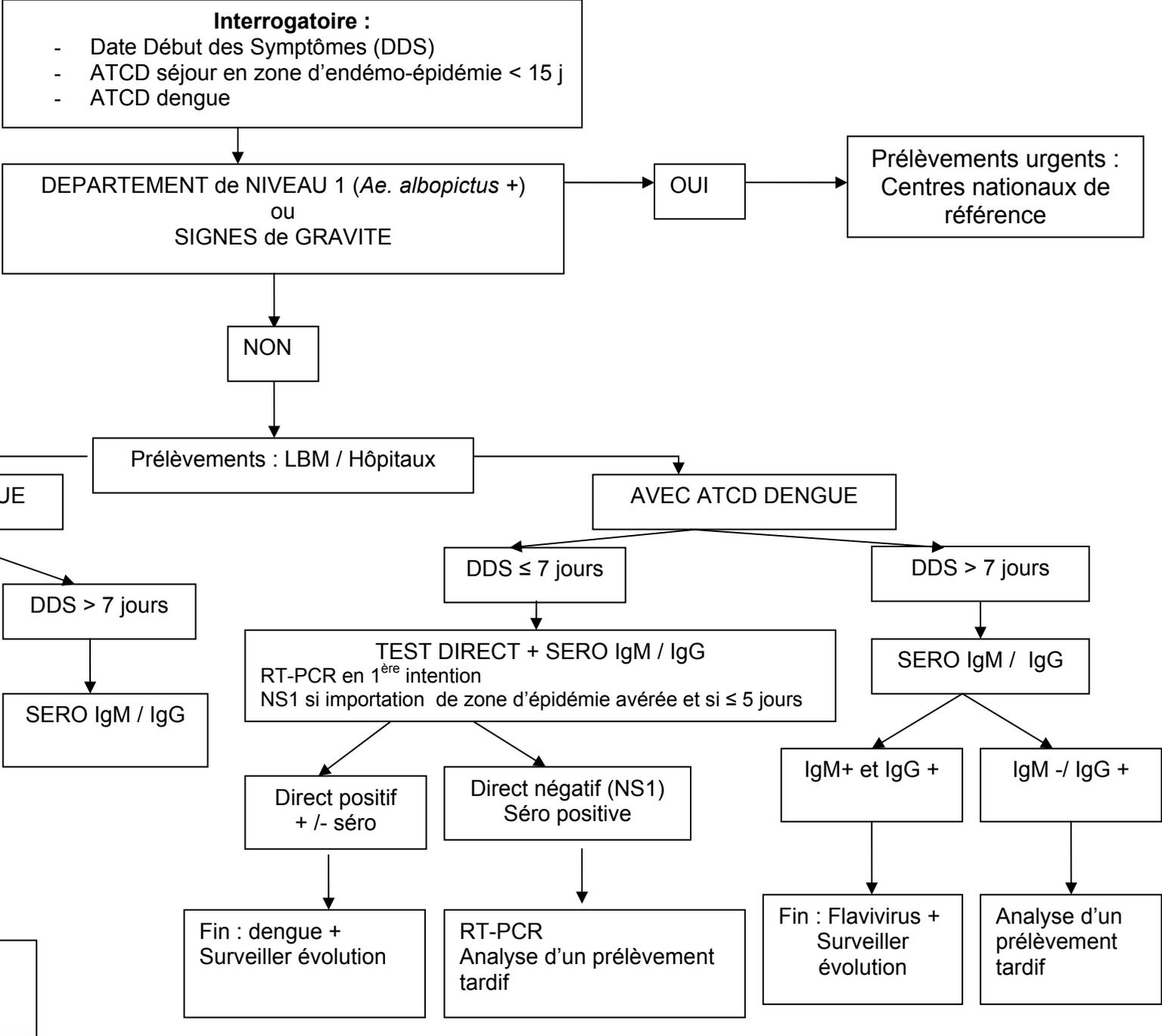
## **ANNEXE – ALGORITHMES DECISIONNELS**

**Algorithme Métropole**

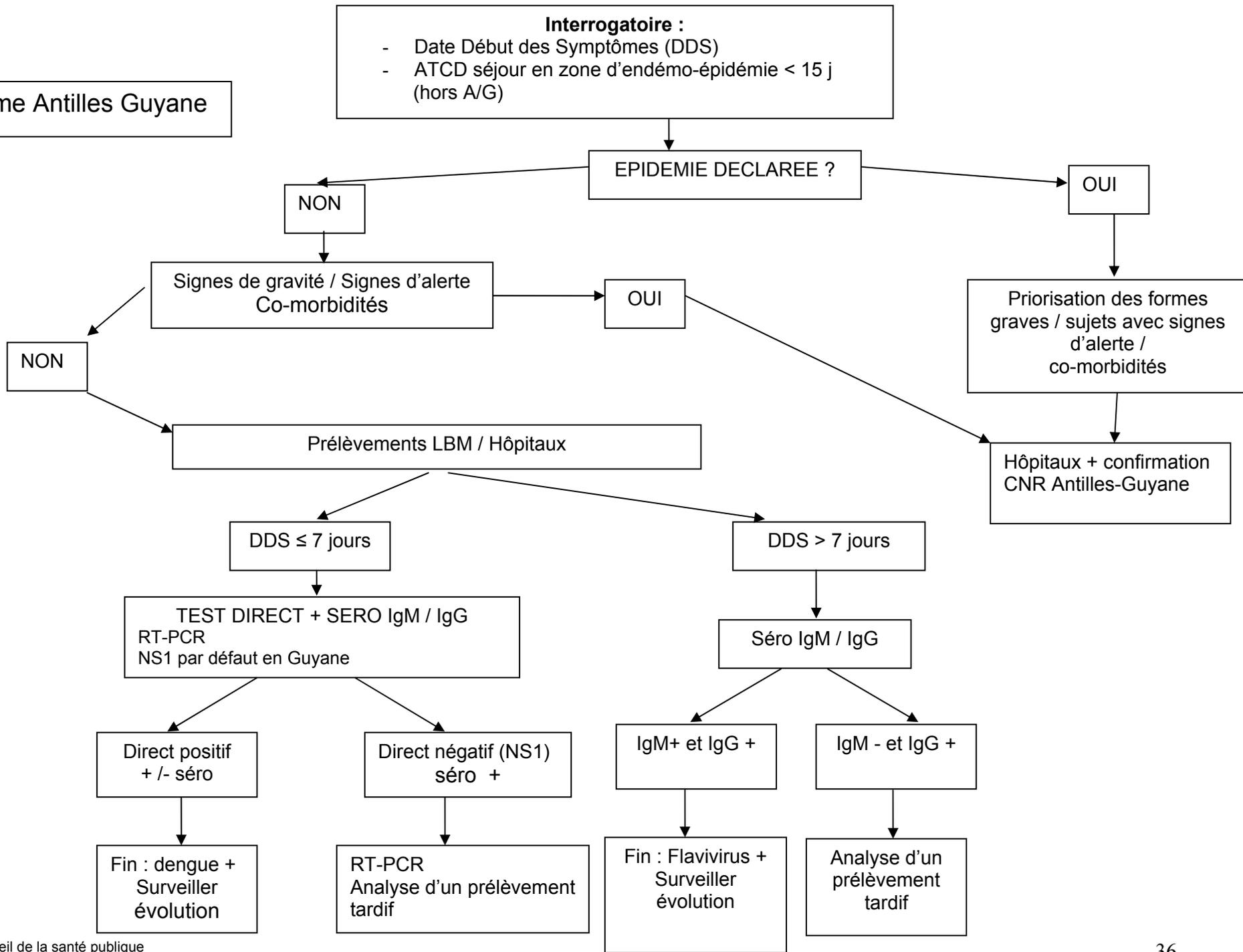
**Algorithme Antilles – Guyane**

**Algorithme Océan indien**

# Algorithme Métropole



Algorithme Antilles Guyane



**Algorithme  
Océan Indien**

**Interrogatoire**

- DDS
- ATCD séjour en zone d'endémo-épidémie
- ATCD dengue

**SIGNES DE GRAVITE**

**NON**

**OUI**

**Hôpitaux + confirmation CNR**

**Prélèvement LBM / Hôpitaux**

**SANS ATCD DENGUE**

**AVEC ATCD DENGUE**

**DDS ≤ 7 jours**

**DDS > 7 jours**

**DDS ≤ 7 jours**

**DDS > 7 jours**

**TESTS DIRECTS**  
RT-PCR  
NS1 dans certaines situations

**Séro IgM / IgG**

**SERO IgM / IgG + TEST DIRECT**  
RT-PCR  
NS1 dans certaines situations

**Séro IgM / IgG**

**Direct positif**

**Direct négatif (NS1)**

**Direct positif  
+/- séro**

**Direct négatif (NS1)  
séro +**

**IgM+ et IgG +**

**IgM -/ IgG +**

**Fin : dengue +  
Surveiller évolution**

**RT-PCR  
Séro IgM/IgG**

**Fin : dengue +  
Surveiller évolution**

**RT-PCR  
Analyse d'un  
prélèvement tardif**

**Fin : Flavivirus +  
Surveiller évolution**

**Analyse d'un  
prélèvement  
tardif**

## GLOSSAIRE

Afssaps	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé
CMVI	Comité des maladies liées aux voyages et des maladies d'importation
DFA	Départements français d'Amérique
HAS	Haute Autorité de santé
IMTSSA	Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées
InVS	Institut de veille sanitaire
Lav	Lutte anti-vectorielle
Chu	Centre hospitalier universitaire
CHR	Centre hospitalier régional
CNR	Centre national de référence
HCSP	Haut Conseil de la santé publique
NFS	Numération formule sanguine
OMS	Organisation mondiale de la santé
Psage	Programme de surveillance, d'alerte et de gestion des épidémies
VPP	Valeur prédictive positive
WHO	<i>World Health Organisation</i>

## TABLE DES MATIERES

<b>SOMMAIRE</b>	<b>3</b>
<b>SAISINE</b>	<b>5</b>
<b>COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL</b>	<b>7</b>
<b>1. Introduction</b>	<b>9</b>
<b>2. Les virus de la dengue</b>	<b>9</b>
<b>3. La transmission des virus, données entomologiques</b>	<b>10</b>
<b>4. Relations hôte-DENV, physiopathologie des formes graves</b>	<b>11</b>
<b>5. Epidémiologie : zones de transmission, modalités de surveillance, données Outre-mer et métropole</b>	<b>11</b>
5.1 Situation 1. En l'absence de circulation virale autochtone établie : situation actuelle en France métropolitaine	12
5.1.1 <i>Situation 1A - Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) en métropole chez un patient revenant d'une zone d'endémie (cas importé)</i>	12
5.1.2 <i>Situation 1B - Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) autochtone (en zone d'implantation d'Aedes albopictus et pendant la période d'activité du moustique)</i>	13
5.2 Situation 2. Circulation virale autochtone faible ou modérée : situation actuelle de l'Océan Indien, de la Réunion et de Mayotte	13
5.2.1 <i>Situation 2A - Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) chez un patient revenant d'une zone d'endémie (cas importé)</i>	13
5.2.2 <i>Situation 2B - Devant une suspicion de dengue (syndrome dengue-like) autochtone</i>	13
5.2.3 <i>Situation 2C - En situation d'épidémie (idem phase 3B, cf. infra)</i>	13
5.3 Situation 3. Forte circulation virale autochtone : situation dans les DFA	13
5.3.1 <i>Situation 3A – Phase de circulation sporadique ou foyers de cas de dengue</i>	13
5.3.2 <i>Situation 3B – Phase d'épidémie avérée</i>	14
5.3.3 <i>Situation 3C – Phase de fin d'épidémie</i>	14
<b>6. Aspects cliniques</b>	<b>16</b>
6.1 Classification	16
6.2 Clinique	17
<b>7. Le diagnostic biologique</b>	<b>19</b>
7.1 Le diagnostic direct ou diagnostic précoce de la dengue	19
7.1.1 <i>Détection du virus ou de son génome</i>	19
7.1.2 <i>Détection antigénique : la protéine NS1</i>	20
7.2 Le diagnostic indirect ou diagnostic sérologique	23
7.2.1 <i>Cinétique des anticorps dirigés contre DENV</i>	23

7.2.2 Les tests immunoenzymatiques (ELISA) ou immunochromatographiques (ICT)	25
Les tests à visée diagnostique	25
Les tests permettant de différencier une dengue primaire d'une dengue secondaire	25
<b>8. Modalités du diagnostic biologique</b>	<b>25</b>
<b>9. Conclusion</b>	<b>29</b>
<b>REFERENCES</b>	<b>30</b>
<b>ANNEXE – ALGORITHMES DECISIONNELS</b>	<b>34</b>
Algorithme Métropole	35
Algorithme Antilles-Guyane	36
Algorithme Océan Indien	37
<b>GLOSSAIRE</b>	<b>38</b>
<b>TABLE DES MATIERES</b>	
<b>TABLEAUX &amp; FIGURES</b>	
Tableau 1 - Stratégie de dépistage dans l'intérêt de la surveillance, selon le profil épidémiologique des zones du territoire français au 30/11/2010	15
Tableau 2 - Diagnostic différentiel de la dengue (d'après OMS 2009)	19
Tableau 3 - Caractéristiques des tests de dépistage de l'antigène NS1 de la dengue ayant le marquage CE, disponibles en France (actualisations septembre 2010, Afssaps)	21
Tableau 4 - Performance des différents tests de dépistage de l'antigène NS1 de la dengue dans différentes études publiées	22
Tableau 5 - Place des différents tests de diagnostic biologique de la dengue, indépendamment de la zone géographique	27
Tableau 6 - Capacités en tests de diagnostic biologique de la dengue selon les régions et les établissements	28
Tableau 7 - Indication des différents tests de diagnostic biologique de la dengue en fonction de la situation épidémiologique	29
Figure 1 - Classification de la dengue et niveaux de gravité	16
Figure 2 - Evolution de la dengue	17
Figure 3A - Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection par DENV. Cas d'une infection primaire	21
Figure 3B - Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection par DENV. Cas d'une infection secondaire par un sérotype viral hétérologue	21

# Stratégie de diagnostic biologique de la dengue

Depuis plusieurs décennies, la dengue est en progression constante dans les départements français d'Amérique (DFA), et on observe une augmentation du nombre de cas importés en France métropolitaine, en particulier depuis 2004 dans le sud-est du pays.

A la suite de la mise à disposition récente de tests de diagnostic direct de la dengue, la direction générale de la santé a saisi le HCSP le 20 septembre 2010 afin qu'il élabore une stratégie de diagnostic biologique destinée aux professionnels de santé.

Dans ce rapport, le groupe de travail du Comité des maladies liées aux voyages et des maladies d'importation (CMVI) rappelle les principales caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques de la dengue, recommande des stratégies de diagnostic biologique adaptées aux différentes situations épidémiologiques rencontrées sur le territoire français et tenant compte d'une évolution potentielle de ces situations et présente des algorithmes décisionnels dans les différentes localisations géographiques, en fonction des situations cliniques.