

## AVIS

### relatif à la stratégie de diagnostic biologique de la dengue

21 janvier 2011

Le Haut Conseil de la santé publique a été saisi le 20 septembre 2010 par la direction générale de la santé afin d'élaborer une stratégie de diagnostic biologique de la dengue destinée aux professionnels de santé.

Après avoir pris avis auprès du Comité des maladies liées aux voyages et des maladies d'importation (CMVI), qui a réuni un groupe d'experts,

- **Le Haut Conseil de la santé publique rappelle les principales caractéristiques de la dengue**

La dengue est une arbovirose transmise par des moustiques du genre *Aedes*. Dans les 50 dernières années, son incidence a été multipliée par trente, 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 son diagnostic biologique.

#### **Les virus de la dengue**

Les virus de la dengue (DENV) appartiennent au genre *Flavivirus* de la famille des *Flaviviridae*. Les quatre sérotypes de DENV circulent dans toutes les régions intertropicales. Leur répartition est cependant variable, ces quatre sérotypes n'ayant pas forcément été identifiés dans tous les pays. En dépit de leur forte proximité génétique et antigénique, les quatre DENV constituent réellement des entités infectieuses indépendantes. Un individu vivant en zone endémo-épidémique peut ainsi en théorie contracter quatre fois la dengue.

#### **La transmission des virus**

Les DENV sont transmis à l'être humain par des moustiques appartenant au genre *Aedes* et principalement par l'espèce *Aedes aegypti*. Ce moustique originaire d'Afrique est maintenant présent dans les zones intertropicales de tous les continents et il reste capable de recoloniser des zones d'où il a été éradiqué, comme l'Europe méditerranéenne. 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. Cette espèce est capable de coloniser des pays

tempérés et sa présence est avérée dans le sud de la France depuis 2004. La présence d'*Ae. albopictus* représente donc un risque non négligeable d'installation d'un cycle de transmission de la dengue.

### Epidémiologie

L'infection par les DENV 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 exemple) sur le reste du territoire métropolitain. Le nombre important de voyageurs, éventuellement virémiques, rentrant de zone endémo-épidémique vers des zones où des vecteurs sont présents, fait que le risque d'émergence est réel.

En France, les responsables de la surveillance 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.

### Aspects cliniques

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 hémorragie.

La prise en charge de la maladie 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.

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

- adapter précocement la prise en charge ;
- écarter le diagnostic de dengue ;
- interpréter correctement les résultats des autres examens biologiques ;
- renseigner précocement les services de lutte anti-vectorielle.

Sans oublier que toute fièvre survenant en zone de transmission du paludisme ou à son retour doit faire évoquer en première intention une étiologie palustre et l'existence de signes hémorragiques une fièvre hémorragique virale hautement contagieuse.

### 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. Les différentes techniques disponibles ont été analysées en détail, avec appel aux publications correspondantes, dans le rapport rédigé par le groupe d'experts réunis par le CMVI.

- **Le diagnostic direct ou diagnostic précoce de la dengue**
  - **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). Cette technique est réservée aux centres nationaux de référence ou aux laboratoires de recherche ou hospitaliers équipés d'un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (LSB 3). 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. Plus récemment, des techniques de RT-PCR en temps réel, plus rapides et sécurisées, se sont développées pour détecter les DENV ou le sérotype en cause.

▪ **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 entre J0 et J7 dans le sérum des patients infectés, et jusqu'au 9<sup>e</sup> jour de la maladie dans certains cas. La détection de la protéine NS1 repose sur deux techniques : Elisa (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) et des tests rapides de type immunochromatographique (ICT).

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). Ils ont également une sensibilité moindre pour les patients développant une dengue secondaire (tableau 1).

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.

○ **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. Cette cinétique est différente lors des infections primaires par un DENV et lors d'une infection secondaire, caractérisée par un contact avec un DENV d'un autre sérotype et impose souvent deux tests pratiqués à quinze jours d'intervalle. La détection des IgM met en œuvre des techniques Elisa de type capture, celle des IgG utilise préférentiellement des techniques de type Elisa indirect.

Le diagnostic sérologique 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.

**Tableau 1 - Performances des différents tests de dépistage de l'antigène NS1 de la dengue dans différentes études**

Test	Sensibilité	Spécificité
Elisa : Platelia (Bio-Rad)	37 – 93,7 %	86,1 – 100 %
Elisa : Pan E (Panbio)	52 – 83,3 %	89 – 100 %
ICT : STRIP (Bio-Rad)	49,4 – 98,9 %	90,6 – 100 %
Elisa ou ICT SD NS1 (Standard Diagnostics)	52 – 76,7 %	98,3 – 100 %

**Modalités du diagnostic biologique**

La place des différents tests du diagnostic biologique de la dengue est précisée dans le tableau 2, 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 ;
- la disponibilité des tests ;
- la situation clinique.

La disponibilité des tests est précisée dans le tableau 3.

- **Le Haut Conseil de la santé publique 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.**

Les modalités de diagnostic peuvent s'envisager ainsi :

- **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 Centres nationaux de référence (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 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 valeur prédictive positive (VPP) de la définition d'un cas clinique devenant très élevée. Les patients hospitalisés (signes d'alerte, formes sévères, co-morbidités) 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.

- **En conclusion, le Haut Conseil de la santé publique souligne que :**

- 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 l'état clinique des malades 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.

*Le CMVI a tenu séance le 7 décembre 2010 : 7 sur 11 membres qualifiés votant étaient présents, pas de conflit d'intérêt, le texte a été approuvé par 7 votants, 0 abstentions, 0 vote contre.*

*La CSMT a tenu séance le 21 janvier 2011 : 10 sur 19 membres qualifiés votant étaient présents, pas de conflit d'intérêt, le texte a été validé par 10 votants, 0 abstention, 0 vote contre.*

Avis produit par la Commission spécialisée Maladies transmissibles, sur proposition du Comité des maladies liées aux voyages et des maladies d'importation

Le 21 janvier 2011

**Haut Conseil de la santé publique**

14 avenue Duquesne

75350 Paris 07 SP

[www.hcsp.fr](http://www.hcsp.fr)

Tableau 2 - Place des différents tests de diagnostic biologique de la dengue, indépendamment de la zone géographique

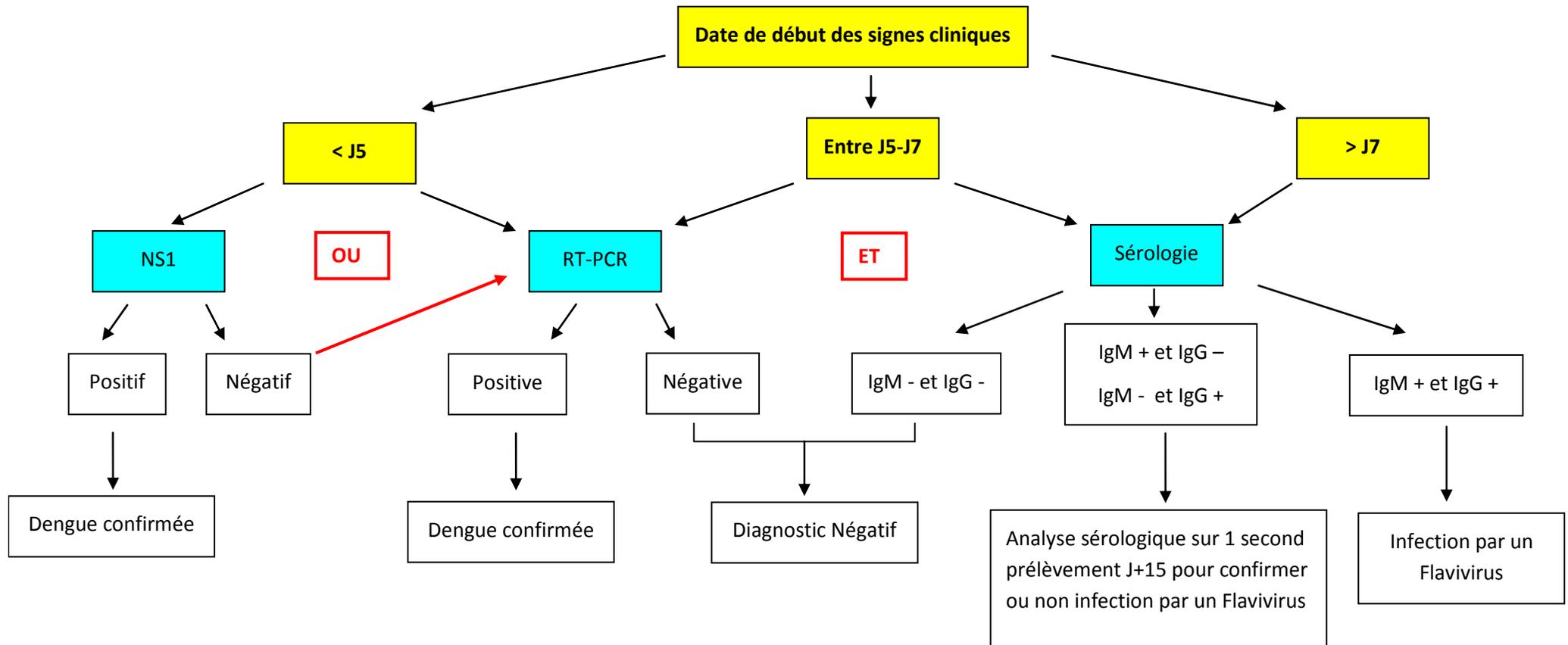


Tableau 3 - Capacités en tests de diagnostic biologique de la dengue selon les régions et les établissements

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			

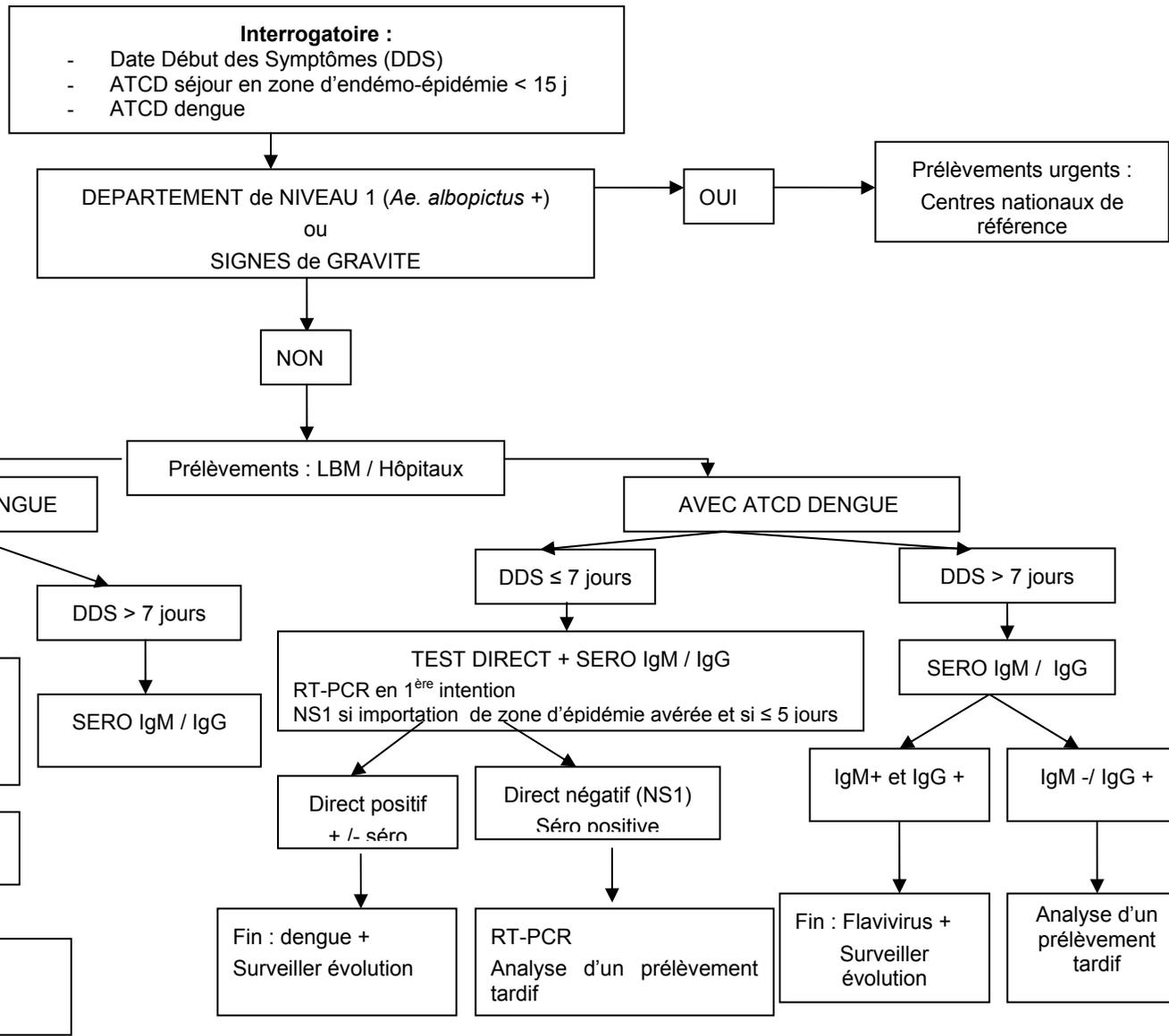
X : test disponible ; \* : en capacité ; \*\* : recours occasionnel

## ANNEXE

### Algorithmes décisionnels dans les différentes localisations géographiques en fonction des situations cliniques

- Algorithme métropole
- Algorithme Antilles Guyane
- Algorithme Océan indien

Algorithme Métropole



Algorithme Antilles Guyane

