



DIAGNOSTIC DE LA DENGUE

**XXème COLLOQUE DE VIROLOGIE DE
VERSAILLES**

25 novembre 2008

Marc GRANDADAM

CNR des arbovirus, Institut Pasteur, Paris

LES VIRUS DE LA DENGUE

Famille : *Flaviviridae*, genre *flavivirus*

-Complexes antigéniques :

- Fièvre jaune (Fièvre jaune ; Wesselsbron ; Zika...)
- Dengue (Den 1-4)
- Encéphalite Japonaise (JEv ; WNv ; SLEv...)
- Encéphalites à tique (TBE ; Omsk ; Kyasanur...)

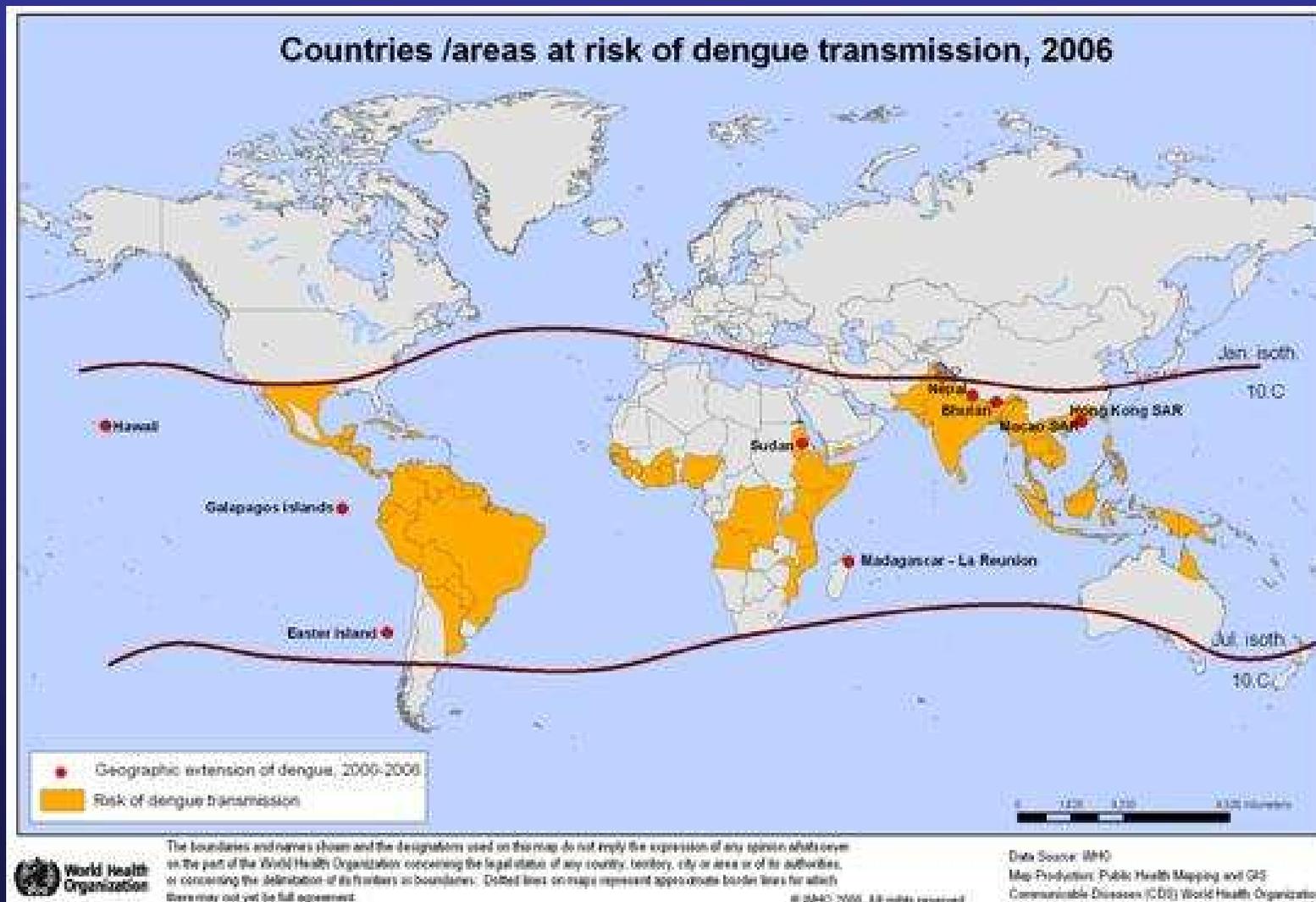
4 sérotypes : Den 1 → Den 4

Immunité protectrice mais spécifique de sérotype

Variabilité génétique :

- Mosquito borne ; Tick borne ; no known vector (NKV)
- Inter-sérotypes : 40 % d'identité
- Intra-sérotype : 80 à 94 % d'identité

REPARTITION GEOGRAPHIQUE



IMPACT HUMAIN ANNUEL

➤ 2,5 milliards d'êtres humains exposés ; # 100 pays concernés

Infections annuelles : # 100 millions

➤ **Formes cliniques :**

- Formes asymptomatiques : 50%
- Syndrome fébrile (pseudo-grippal)
- Formes graves (DHF/DSS) : 500 000 à # 1 million
- Formes neurologiques exceptionnelles
- Mortalité : 30 000 à 50 000 (stt enfants)

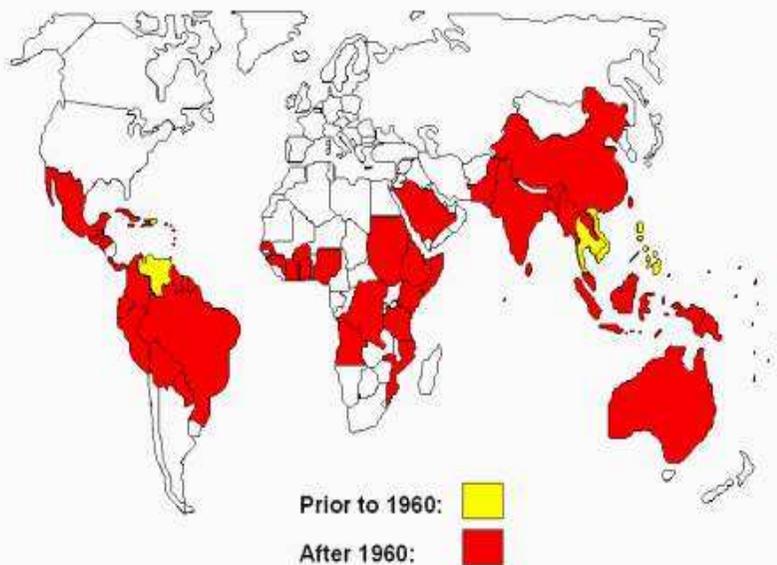
➤ **Pas de vaccin ; pas ttt spécifique**

➤ **Prévention :**

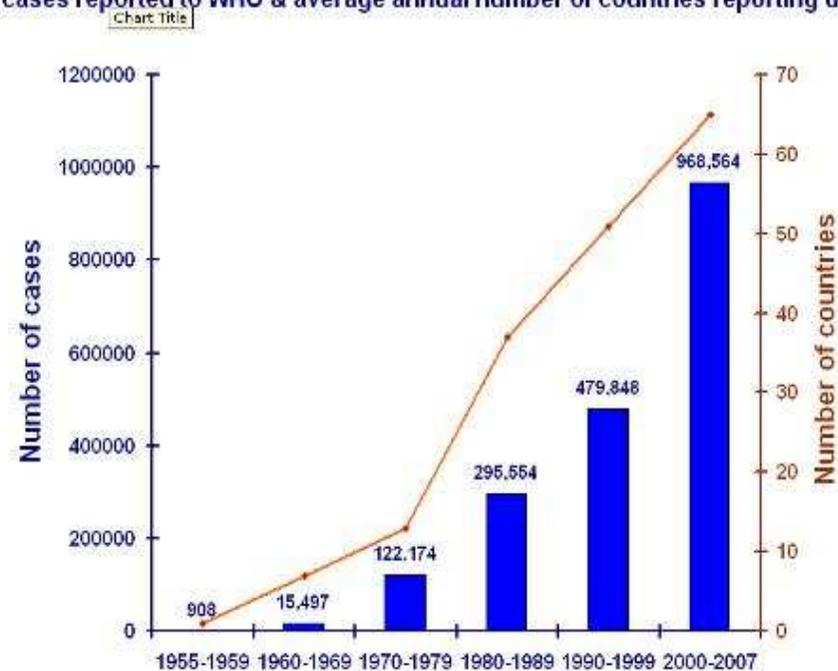
- collective : lutte anti-vectorielle
- individuelle : maîtrise des gîtes larvaires ; protection contre piqûres

INCIDENCE DHF/DSS

Emergence of DEN/DHF



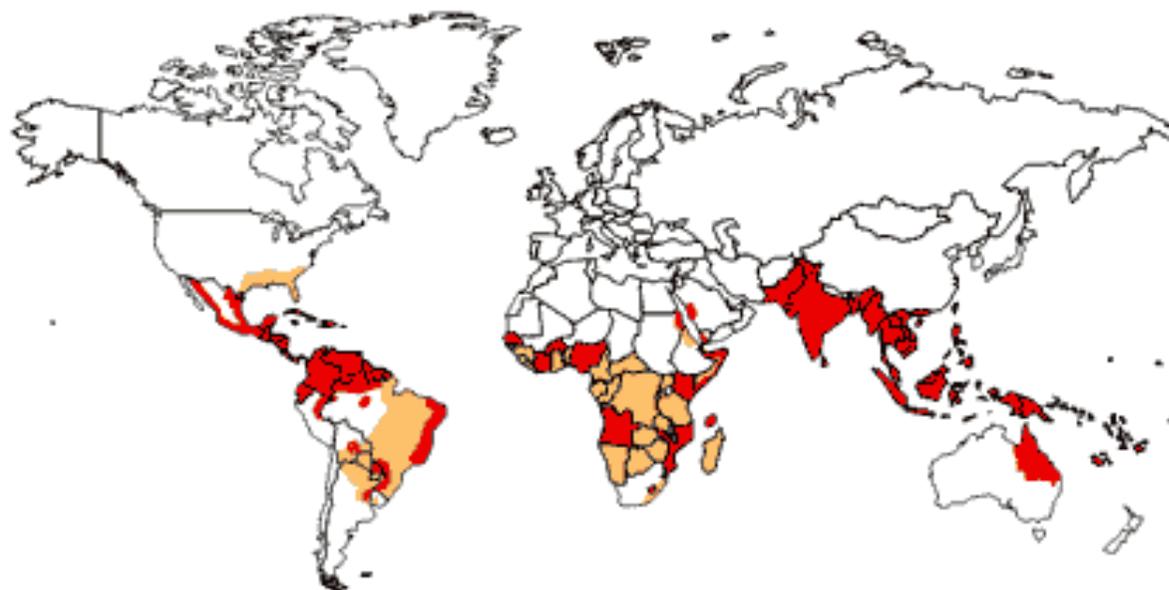
Average annual number of DF/DHF cases reported to WHO & average annual number of countries reporting dengue



Aedes aegypti

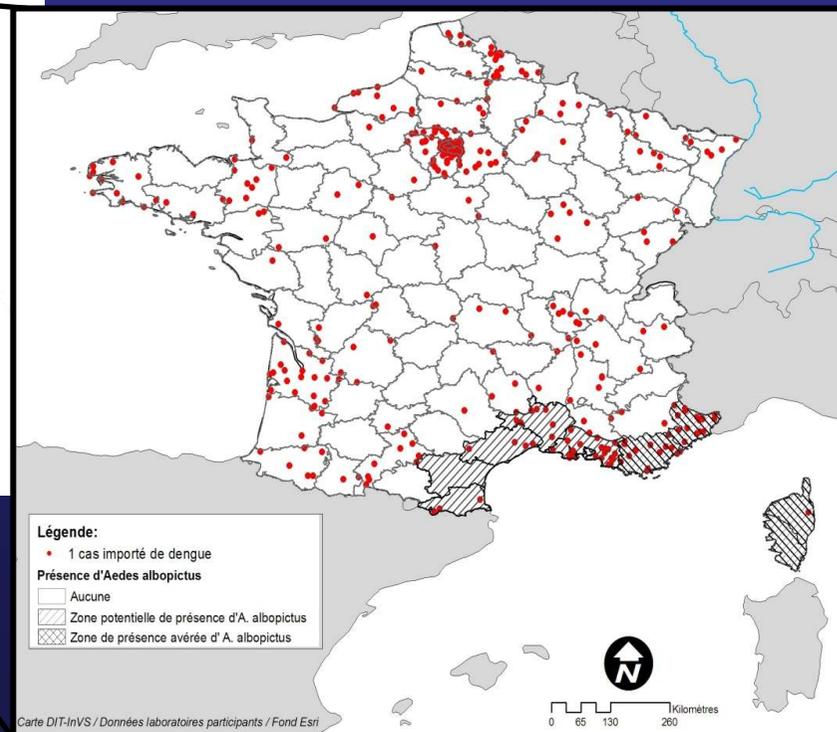
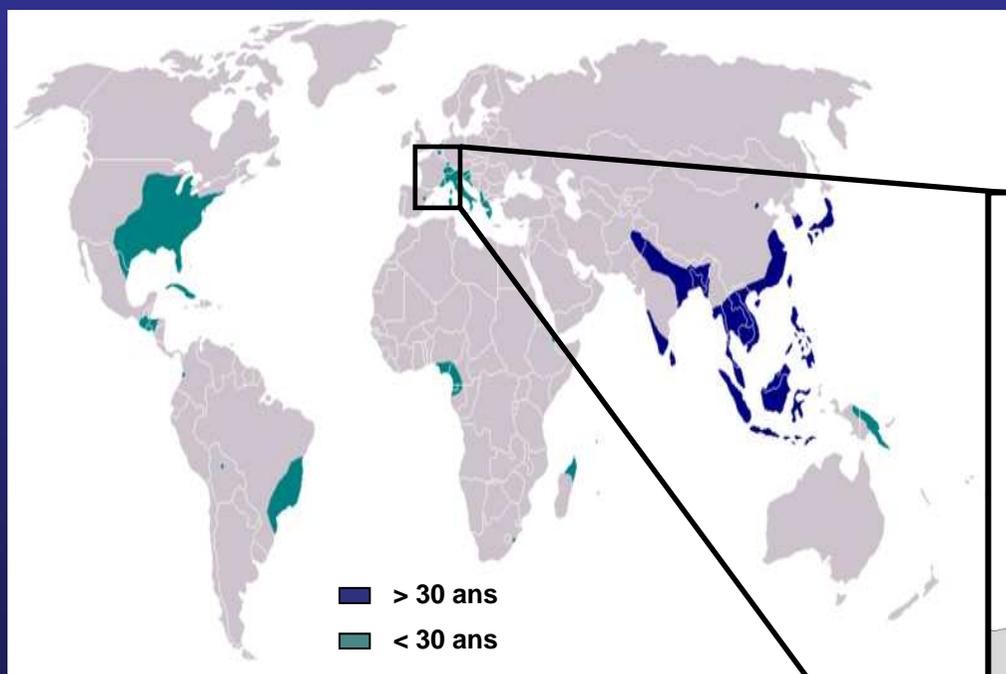
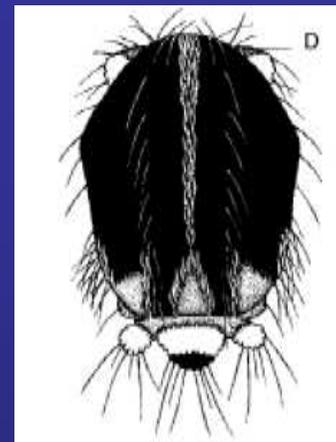


World Distribution of Dengue - 2003

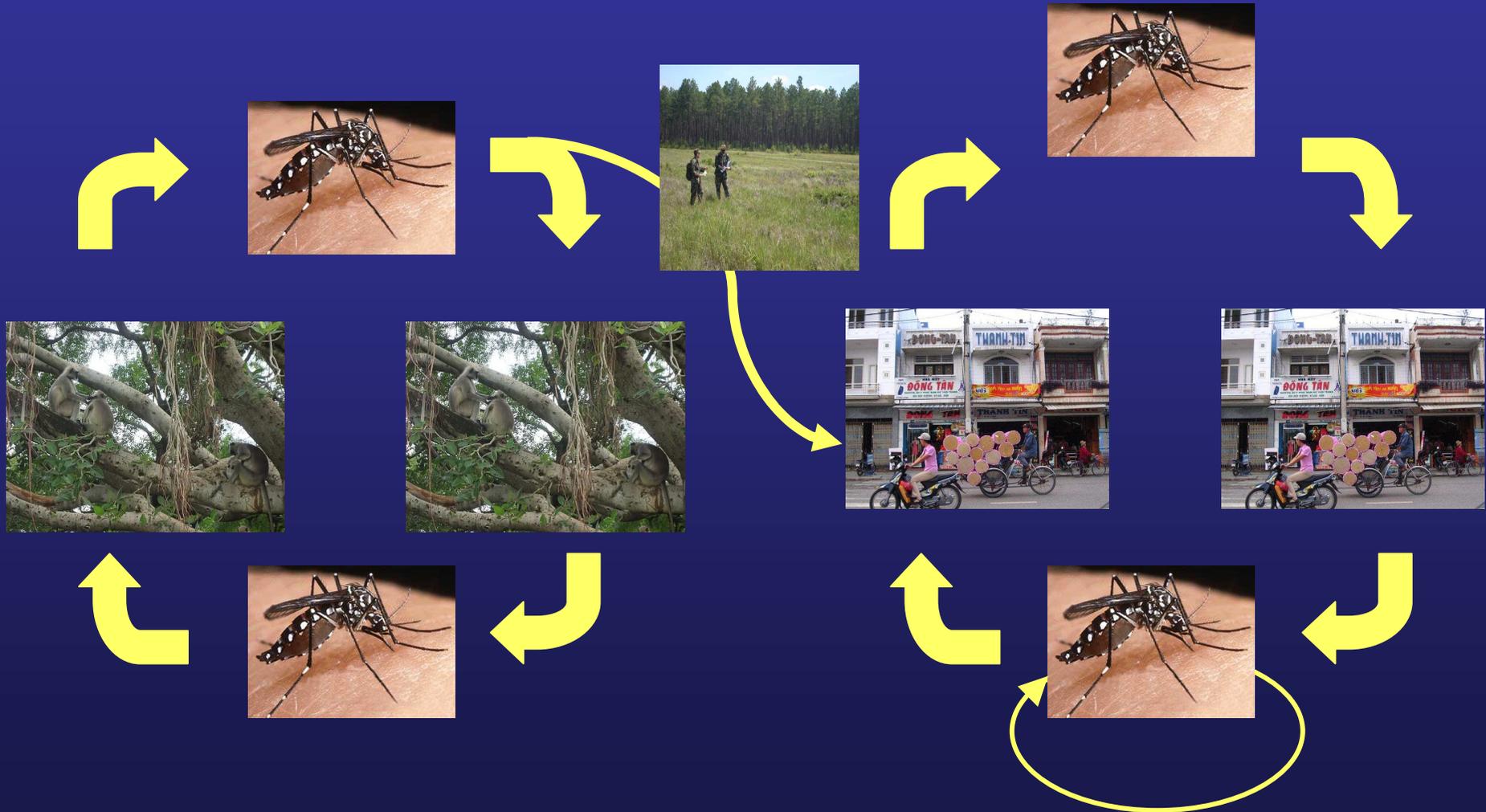


- Areas infested with *Aedes aegypti*
- Areas with *Aedes aegypti* and dengue epidemic activity

REPARTITION GEOGRAPHIQUE *Aedes albopictus*



CYCLES DE TRANSMISSION



CYCLE SELVATIQUE

CYCLE URBAIN

PLANS DE SURVEILLANCE

➤ **DOM / TOM : CNR Antilles/Guyane (CNR arbo)**

➤ **Métropole : (MDO depuis 2006)**

• **Cas d'importation :**

- séjour en zone d'endémie
- apparition brutale fièvre > 38,5°C évoluant depuis moins de 7 jours
- absence de point d'appel infectieux
- ≥ 1 signe algique (céphalées, arthralgies, myalgies, lombalgies, douleur rétro-orbitaire)
- confirmation biologique (IgM + ou RT-PCR + ou isolement viral).

• **Cas autochtones : départements infestés par *A. albopictus***

- pas de séjour en zone endémo-épidémique dans les 15 jours qui précèdent l'apparition des signes cliniques
- apparition brutale fièvre > 38,5°C évoluant depuis moins de 7 jours
- absence de point d'appel infectieux
- ≥ 1 signe algique (céphalées, arthralgies, myalgies, lombalgies, douleur rétro-orbitaire)
- confirmation biologique (IgM + ou RT-PCR + ou isolement viral).

ORGANISATION

1. D.O.(juillet 2006)

Prescripteur / labo

Cas
confirmé
D.O.

DDASS

2. Surveillance labo (février 2006)

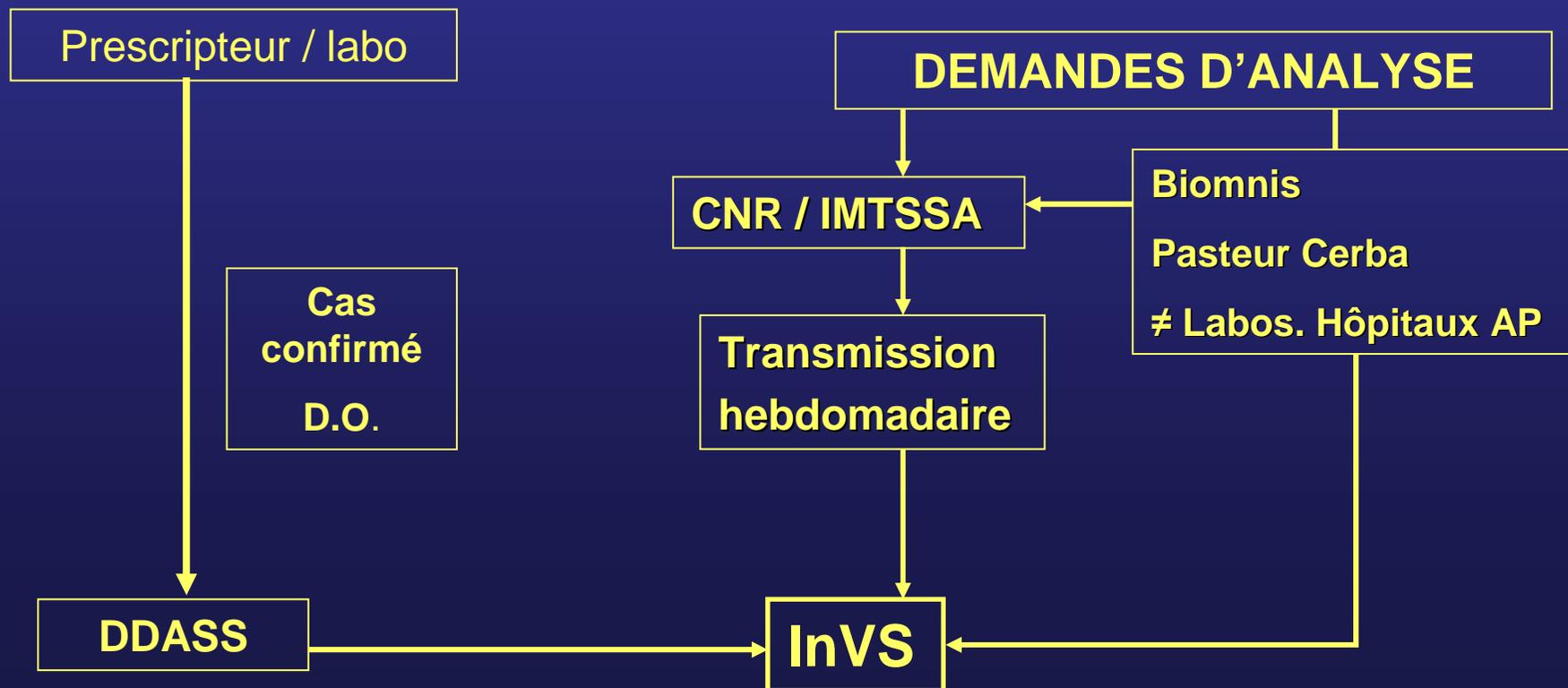
DEMANDES D'ANALYSE

CNR / IMTSSA

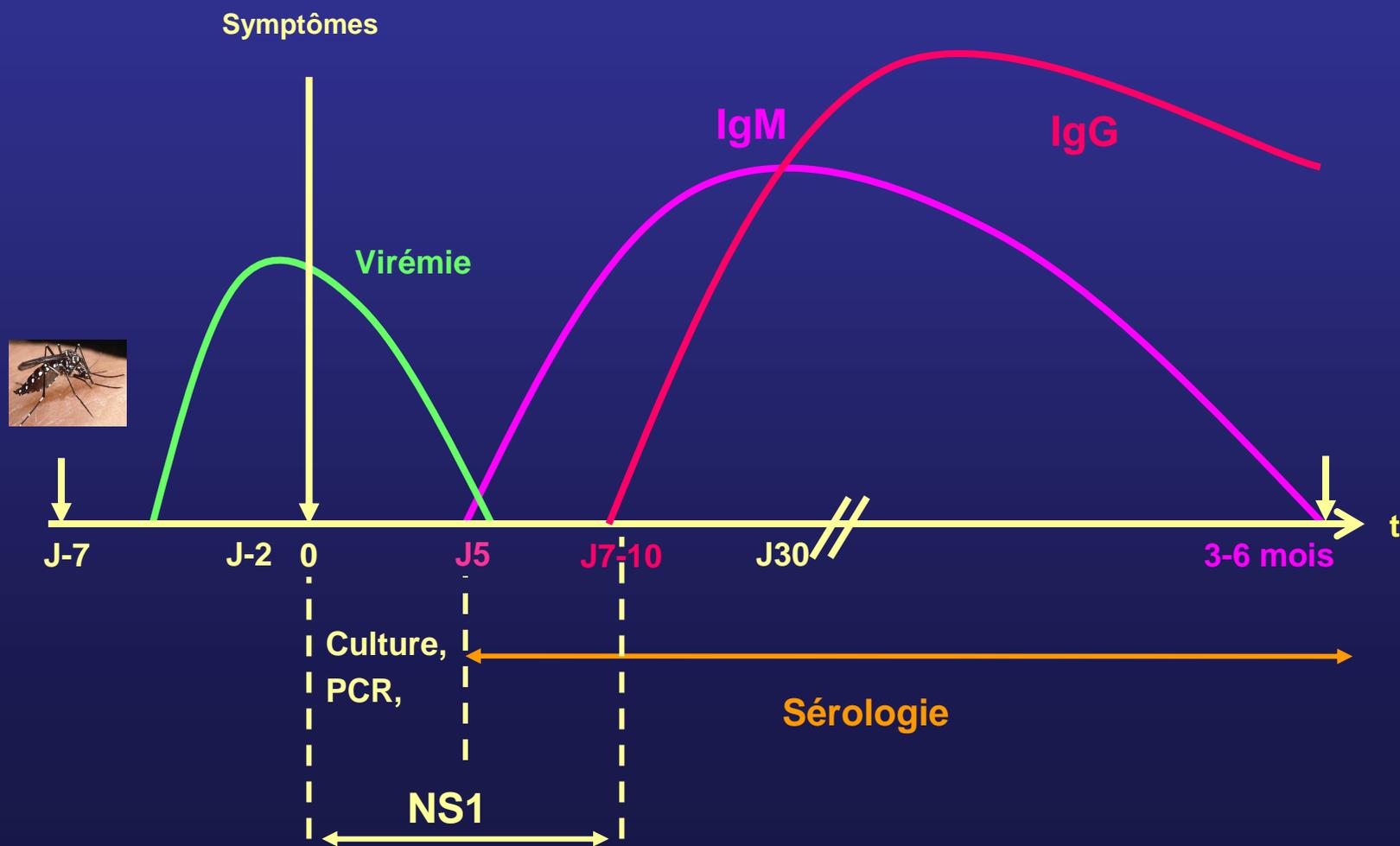
Transmission
hebdomadaire

Biomnis
Pasteur Cerba
≠ Labos. Hôpitaux AP

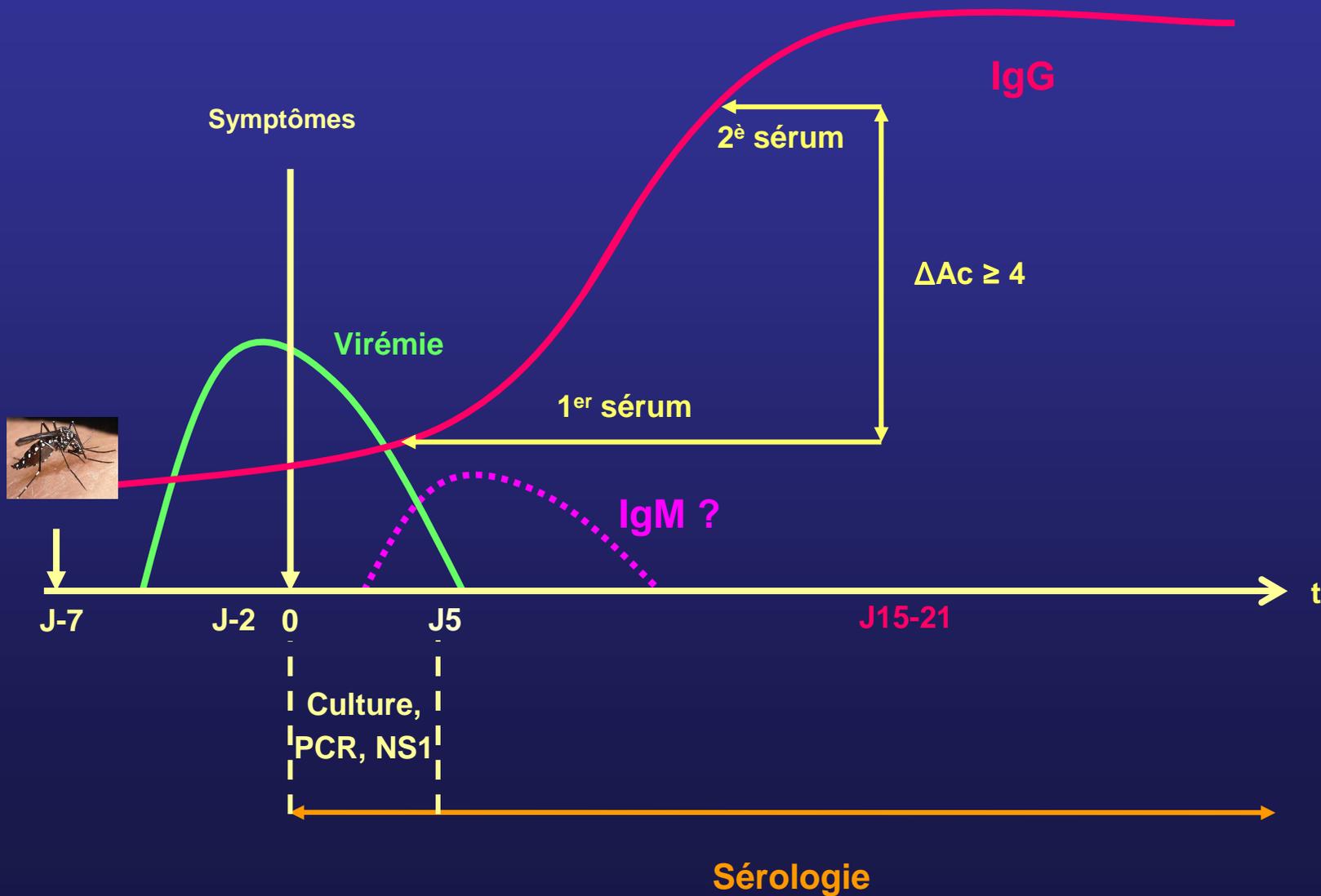
InVS



DENGUE PRIMAIRE



DENGUE SECONDAIRE



METHODES INDIRECTES

➤ **Sérologie :**

• **Diag 1^{ère} ligne :**

- hôpitaux (trousses commerciales) ELISA ; immuno-chromato.
- CNR / labo associé : techniques "maison" MAC-ELISA ; IgG sandwich

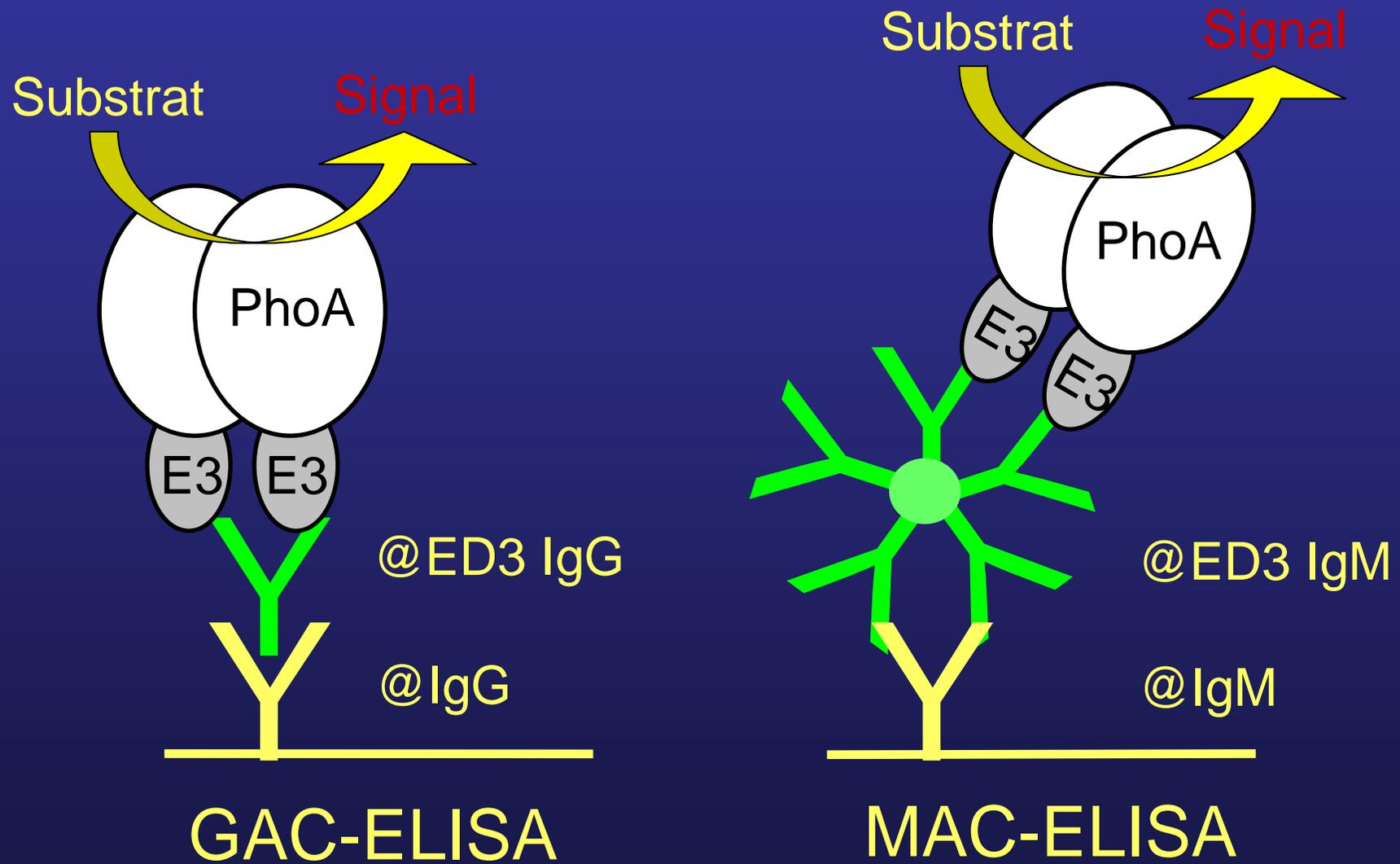
• **Diag 2^{ème} ligne : CNR / labo associé**

- Dengue primaire / secondaire : titrage des Acs ; test avidité des IgG†
- identification d'espèce : réactions croisées dengue/cx JEv/TBE
- Sérotypage (séroneutralisation ; rED3‡)

†Matheus *et al.* J Clin Microbiol. 2005;43(6):2793-7

‡ Hugues Bedouelle. Institut Pasteur , Paris. Communication personnelle.

NOUVELLE APPROCHE DE SEROTYPAGE



SEROTYPAGE MAC-ELISA rED3

(résultats préliminaires)

rED3	SERUMS†			
	DEN 1 (n=30)	DEN 2 (n=44)	DEN 3 (n=38)	DEN 4 (n=13)
DEN 1	83%	11%	16%	23%
DEN 2	63%	73%	26%	23%
DEN 3	37%	9%	47%	15%
DEN 4	3%	7%	3%	8%

† : dengue 1^{aire} ; sérums positifs en RT-PCR et ou isolement ; souche typée

-Test fonctionnel

-Sensibilité à améliorer (Den3 et Den4 +++)

METHODES DIRECTES

➤ **Antigénémie NS1 : Diag 1^{ère} ligne :**

- hôpitaux / EFS (ELISA commercial)
- criblage pré-transfusionnel

➤ **Isolement :**

- Cellules de mammifères (Vero E6) ou de moustiques (C6/36 ; AP61)
- Typage IFI ; RT-PCR

➤ **RT-PCR :**

- Détection (conventionnelles ; temps réel)
- Typage (semi-nested ; temps réel)

Antigènémie NS1

Platelia Dengue NS1 Ag test ; Biorad.

(Kumarasamy et al. J Virol methods 2007;140:75-9.)

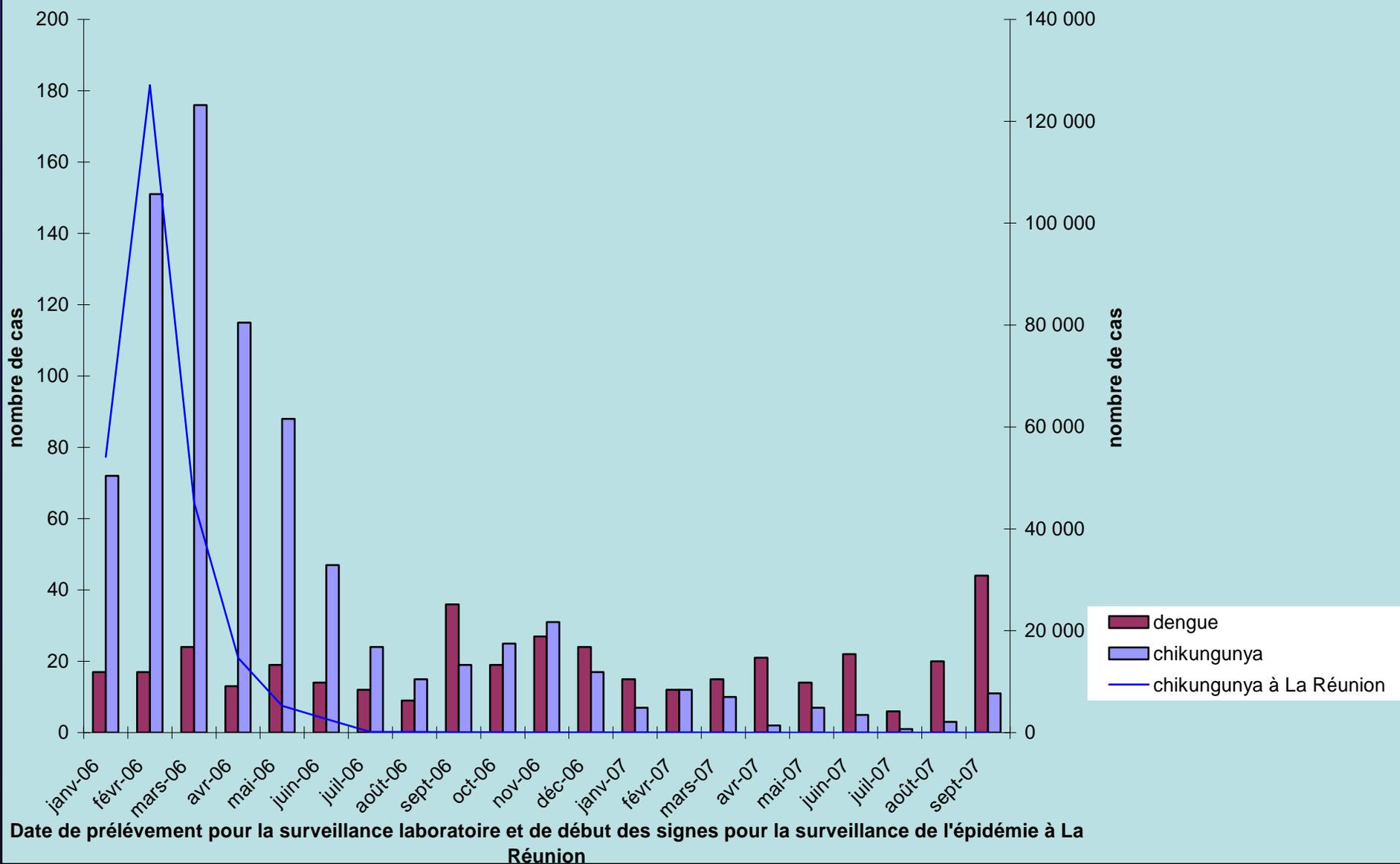
Nombre d'échantillons en phase aigue

Méthode de diagnostic	Dengue 1 ^{aire} (PlateliaNS1)	Dengue 2 ^{aire} (PlateliaNS1)	Total (PlateliaNS1)
Isolement	64 (62)	7 (6)	71 (68)
RT-PCR	48 (45)	20 (12)	68 (57)
RT-PCR + isolement	72 (72)	2 (2)	74 (74)
TOTAL	184 (179) 97,3%	29 (20) 70%	213 (199) 93,4%

- Antigènémie prolongée par rapport virémie
- Manque de sensibilité dans les dengue 2^{aires} ; complexes immuns ?

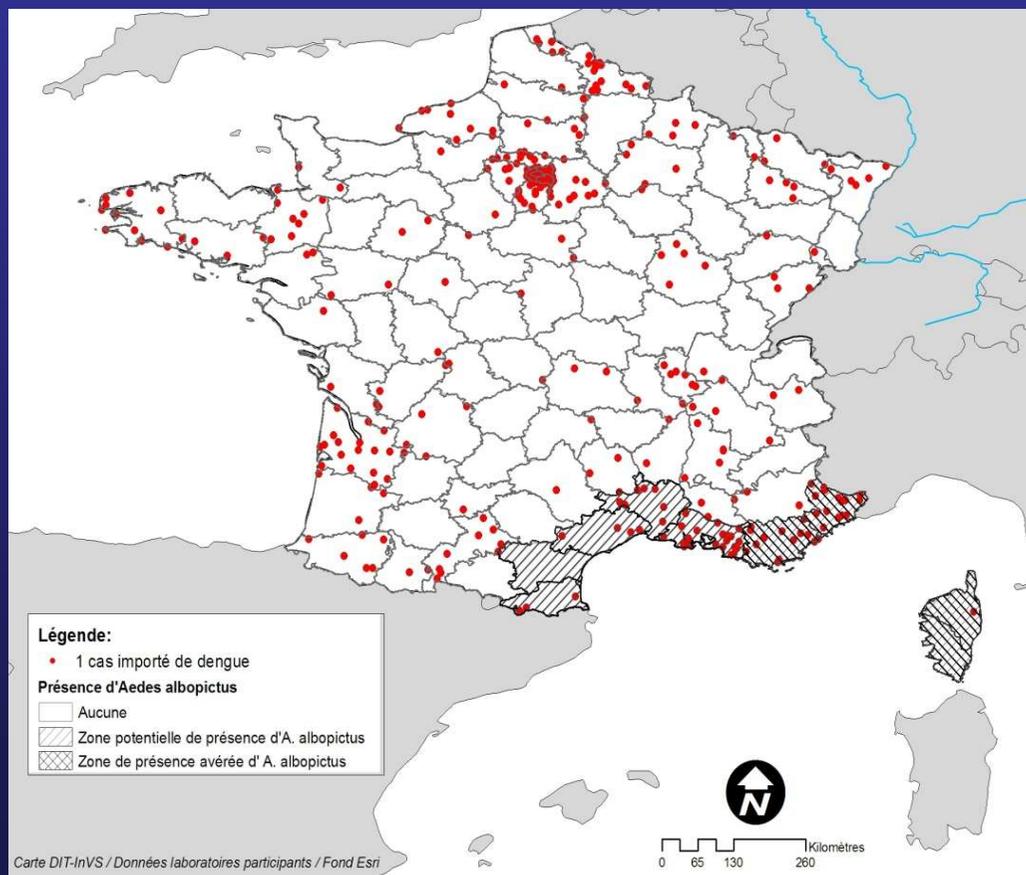
SURVEILLANCE EN METROPOLE

(source Invs)



CAS CONFIRMES EN METROPOLE

(source Invs)



➤ 94 DO Dengue (07/2006-12/2007) dont 62 virémiques

Dpts *A. albopictus* + :

2006 : 18 cas

2007 : 30 cas

Cas autochtone : 0

CONCLUSIONS

➤ **Diagnostic :**

• **Complexité :**

- Dengue primaire / secondaire
- Réactions croisées (groupe dengue ; autres complexes antigéniques)
- Renseignements cliniques / épidémiologiques +++

• **Accès restreint aux techniques :**

- Peu de trousse sérologiques commerciales (réactions croisées !)
- Isolement : contraintes de sécurité (virus de classe 3)

➤ **Surveillance :**

- Non exhaustive
- Risque avéré : présence du vecteur ; expérience d'une émergence réussie (Chik. Italie 2007)
- Amélioration / intérêt croissant pour les hôpitaux / labos privés
- Partenariat labos / CNR : transfert de techniques, réactifs de référence