

# Diagnostic biologique de la dengue à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC)

Ann-Claire Gourinat, Eric D'Ortenzio  
IPNC Nouméa

La dengue est une arbovirose due à un virus de la famille des flaviviridae transmise à l'homme par la piqûre d'un moustique diurne du genre Aedes. Elle sévit dans les régions tropicales et subtropicales, avec une prédilection pour les zones urbaines et semi-urbaines. La dengue serait l'affection virale la plus répandue au monde, avec 55% de la population mondiale exposée au virus (2,5 milliards) dans plus de 120 pays. Chaque année, on estime à 36 millions le nombre de cas symptomatiques dont 2,1 millions de formes sévères (formes hémorragiques et formes avec syndrome de choc) et à 21 000 le nombre de décès [1, 2].

Il existe quatre sérotypes distincts du virus de la dengue qui entraînent les mêmes signes cliniques sans immunité croisée entre ces 4 sérotypes. Autrement dit, un même individu peut en théorie avoir la dengue 4 fois dans sa vie.

Deux épidémies de dengue incriminant d'abord le sérotype DEN-1 en 2008 puis des sérotypes DEN-4 (majoritaire) et DEN-1 en 2009 se sont succédées en Nouvelle-Calédonie. La persistance du sérotype DEN-1 pendant plus de 2 ans, avec des cas sporadiques diagnostiqués en inter-épidémie et en saison fraîche, suggère fortement l'installation d'une situation endémo-épidémique sur le territoire.

### Rappels cliniques et biologiques

Après une période d'incubation moyenne de 5 à 6 jours (extrême : 3 à 15 jours) apparaissent les premiers signes cliniques de la maladie. Le virus de la dengue peut provoquer alors un large éventail de formes cliniques, allant de la forme totalement asymptomatique à la forme hémorragique parfois mortelle. Les signes cliniques de la dengue sont généralement une fièvre élevée d'apparition brutale, des céphalées, des myalgies, des arthralgies, des douleurs rétro-orbitaires, une asthénie, des nausées, parfois un érythème facial ou diffus et une injection conjonctivale. Sur le plan biologique, on peut observer une thrombopénie associée à une leuconéutropénie, une lymphopénie et

la présence de lymphocytes hyperbasophiles signalés à la formule sanguine. La cytolyse (ASAT) est modérée et la CRP reste subnormale.

Le pourcentage des formes asymptomatiques est non négligeable et pourrait atteindre 30 à 80% de la population selon certaines études [2, 3, 4].

### Les examens biologiques

Plusieurs examens de laboratoire sont disponibles pour diagnostiquer la dengue : la mise en évidence de l'ARN du virus par RT-PCR et de l'antigène NS1 (marqueurs précoces) et la recherche des anticorps de type IgM et IgG dirigés contre le virus (marqueurs tardifs).

### L'antigène NS1

L'antigène NS1 (*Non structural protein*) est une protéine du virus produite en excès lors de la réplication virale. Il peut persister dans le sérum des patients jusqu'au 9<sup>ème</sup> jour suivant l'apparition des premiers symptômes (fig.1). L'antigène NS1 est détectable soit par technique ELISA (technique automatisée réalisée tous les jours à l'IPNC), soit par technique immunochromatographique (test rapide avec un résultat donné en 30'). La spécificité du test ELISA est proche de 100% et sa sensibilité avoisine les 90%. Cependant une sensibilité moindre a été observée avec le kit Biorad durant l'épidémie de 2008-2009 sans doute liée à la production d'IgG anti-NS1 lors d'une infection antérieure [5]. Les tests rapides

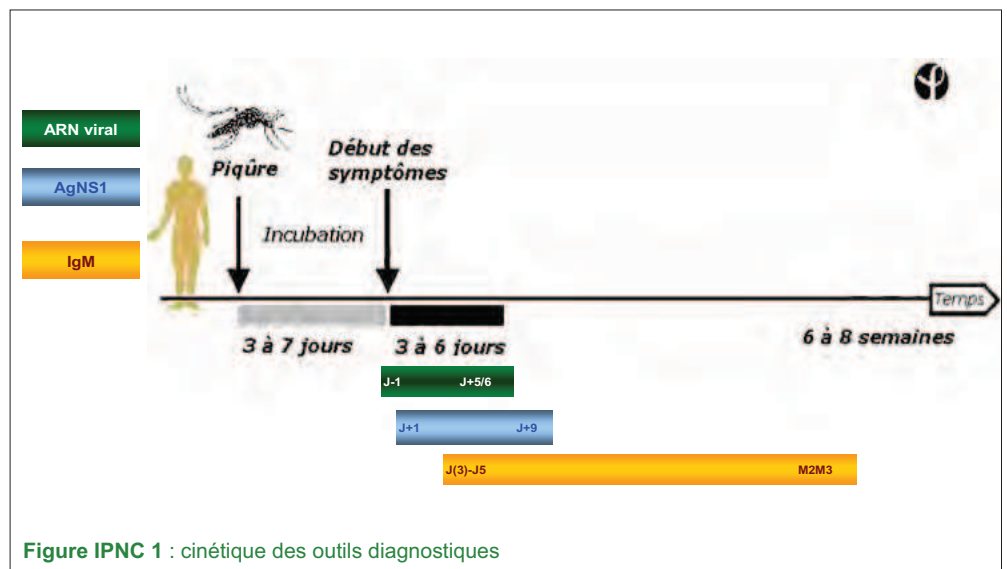


Figure IPNC 1 : cinétique des outils diagnostiques

présentent une sensibilité moins élevée que le test ELISA et sont réservés uniquement aux demandes urgentes et ponctuelles pour des patients hospitalisés.

## La PCR dengue

La détection de l'ARN viral est réalisée par la méthode RT-PCR, plus complexe, longue (8h) et coûteuse [6]. Ce test est réalisé une à deux fois par mois à l'IPNC, sauf situation exceptionnelle. En Nouvelle-Calédonie, la PCR est utilisée pour la surveillance épidémiologique car elle seule permet d'identifier les sérotypes circulants et permet chaque année de détecter l'intrusion de nouveaux sérotypes chez des voyageurs (retour d'Asie du Sud Est principalement).

## La sérologie

Les IgM spécifiques dirigés contre le virus sont détectables par méthode ELISA, quelques jours après l'apparition des symptômes (fig.1). La sensibilité de ce test est de 95% mais sa spécificité peut varier selon les coffrets utilisés. Un résultat positif isolé doit être interprété avec précaution, car des réactions croisées ont été observées dans des syndromes infectieux comme l'hépatite A, la leptospirose, le paludisme, le virus West Nile, etc..., ou encore lors d'activations polyclonales ou de pathologies auto-immunes. Une deuxième sérologie, après un intervalle de 15 jours, peut permettre de confirmer le diagnostic de dengue (séroconversion ou séro-ascension significative du taux d'IgM).

La recherche des IgG a peu d'intérêt sur un prélèvement isolé, car d'une part l'apparition des IgG est plus tardive que celle des IgM et d'autre part une majorité de la population calédonienne a probablement déjà été exposée à un des 4 sérotypes et présente donc des IgG. Si un deuxième prélèvement est réalisé à distance, la recherche des IgG sur ces 2 sérums peut permettre, en cas d'augmentation significative du titre d'anticorps, d'établir un diagnostic de certitude de dengue, et de différencier une dengue primaire d'une dengue secondaire (fig 2). La sérologie IgG n'est actuellement pas réalisée à l'IPNC car la deuxième sérologie reste rarement prescrite, mais elle pourrait être mise en œuvre prochainement.

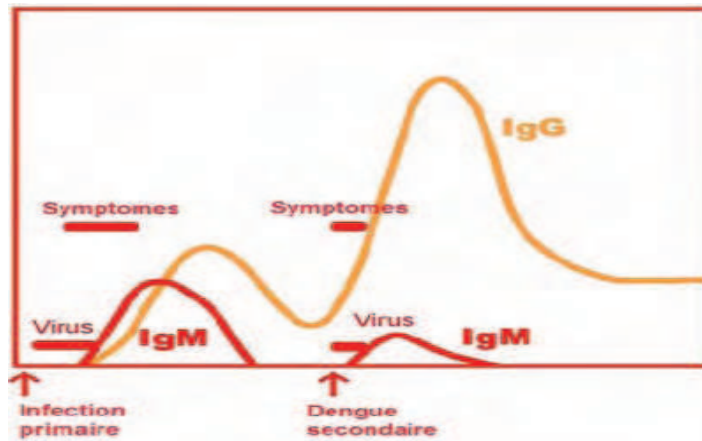


Figure IPNC 2 : réponse immunitaire lors d'une primo-infection et lors d'une réinfection du virus de la dengue

## Le réseau sentinelle dengue

L'IPNC est le laboratoire de référence pour la surveillance de la dengue en Nouvelle-Calédonie. La recherche de l'antigène NS1 est réalisée tous les jours quelle que soit l'activité épidémique. La sérologie IgM est faite deux fois par semaine (hors épidémie) et tous les jours pendant les périodes épidémiques. Les coordonnées des patients positifs à l'un des deux tests sont aussitôt transmises à la DASS-NC qui fait suivre le même jour ces renseignements aux services municipaux. Ces derniers mettent alors

en place la lutte anti-vectorielle périfocale autour des habitations concernées.

L'IPNC perçoit une subvention du Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie pour réaliser les activités de surveillance. Le réseau sentinelle dengue est défini par la DASS-NC et il est actuellement ouvert à tous les médecins. Lorsqu'un prélèvement parvient à l'IPNC, accompagné d'une fiche de renseignement du réseau sentinelle, les examens les plus adaptés sont réalisés (fig.3), le patient bénéficie de la gratuité des examens et les données cliniques alimentent les données de la DASS.

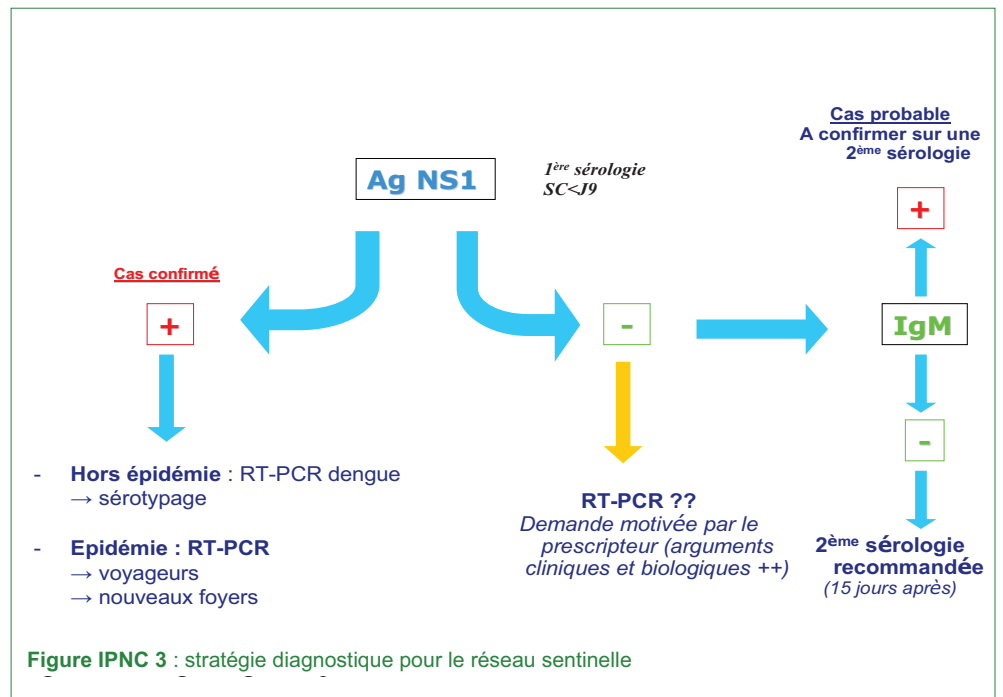


Figure IPNC 3 : stratégie diagnostique pour le réseau sentinelle

Références : 1 World Health Organization. Dengue haemorrhagic fever : diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: World Health Organization; 1997. - 2 Dengue and dengue haemorrhagic fever.2008. (Accessed at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.html>). - 3 Burke DS, Nisalak A, Johnson DE, Scott RM. A prospective study of dengue infections in Bangkok. Am J Trop Med Hyg 1988;38:172-80. - 4 Endy TP, Nisalak A, Chunsuttiwat S, et al. Spatial and temporal circulation of dengue virus serotypes: a prospective study of primary school children in Kamphaeng Phet, Thailand. Am J Epidemiol 2002;156:52-9. - 5 Pok KY, Lai YL, Sng J, Ng LC. Evaluation of Nonstructural 1 Antigen Assays for the Diagnosis and Surveillance of Dengue in Singapore. Vector Borne Zoonotic Dis. 2010 Apr 28 [Epub ahead of print]. - 6 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(3):545-51.