

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE: 2017

THESE 2017 TOU3 2046

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement par

VEDRUNES Mélanie

UN NOUVEAU VACCIN CONTRE LA DENGUE

Jeudi 14 septembre 2017

Directeur de thèse : COSTE Agnès

JURY

Président : COSTE Agnès

1^{er} assesseur : AUTHIER Hélène

2^{ème} assesseur : BENHAMOU Julie

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 17 février 2017

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
Mme FOURASTÉ I.	Pharmacognosie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SIÉ P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. CHATELUT E.	Pharmacologie
M. FAVRE G.	Biochimie
M. HOUIN G.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
Mme BARRE A.	Biologie
Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme BENDERBOUS S.	Mathématiques – Biostat.
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme DOISNEAU-SIXOU S.	Biochimie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SÉGUI B.	Biologie Cellulaire
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
Mme DE MAS MANSAT V. (*)	Hématologie
Mme GANDIA-MAILLY P. (*)	Pharmacologie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SÉRONIE-VIVIEN S.	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARÉLLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGÉ M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C.	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme BOUTET E. (*)	Toxicologie - Sémiologie
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS-VIATGE C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DERAÈVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ÉCHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MIREY G. (*)	Toxicologie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. OLICHON A.	Biochimie
PEM. PERE D.	Pharmacognosie
Mme PORTHE G.	Immunologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K. (*)	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE A.	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme COOL C.	Physiologie
Mme FONTAN C.	Biophysique
Mme KELLER L.	Biochimie
Mme PALUDETTO M.N.	Chimie thérapeutique
M. PÈRES M.	Immunologie
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique

REMERCIEMENTS

A ma directrice de thèse Agnès Coste,

Je vous remercie de m'avoir accompagné dans l'élaboration de cette thèse. Votre aide a été réellement bénéfique car je ne pensais pas le sujet si complexe au départ. Merci aussi de présider le jury lors ma soutenance.

A Hélène Authier, membre du jury,

J'ai eu plaisir à vous avoir comme professeur à la faculté. Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

A Julie Benhamou, membre du jury,

Je te remercie d'avoir accepté le rôle de jury pour ma soutenance de thèse. Je tiens aussi à te remercier encore une fois pour tous les conseils et la gentillesse que tu m'as offerts les mois où j'ai évolué à tes côtés.

A l'équipe de la pharmacie du stade de Pibrac,

Vous êtes tous géniaux, cela a été un réel plaisir de travailler avec vous. Je voudrais remercier plus particulièrement les pharmaciens titulaires pour la confiance qu'ils m'ont accordée.

A tous mes amis de la fac,

D'abord toi Elodie, dont l'immense générosité et la bonne humeur font de toi une amie géniale. Je dois te dire un grand merci car tu m'as permis d'avoir une super binôme lors des séances de travaux pratiques et tu m'as permis de partir en stage au Cambodge, un voyage magnifique dont je n'oublierai jamais tous ces bons moments que nous y avons vécu. C'est d'ailleurs ce voyage qui m'a inspiré le sujet de cette thèse.

A Charlotte, Mathilde, Mélanie, Lucie, Christine, Aurore, Anaïs, Justine vous êtes également de fabuleuses amies. Je vous remercie pour toutes les soirées et autres occasions passées à vos côtés qui sont toujours une source de bonheur.

A toute ma famille,

Je vous remercie pour tout le soutien que vous m'avez apporté durant toutes ces années.

A toi maman, j'en profite pour te dire que je suis fière que tu continues à avancer malgré la peur et la souffrance.

A toi Chloé, je te remercie d'être la sœur que tu es. Je te souhaite plein de courage pour réussir tes études de médecine. Tu sais que tu pourras toujours compter sur moi.

A Pierre,

Merci pour ta douceur et tout l'amour que tu m'apportes chaque jour. Je suis heureuse de partager tous les petits et grands bonheurs de la vie avec toi.

TABLE DES MATIERES

Table des figures	5
Table des tableaux	7
Abréviations.....	8
Introduction.....	9
Partie 1 : Présentation de la dengue	10
1. La transmission virale.....	10
1.1. Présentation du virus	10
1.2. Le cycle cellulaire.....	11
1.3. Les vecteurs	14
1.4. Le cycle de transmission	15
2. Epidémiologie	17
2.1. De l'origine à aujourd'hui	17
2.2. L'Asie et le Pacifique	19
2.3. Le continent américain	21
2.4. L'Afrique.....	21
2.5. L'Europe occidentale ; focus sur la France métropolitaine	22
3. La maladie : diagnostic et traitements	25
3.1. Signes cliniques et biologiques	25
3.2. Dengue sévère	27
3.3. Diagnostic biologique.....	29
3.4. Prise en charge.....	33
Partie 2 : Les moyens de lutte non immunologiques	36
1. Prévention individuelle contre les piqures.....	36
2. Lutte antivectorielle.....	38
2.1. La gestion environnementale.....	38

2.2.	Le contrôle chimique : les larvicides et adulticides.....	38
2.3.	Le contrôle biologique.....	40
3.	Surveillance biologique, clinique, entomologique	42
3.1.	Description des surveillances	42
3.2.	Au niveau mondial	42
3.3.	En France métropolitaine et dans les territoires d'outre-mer	43
Partie 3 : Facteurs impliqués dans la pathogenèse.....		45
1.	Tropisme du virus de la dengue.....	45
2.	Facteurs immunologiques en lien avec la pathogenèse	46
2.1.	Lors d'une primo-infection.....	46
2.1.1.	Activation de la réponse immune innée (RII).....	46
2.1.2.	Activation lymphocytaire périphérique.....	48
2.1.3.	Interactions du SII et SIA et leur rôle dans la protection ou la pathogenèse	49
2.2.	Lors d'une seconde infection.....	50
2.2.1.	L'hypothèse du péché originel antigénique	51
2.2.2.	L'hypothèse ADE : aggravation de la maladie dépendante des anticorps	52
2.2.3.	Synergie d'action des deux hypothèses.....	53
3.	Autres facteurs impliqués dans la pathogenèse	55
3.1.	Facteurs viraux	55
3.2.	Facteurs liés à l'hôte.....	57
3.2.1.	L'âge	57
3.2.2.	Facteur génétique	58
Partie 4 : Développement d'un vaccin.....		59
1.	Objectifs du vaccin.....	59
1.1.	Rôle de la vaccination	59
1.2.	Les différents types de vaccin et leur composition.....	60

1.3.	Caractéristiques du vaccin idéal	61
2.	Les étapes de développement d'un vaccin contre la dengue	64
2.1.	Construction et développement préclinique	64
2.1.1.	Développement et caractérisation du candidat vaccin	64
2.1.2.	Immunogénicité et protection	65
2.1.3.	Toxicité et sécurité	66
2.2.	Développement clinique	67
2.3.	De nombreux essais de fabrication de vaccins	68
3.	Dengvaxia®.....	70
3.1.	Présentation	70
3.2.	Construction	71
3.3.	Etudes précliniques.....	72
3.3.1.	Stabilité génétique et phénotypique	72
3.3.2.	Immunogénicité <i>in vitro</i>	73
3.3.3.	Sécurité et efficacité <i>in vivo</i>	73
3.4.	Etudes de phase 1	76
3.4.1.	Etude d'un vaccin monovalent sur des adultes en zone non endémique	76
3.4.2.	Etude d'une formulation tétravalente sur des adultes en zone non endémique....	77
3.4.3.	Etude d'une formulation tétravalente en zone endémique	78
3.5.	Etudes de phase 2	78
3.5.1.	Etude sur des adultes pour tester différentes formulations	78
3.5.2.	Etude sur des enfants en zone endémique asiatique.....	79
3.5.3.	Etude sur des enfants en zone endémique américaine	80
3.6.	Résultats des études de phase 3	81
3.6.1.	Essai en Asie-Pacifique.....	81
3.6.2.	Essai en Amérique latine.....	82

3.6.3. Efficacité du vaccin en terme d'hospitalisation	83
Discussion.....	85
Conclusion	87
Annexes	88
Bibliographie	90

TABLE DES FIGURES

Figure 1. L'ARN viral (7)	10
Figure 2. La glycoprotéine E du virion (7).....	11
Figure 3. Illustration du vaste panel de molécules permettant la fixation du virus de la dengue. (10) .	11
Figure 4. Cycle réplcatif du virus de la dengue (13)	13
Figure 5. Le cycle de transmission urbain (16)	15
Figure 6. Régions et pays à risque en 2008 (3)	17
Figure 7. Convenabilité des zones à la transmission de la dengue. (20)	18
Figure 8. Nombre moyen de cas de dengue signalés à l'OMS de 1955 à 2010. (21)	18
Figure 9. Incidence des épidémies de Dengue, Chikungunya et Zika, de janvier 2012 au 17 septembre 2014, dans le Pacifique (24)	20
Figure 10. Départements et années d'implantation du moustique <i>Aedes albopictus</i> en France métropolitaine, 2015 (27)	23
Figure 11. Evolution de la dengue maladie (3)	25
Figure 12. Schéma différenciant la dengue classique de la dengue sévère (3).....	27
Figure 13. Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection primaire par le virus de la dengue. (4)	30
Figure 14. Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection secondaire par le virus de la dengue. (4)	30
Figure 15. Schéma d'un ELISA indirect. (32)	31
Figure 16. Schéma explicatif de la méthode par inhibition de l'hémagglutination. (33).....	31
Figure 17. Les réponses immunes innées et acquises au DENV et leurs relations avec la protection ou la maladie. (38)	50
Figure 18. Schématisation de l'hypothèse ADE. (7).....	53
Figure 19. Représentation schématique de l'immunopathogenèse lors d'un cas de dengue sévère (49)	54
Figure 20. Pourcentage de dengue hémorragique (DHF) et indice d'épanchement pleural (PEI) chez les enfants infectés par le virus de la dengue (DEN) 2 par rapport à ceux infectés par d'autres sérotypes du virus de la dengue. (50)	55

Figure 21. Incidence des formes symptomatiques et subcliniques liés au DENV chez différentes tranches d'âge. (54)	57
Figure 22. Classification des candidats/vaccins contre la dengue et leur phase de développement.....	69
Figure 23. Construction du vaccin. (67).....	71
Figure 24. Réponse en Ac neutralisants (PRNT ₅₀) à un mois post-immunisation avec une formulation tétravalente. (68).....	74
Figure 25. Vue d'ensemble simplifiée de l'étude et des résultats.	76
Figure 26. Efficacité du CYD mesurée par rapport au nombre de cas virologiquement confirmés de dengue.(67).....	79
Figure 27. Incidence annuelle de l'hospitalisation due à un cas de dengue confirmé par examen virologique. (78).....	83

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1. Complications médicales observées au cours des phases fébrile, critique et de convalescence de la dengue.	27
Tableau 2. Critères de diagnostic (3).....	28
Tableau 3. Avantages et inconvénients des méthodes biologiques de diagnostic. (3)	32
Tableau 4. Recommandations sur les composés et les formulations pour le contrôle des larves de moustiques dans les habitats-conteneurs, par l'OMS.....	39
Tableau 5. Liste de produits biocides insecticides pour l'imprégnation des vêtements, tissus ou moustiquaires disponible en France en 2015. (80)	88
Tableau 6. Liste de moustiquaires pré-imprégnées d'insecticide disponible en France en 2015. (80)..	88
Tableau 7. Répulsifs recommandés, disponible en France en 2016, pour la protection contre les piqûres d'arthropodes (hors araignées, scorpions, scolopendres et hyménoptères).....	89

ABBREVIATIONS

Ac : Anticorps
ADE : *Antibody Dependent Enhancement* (aggravation de la maladie dépendante des anticorps)
Ag : Antigène
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
CE : cellules endothéliales
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPA : cellule présentatrice d'antigène
CYD : virus recombinant du vaccin contre la dengue
DC : cellule dendritique
DENV : virus de la dengue
DHF : *Dengue haemorrhagic fever* (Dengue hémorragique)
DSS : *Dengue shock syndrome* (Syndrome de choc de la Dengue)
ELISA : *Enzyme-linked immunosorbent assay*
FcR : récepteur Fc
HLA : *Human leukocyte antigen* (Antigène leucocytaire humain)
IC : Intervalle de confiance
IFN : Interféron
IH : inhibition de l'hémagglutination
IL : Interleukine
InVS : Institut de Veille Sanitaire
MR : récepteur de mannose
MMR : *Macrophage Mannose Receptor*
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OR : Odd ratio
PAHO : Organisation Panaméricaine de la santé
PS : phosphatidylsérine
RIA : réponse immune acquise
RII : réponse immune innée
ROR : Rougeole-Oreillons-Rubéole
RT-PCR : réaction en chaîne par polymérase à partir d'un échantillon d'ARN
SC : sous-cutané
SIA : système immunitaire acquis
SII : système immunitaire inné
TDV : formulation tétravalente de vaccin contre la dengue
TNF- α : facteur de nécrose tumorale alpha
UFP : Unité Formatrice de Plage
YF-VAX : vaccin de la fièvre jaune

INTRODUCTION

D'après les archives, une maladie à la symptomatologie similaire à celle de la dengue a été décrite en Chine dès le 3^{ème} siècle, pendant la dynastie des Jin. Les écrits décrivent la maladie comme «l'eau empoisonnée» associée aux insectes volants. (1) Des descriptions similaires ont été rapportées durant le 7^{ème} et le 10^{ème} siècle. Les signes cliniques incluaient la fièvre, une éruption cutanée, des arthralgies, des myalgies et des manifestations hémorragiques. Après une longue absence dans les dossiers historiques, de nouvelles notifications apparaissent presque sept siècles plus tard aux Antilles françaises en 1635 et au Panama en 1699. (2)

Aujourd'hui, la dengue est présente de façon endémique sur 3 continents. Elle est reconnue comme la plus importante maladie virale transmise par les arthropodes et celle dont l'expansion géographique est la plus rapide. (3)

L'incidence de la dengue progresse actuellement de manière très importante. Elle s'inscrit aujourd'hui aux rangs des maladies dites « ré-émergentes ». Avec la globalisation de l'économie et l'augmentation des échanges des biens et des personnes, elle tend à gagner de nouvelles zones géographiques et provoque des épidémies de plus grandes importances.

L'OMS estime à 50 millions le nombre de cas annuels, dont 500 000 cas de dengue hémorragique qui sont mortels dans plus de 20% des cas. Deux milliards et demi de personnes vivent dans des zones à risque.

Elle est transmise à l'homme par des moustiques du genre *Aedes* et due à un arbovirus. Ce virus appartient à la famille des *Flaviridae* (genre flavivirus) et compte quatre sérotypes différents (DEN1 à DEN4). L'infection par un sérotype induit une immunité contre ce sérotype mais pas contre les autres. On peut donc être infecté plusieurs fois par des sérotypes différents. (4)

La dengue se présente souvent sous la forme de grandes épidémies. Globalement, les rapports sur les cas de dengue montrent la variation cyclique des années épidémiques et des années non épidémiques. Cependant une saisonnalité de la dengue existe aussi, avec des flambées qui se produisent à différentes périodes de l'année. Cette saisonnalité est déterminée par le pic de transmission de la maladie, influencées par les caractéristiques de l'hôte, du vecteur et de l'agent. (3)

Dengvaxia® est le premier vaccin au monde contre la dengue à avoir été commercialisé. Développé par Sanofi Pasteur, il a d'abord été autorisé en 2015 au Mexique. A ce jour, le vaccin est enregistré dans 16 pays. (5)

PARTIE 1 : PRESENTATION DE LA DENGUE

1. La transmission virale

1.1. Présentation du virus

Le virus de la dengue appartient au genre *Flavivirus*, de la famille des *Flaviviridae*. Il est étroitement lié phylogénétiquement à d'autres flavivirus : le virus Zika, le virus de la fièvre jaune, le virus du Nil occidental et le virus de l'encéphalite japonaise. (6)

C'est un petit virus à ARN simple brin positif d'environ 11kb qui possède une coiffe en 5' mais pas de queue polyadénylée en 3'. Il possède également deux régions non-traduites en 3' et 5' ayant un rôle clé dans la régulation de la traduction et la réplication.

La traduction de l'ARN viral produit un polypeptide unique qui est co-traduit par des protéases virales et cellulaires, générant trois protéines de structure de la capsidie et sept protéines non structurales (NS). Les protéines de structure sont la capsidie, la protéine associée à la membrane (prM) et la glycoprotéine de l'enveloppe. (7)

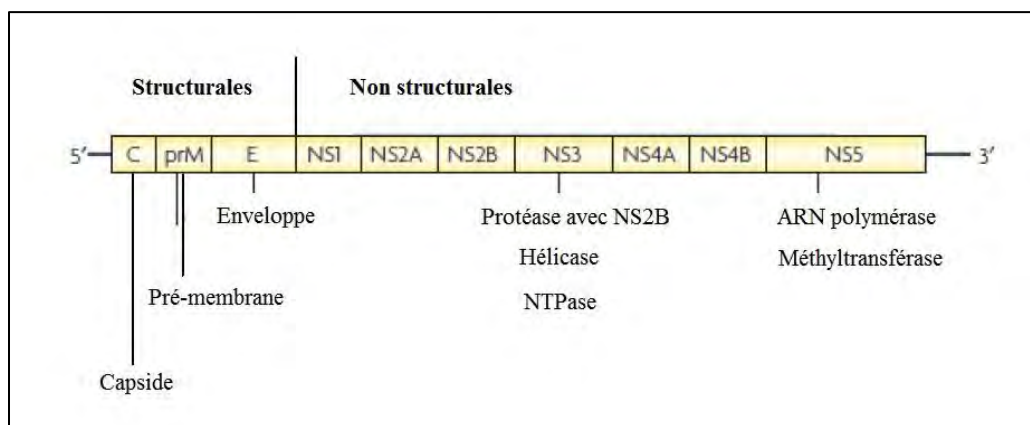


Figure 1. L'ARN viral (7)

Le clivage du carboxy-terminal des deux tiers de la polyprotéine donne sept protéines non structurales (NS): NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B et NS5.

NS3 code pour une sérine protéase, une hélicase et une nucléotide triphosphatase. NS5 code deux fonctions: le premier tiers code pour une méthyltransférase et le reste pour une ARN polymérase. NS1 joue différents rôles dans le cycle de réplication du virus tandis que NS2A, NS2B, NS4A et NS4B sont toutes de petites protéines hydrophobes. La région centrale de NS2B est requise pour le fonctionnement de la protéase NS3.(8)

La particule mature du virus de la dengue est sphérique avec un diamètre de 50 nm. (3) Les protéines structurales de la pré-membrane et de l'enveloppe sont ancrées dans la membrane lipidique et sont donc exposées à la surface du virion.

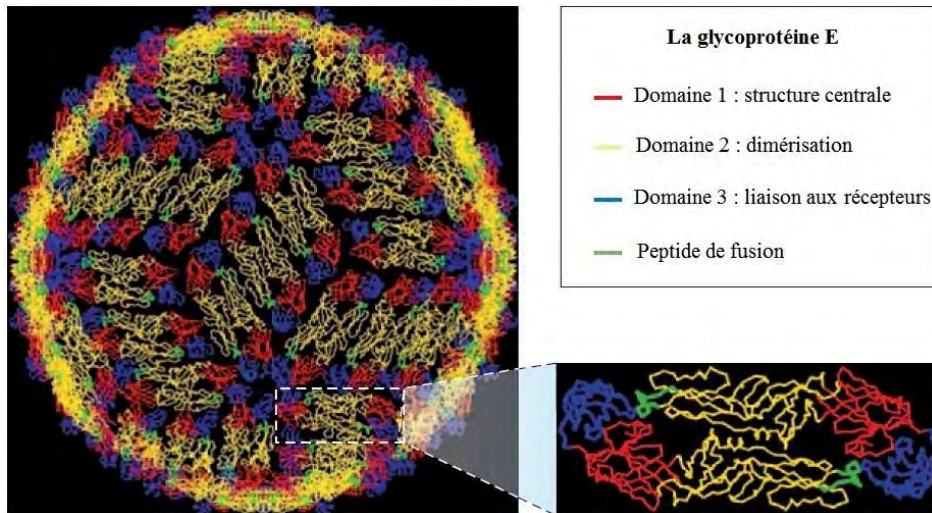


Figure 2. La glycoprotéine E du virion (7)

La glycoprotéine E est impliquée dans la fixation et la fusion du virion aux cellules. C'est également la principale cible des anticorps protecteurs. Elle est divisée en trois domaines structuraux ou fonctionnels : le domaine central (D1), le domaine de dimérisation (D2) comprenant un peptide de fusion et le domaine de liaison aux récepteurs (D3). (7)

Il existe 4 sérotypes distincts du virus de la dengue (DEN-1 à -4). Ils diffèrent au niveau des acides aminés des protéines d'enveloppe virale de 25 à 40%. De plus, il existe une complexité supplémentaire car au sein d'un même sérotype on retrouve plusieurs génotypes qui varient jusqu'à 6% au niveau des nucléotides et 3% au niveau des acides aminés. (9)

Chacun des quatre phénotypes existants est capable de causer l'ensemble des symptômes, des plus asymptomatiques aux plus graves. (7)

1.2. Le cycle cellulaire

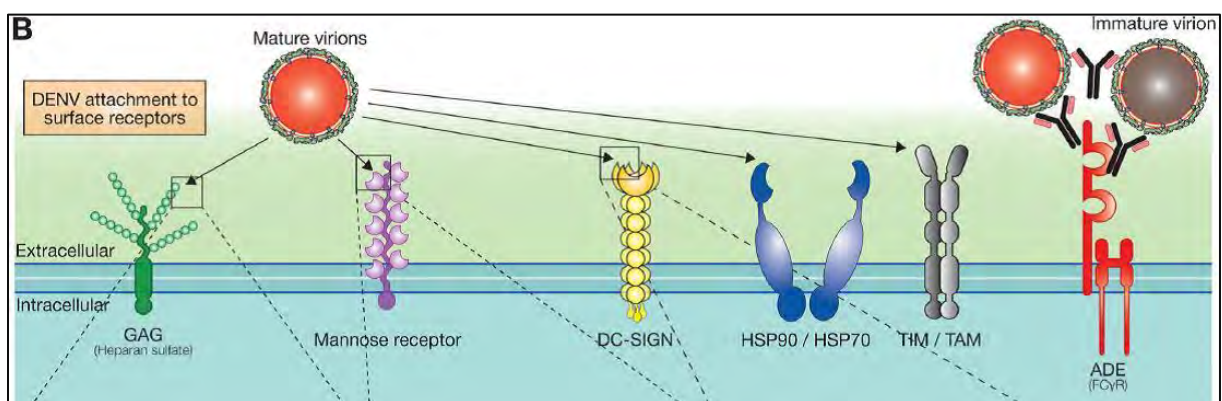


Figure 3. Illustration du vaste panel de molécules permettant la fixation du virus de la dengue. (10)

Le cycle viral débute par l'interaction du virus avec la cellule cible.

Le virus est capable d'infecter une variété de types de cellules très différentes les unes des autres car il peut se lier et entrer dans les cellules hôtes en utilisant un vaste panel de molécules. Aucun récepteur spécifique du virus de la dengue (DENV) n'a été identifié pour le moment. Cependant un certain nombre de candidats de nature distincte chez les mammifères et les moustiques ont émergé, dont les glycosaminoglycanes tels que l'héparane sulfate et les lectines, la molécule d'adhésion des cellules dendritiques (DC-SIGN), le récepteur du mannose (MR) exprimé par les cellules dendritiques immatures et par les macrophages, les protéines induites par le stress, telles que les protéines de choc thermique 70 et 90 et la protéine chaperonne GRP78. Récemment, les récepteurs TIM et TAM que l'on retrouve plus particulièrement sur les kératinocytes et les fibroblastes ont été identifiés comme de nouvelles molécules de fixation cellulaire du DENV. (10,11) Ces protéines sont impliquées dans l'absorption et l'élimination des cellules apoptotiques, en reconnaissant le marqueur apoptotique phosphatidylsérine (PS). Comme la membrane virale expose la PS, le virus est capable d'entrer dans les cellules par liaison directe du récepteur TIM ou indirectement par le récepteur TAM. (12)

Une fois fixé sur la surface de la cellule, le virion peut être internalisé par des voies distinctes, incluant l'endocytose médiée par la clathrine, l'endocytose non classique indépendante de la clathrine ou la macropinocytose, selon l'hôte cellulaire et le sérotype du virus. (10)

La vésicule endocytaire devient un endosome tardif, où l'acidification déclenche des changements de conformation sur les dimères de la protéine E pour devenir des trimères fusogènes. Enfin, les pores sont formés et le génome du virus est libéré dans le cytoplasme. (12) La glycoprotéine d'enveloppe E assure la double fonction d'interaction avec des récepteurs membranaires et de fusion de l'enveloppe virale et de la membrane de l'endosome. Le génome viral alors libéré dans le cytoplasme est traduit dans le RER (réticulum endoplasmique rugueux) sous la forme d'une polyprotéine précurseur. Celle-ci est ensuite clivée en 3 protéines structurales et 7 protéines non structurales (NS) par des protéases d'origine cellulaire et virale, dont le domaine protéase de la protéine virale NS3. (13)

Les protéines NS s'assemblent entre elles mais aussi avec des protéines cellulaires au niveau d'un réseau membranaire périnucléaire, au sein d'un complexe de réplication. L'activité ARN polymérase dépendante de l'ARN, portée par le domaine C-terminal de NS5, est responsable de la synthèse des ARN anti-génomique et génomique. (13)

Finalement, après l'encapsulation des génomes néosynthétisés et la glycosylation des protéines d'enveloppe, de nouveaux virions s'assemblent et sont libérés par exocytose. (13)

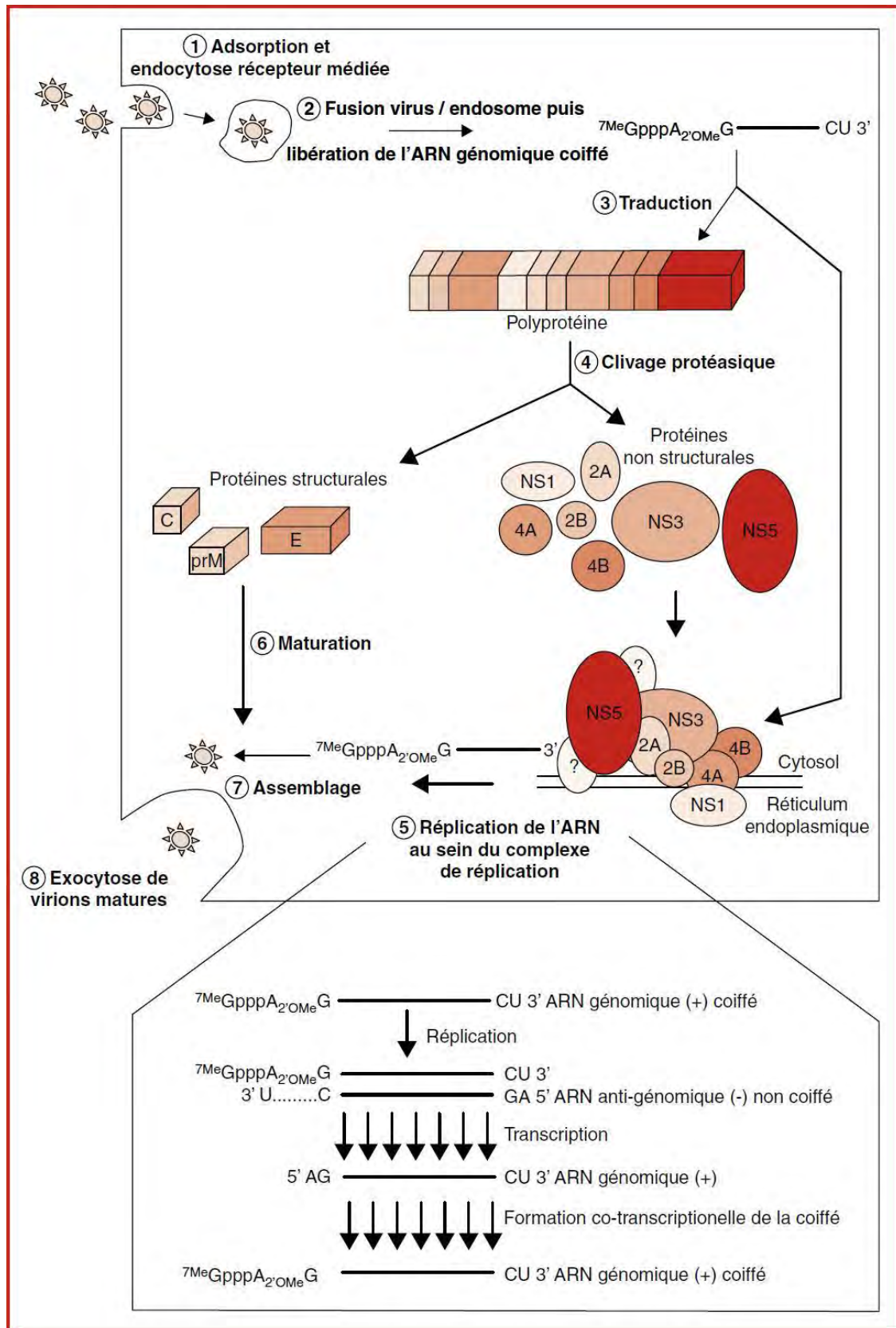


Figure 4. Cycle répliatif du virus de la dengue (13)

1.3. Les vecteurs

Le virus de la dengue est transmis à l'homme par des piqûres de moustiques infectés, c'est pourquoi on parle d'arbovirus (ARthropode BORne VIRUS) car son vecteur est un arthropode. Il s'agit de moustique du genre *Aedes*, et principalement de *Aedes aegypti*.

Ce moustique est une espèce des régions tropicales et subtropicales, largement répandu dans le monde, notamment entre les latitudes 35 °N et 35 °S. Sa limite géographique correspond à peu près à une isotherme hivernale de 10°C. Durant des mois très chauds, il a été trouvé au-delà du 45°N mais n'a pas survécu à l'hiver. Il est absent des altitudes supérieures à 1000 mètres. (3)

Comme tous les diptères, les moustiques possèdent la particularité de vivre en milieu aquatique aux stades immatures (larves puis nymphes), et aérien au stade adulte. Les larves se développent dans des habitats remplis d'eau, principalement dans des récipients artificiels étroitement associés à des habitations humaines. (3) D'après une étude menée dans des grandes villes de six pays d'Asie du sud-est en 2009, les sites de reproduction les plus productifs sont des conteneurs d'eau aux caractéristiques suivantes : localisés en plein air et non protégés, sous les arbustes et inutilisés pendant au moins une semaine. La production de nymphe se concentre majoritairement dans les zones péri- ou intra-domestiques plutôt que dans les espaces publics et commerciaux. (14)

Des études suggèrent que la plupart des femelles *Ae. Aegypti* peuvent passer leur vie dans ou autour des maisons où elles sont nées. On peut donc formuler l'hypothèse que l'expansion du virus à l'intérieur et entre les communautés est plus le résultat des déplacements des populations plutôt que des déplacements des moustiques. (3)

D'autres espèces de moustiques sont aussi des vecteurs du virus de la dengue. Il s'agit par exemple d'*Aedes albopictus* (aussi appelé moustique tigre), *Aedes polynesiensis* et plusieurs espèces complexes d'*Aedes scutellaris*. Chaque espèce possède ses particularités en termes d'écologie, de mode de vie et de répartition géographique. (3)

Durant les dernières décennies, ce serait notamment par le biais du commerce international de pneus usagés qu'*Aedes albopictus*, vecteur secondaire de la dengue en Asie, s'est propagé de l'Asie à l'Afrique, en Amérique et en Europe. Des œufs peuvent être déposés dans les pneus contenant de l'eau de pluie. (3)

La température environnante intervient dans la survie des vecteurs adultes et dans le développement des stades immatures. Ainsi parce que le climat a une influence directe sur la biologie des vecteurs, et donc leur densité et leur distribution, il est un déterminant essentiel des épidémies.

1.4. Le cycle de transmission

Les hôtes naturels du DENV sont les humains et les moustiques. L'homme est le principal hôte amplificateur du virus de la dengue. (3)

Il existe différents cycles de transmission et d'amplification du virus de la dengue : le cycle sylvatique et le cycle urbain.

Dans le cycle sylvatique, le virus passe par des phases d'infection, d'amplification et de réinfection entre différentes espèces de primates non humains et les arthropodes vecteurs. Les moustiques infectés migreraient ensuite des jungles vers les zones urbaines, amorçant ainsi le cycle urbain au cours duquel les cycles d'infection, d'amplification et de réinfection se produisent entre les humains et les espèces vectrices. (15)

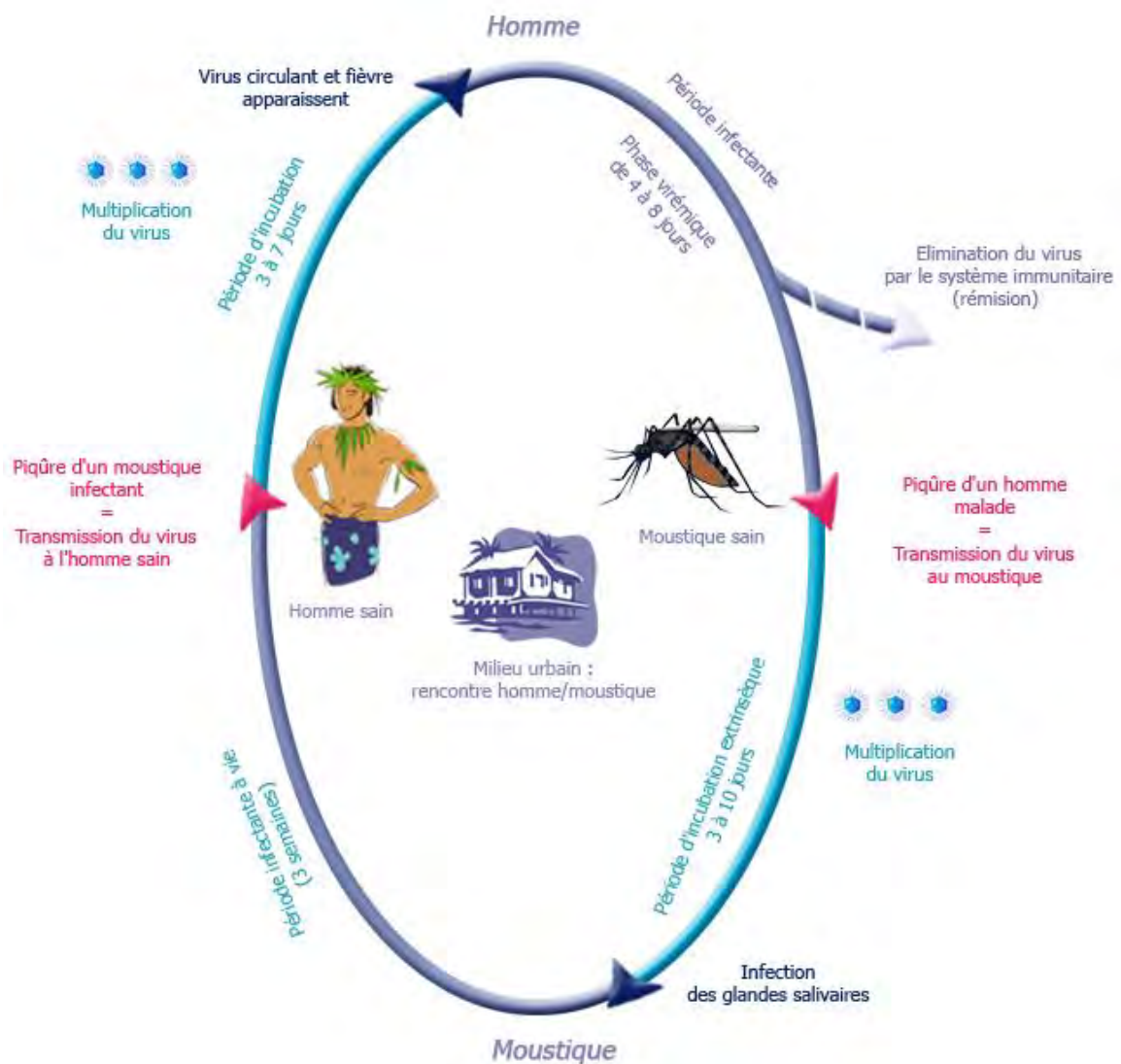


Figure 5. Le cycle de transmission urbain (16)

Le virus circulant dans le sang des humains infectés est ingéré par un moustique femelle lors de son repas. Seules les femelles prennent des repas sanguins pour se procurer les acides aminés nécessaires à l'ovogenèse. (17) Le virus infecte donc l'intestin moyen du moustique puis se propage de manière systémique dans tout son organisme notamment dans les glandes salivaires pendant une période pouvant aller jusqu'à 10 voire 12 jours. Après cette période d'incubation extrinsèque, le virus est présent dans les glandes salivaires et peut être transmis à d'autres humains lors de pique. Par la suite, le moustique reste infectieux pour le reste de sa vie et il n'est pas affecté par la présence du virus. Il peut infecter un humain sain, s'y multiplier lors d'une période d'incubation de 3 à 7 jours et enfin circuler dans tout son corps et provoquer la fièvre. La période infectante (période où le sujet infecté peut transmettre le virus au moustique) correspond à la phase virémique de 4 à 8 jours.

Il n'y a pas de transmission naturelle du virus directement d'homme à homme. La transmission se fait uniquement par le biais du moustique vecteur. Les personnes atteintes de la dengue ne sont donc contagieuses ni par contact, ni par le biais des postillons. Néanmoins, une transmission du virus par transfusion sanguine, transplantation ou passage transplacentaire est possible mais reste très rare. (1)

Le passage du virus d'un moustique femelle à sa descendance est appelé la transmission verticale. Les œufs pondus sont parfois infectés et ils peuvent donner naissance à des larves qui deviendront des adultes vecteurs de la dengue sans avoir jamais piqué de malade. De plus, les œufs d'*Aedes* sont résistants et supportent la dessiccation. A la fin de la saison humide, les œufs sont capables de survivre à la sécheresse, jusqu'à la saison humide suivante. Leur éclosion, plusieurs mois après la fin d'une période de transmission, peut donc se traduire par la réapparition d'une circulation virale. Ce phénomène est assez rare mais il peut expliquer la réapparition de foyers de dengue à distance d'une épidémie sans réintroduction du virus. (18)

Ainsi de nombreux facteurs peuvent influencer cette transmission virale dont notamment les facteurs environnementaux et climatiques et les interactions entre hôtes et vecteurs. (3)

2. Epidémiologie

2.1. De l'origine à aujourd'hui

La dengue est une maladie d'origine tropicale qui fut longtemps limitée à l'Asie du Sud-est, région marquée par les épidémies en Chine de 440 000 cas en 1980 et en Thaïlande de 200 000 cas en 1987. (19)

Mais la maladie n'a cessé de s'étendre, atteignant l'Océan Indien, le Pacifique Sud (32 800 cas à Tahiti, Moorea, et en Polynésie Française, en 2001), les Antilles françaises (2003 et 2006-2008 et 2009-2010), et l'Amérique latine. En 1981, les premiers cas de dengue hémorragique sont apparus à Cuba et dans les Caraïbes. La dengue hémorragique fut de retour à Cuba en 1996, après 15 ans d'absence. (19)

Environ 2,5 milliards de personnes vivent dans des zones endémiques (maladie présente en permanence). La dengue sévit principalement dans l'ensemble de la zone intertropicale du fait de sa forte transmission par *Aedes aegypti*, vecteur qui ne survit pas aux faibles températures. (3)

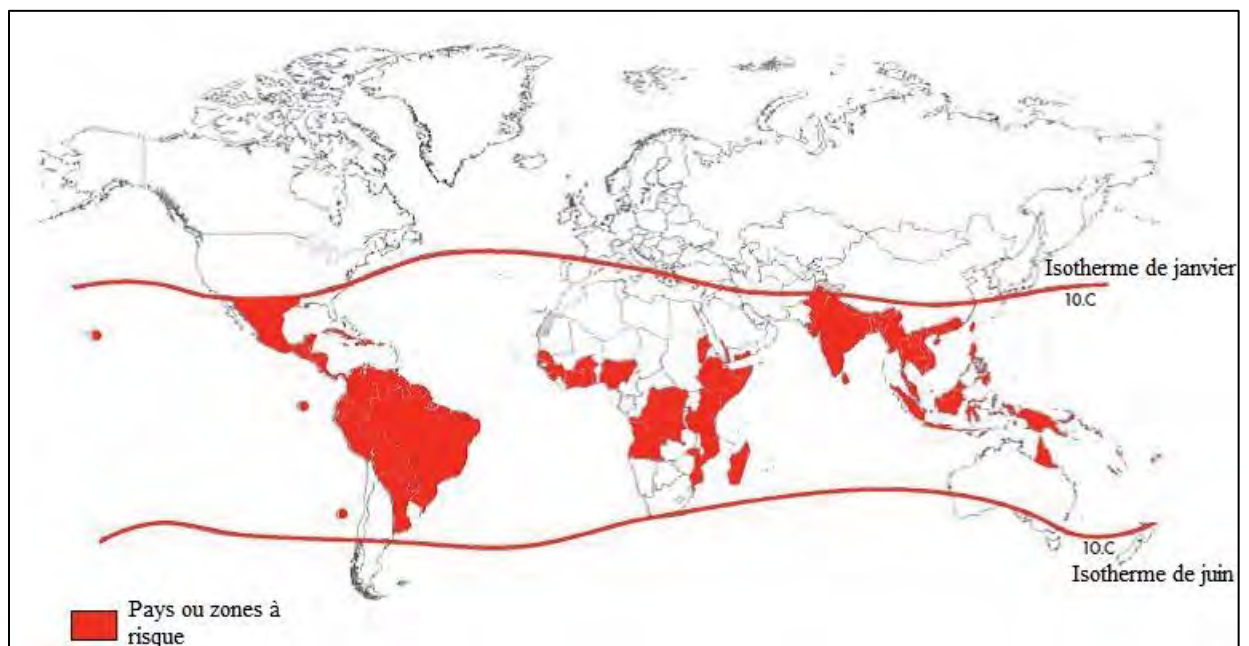


Figure 6. Régions et pays à risque en 2008 (3)

Les lignes isothermes de janvier et de juin indiquent les limites géographiques potentielles dans l'hémisphère nord et sud pour la survie à l'année d'*Aedes Aegypti*, principal vecteur de la maladie.

En 2012, le *New England Journal* a publié un article dont est extraite la figure 7 qui illustre les différents niveaux de transmission de la dengue au niveau mondial. A l'aide d'un algorithme particulier, il a été possible de définir différents niveaux de risque. Plus le risque

de transmission est élevé plus la zone est de couleur chaude. La couleur grise représente les zones non favorables à la transmission ou non endémique.

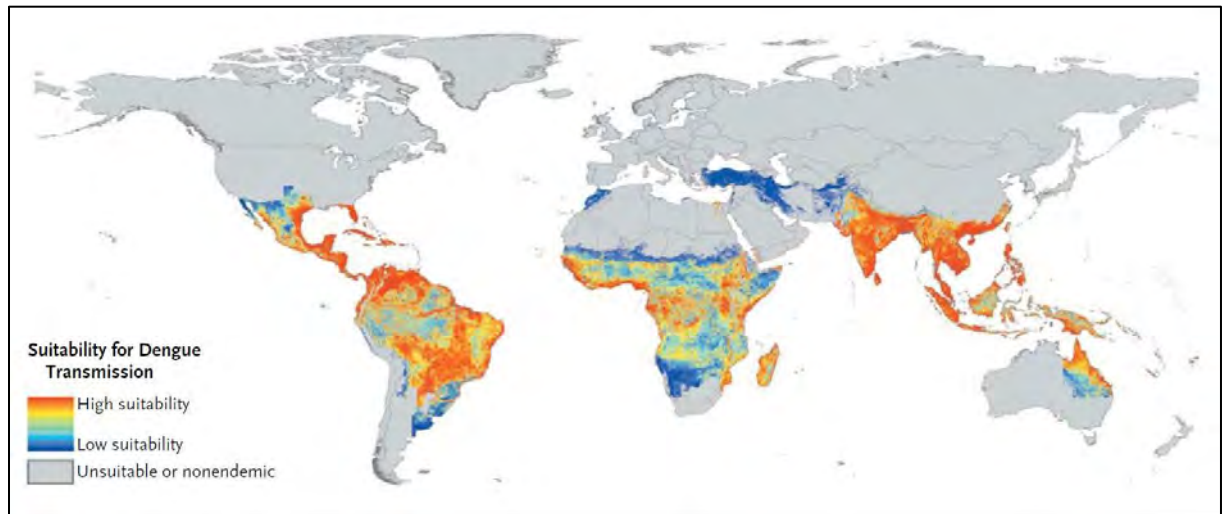


Figure 7. Convenabilité des zones à la transmission de la dengue. (20)

Actuellement, les régions les plus à risque sont donc essentiellement l'Asie, suivie de l'Amérique latine et de l'Afrique.

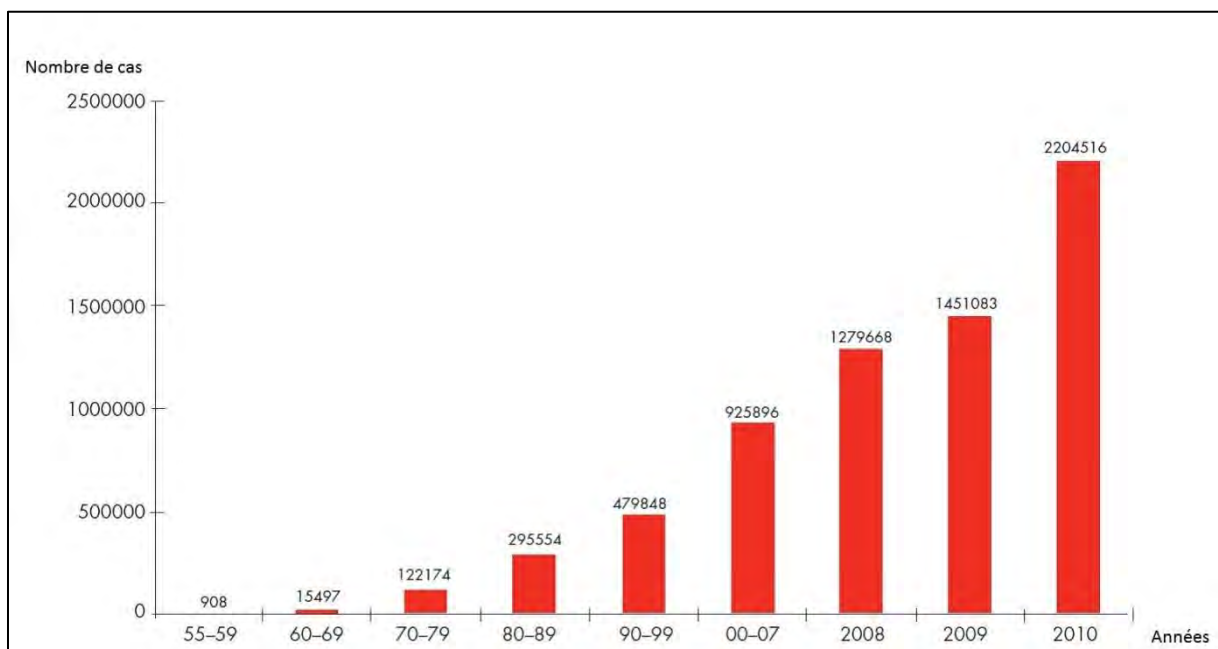


Figure 8. Nombre moyen de cas de dengue signalés à l'OMS de 1955 à 2010. (21)

Comme le prouve la figure 8, le nombre de cas de dengue dans le monde n'a fait qu'augmenter ces 60 dernières années. C'est la conséquence d'une expansion géographique de la maladie à de nouveaux pays. L'une des raisons de cette expansion est l'implantation d'*Aedes albopictus*, durant ces dernières années, en Amérique du Nord et en Europe, y compris en France. Sa période d'activité dans ces régions se situe entre le 1^{er} mai et le 30

novembre mais elle peut s'étendre grâce à la résistance de ce moustique aux températures basses et à sa capacité d'hibernation. (19) De plus, ces dernières années, la dengue s'est étendue des zones urbaines vers les zones rurales. (3)

D'après le rapport de l'OMS de 2008, l'incidence a été multipliée par 30 en 50 ans. Elle est estimée en 2008, à 50 millions d'infections par an dans le monde. En 2015, l'OMS a notifié 3,2 millions de cas de dengue. Malheureusement, il existe une forte sous notification et l'incidence annuelle mondiale de cas symptomatiques ces dernières années a été estimée par modélisation entre 50 et 100 millions. (22)

2.2. L'Asie et le Pacifique

Environ 1.8 milliards de personnes, soit plus de 70% de la population à risque de dengue dans le monde, vit dans les pays d'Asie du Sud-Est et de la région du Pacifique occidental. Cette région pèse 75% de la charge mondiale de morbidité due à la dengue. (3) 17 pays d'Asie sont endémiques ou hyper endémiques. (23) La Seconde Guerre mondiale a entraîné des changements écologiques et démographiques importants qui ont facilité la transmission et la propagation de la dengue dans la région Asie-Pacifique, y compris une forte mobilité des civils et des soldats et un nombre accru de personnes sensibles dans les zones endémiques. Le transport de marchandises, l'expansion économique et l'urbanisation continue ont facilité le mouvement et la reproduction des vecteurs adultes et la propagation des virus. (1)

Depuis l'année 2000, les épidémies de dengue en **Asie du Sud-Est** se sont étendues à de nouvelles zones et sont en hausse dans les zones déjà touchées. En 2003, des cas de dengue ont été signalés dans 8 pays : le Bangladesh, l'Inde, l'Indonésie, les Maldives, le Myanmar, le Sri Lanka, la Thaïlande et le Timor-Leste. En 2004, le Bhoutan a rapporté la première épidémie de dengue du pays, et deux ans plus tard (en novembre 2006), c'est le Népal qui a signalé des cas de dengue autochtones pour la première fois. Le seul pays de la région du Sud-Est qui n'a pas rapporté de dengue autochtone est la République populaire démocratique de Corée. (3)

La dengue est un grave problème de santé publique dans la région du **Pacifique occidental**. Depuis la dernière pandémie majeure en 1998, des épidémies ont eu lieu dans une grande partie de la région. Les 4 pays avec le plus grand nombre de cas et de mort dans cette région sont le Cambodge, la Malaisie, les Philippines et le Viêtnam. Historiquement, les cas de dengue ont été rapportés principalement autour des zones urbaines et péri-urbaines où la densité populationnelle facilite les transmissions. Néanmoins, les récentes épidémies comme au Cambodge en 2007 suggèrent qu'elles apparaissent maintenant dans les zones rurales.(3) Heureusement, la létalité diminue grâce à l'amélioration de la surveillance et surtout d'une meilleure prise en charge (notamment des enfants).

Dans le Pacifique sud, on observe généralement la circulation d'un sérotype prédominant, contrairement aux autres zones où plusieurs sérotypes circulent fréquemment en même temps. De nouveaux cycles épidémiques surviennent tous les 5 à 10 ans, liés à la réintroduction d'un

nouveau sérotype. La dernière grande épidémie remonte à l'an 2000. Une recrudescence a été observée à partir de fin 2006, notamment en Polynésie, aux îles Cook, en Nouvelle-Calédonie, au Tonga et à Palau. (23)

La Nouvelle-Calédonie a rapporté la présence d'épidémie en 2003 (sérotype 1) ainsi qu'en 2008-2009 (sérotype 4), et depuis septembre 2009, les cas surviennent sporadiquement. (23)

En Polynésie française, des épidémies ont été rapportées en 2001 (sérotype 1, 33 800 cas estimés, 633 formes sévères et 8 décès), 2006-2007 (sérotype 1, 4 500 cas notifiés, 29 formes sévères) et 2009 (sérotype 4, 24 500 cas estimés, 3 formes sévères, aucun décès). Depuis, les cas de dengue surviennent de façon sporadique. (4)

A Wallis et Futuna, une importante épidémie de sérotype 1 a affecté l'archipel en 2002-2003 avec 3 000 cas rapportés (taux d'attaque : 21 %). Depuis 2004, des cas sporadiques sont signalés. (4)

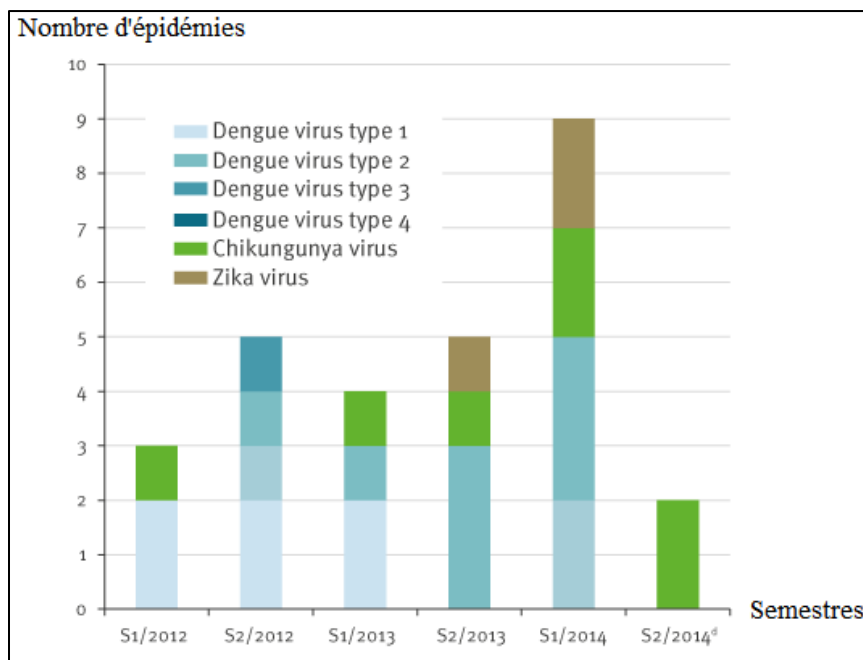


Figure 9. Incidence des épidémies de Dengue, Chikungunya et Zika, de janvier 2012 au 17 septembre 2014, dans le Pacifique (24)

D'après les résultats illustrés dans la figure 9, il a été répertorié 28¹ nouvelles épidémies (n=25) et circulation (n=3) de maladies virales transmises par les moustiques en un peu plus de 2 ans dans le Pacifique. Une épidémie est considérée comme telle lorsqu'il est signalé une nouvelle circulation du virus s'il n'y a pas eu d'évènement avec le même virus signalés au même endroit pendant un an auparavant.

¹ Correspond à la somme des épidémies sur chaque période

En conséquence, depuis janvier 2012, le Pacifique connaît une importante morbidité en raison d'épidémies simultanées de la dengue, du chikungunya et d'infections par le virus Zika. Cette vague d'épidémies de virus par les moustiques est sans précédent. Ces épidémies d'arboviroses semblent devenir plus fréquentes et plus diversifiées. (14)

2.3. Le continent américain

L'Amérique est le continent qui rapporte le plus grand nombre de cas. Des campagnes d'éradication d'*Aedes aegypti* principalement dans les années 60 et début des années 70 avaient permis d'interrompre la transmission de la dengue. Toutefois, les mesures de surveillance et de contrôle vectoriel n'ont pas été maintenues et il y a eu ensuite des ré-infestations de moustiques. (3) La croissance démographique, l'urbanisation non contrôlée, les catastrophes naturelles et la paupérisation des populations touchées par la maladie semblent également en cause. (19) La dengue s'y est alors propagée avec des épidémies cycliques survenant tous les 3-5 ans, notamment dans les Caraïbes, et en Amérique centrale et du Sud. (3)

Le plus grand foyer est apparu en 2002 avec plus de 1 million de cas signalés. En 2010, la dengue est à l'origine de 86 000 cas en Martinique et Guadeloupe. Depuis fin 2009, la maladie sévit sur un mode épidémique aux Antilles. Plus récemment, en 2013 une épidémie est déclarée en Guyane (19) et des cas ont été notifiés en Floride la même année.

On a par ailleurs observé en 2010 dans les Caraïbes une modification de la saisonnalité des épidémies avec un démarrage anticipé en pleine période sèche (au 1^{er} trimestre au lieu du 2^{ème} semestre). (23)

De plus, les 4 sérotypes du virus circulent sur le continent américain augmentant le risque de survenue de formes graves. (23)

2.4. L'Afrique

Dans les pays membre de l'OMS de la région africaine, les données de surveillance sont faibles. Des rapports d'épidémies incomplets existent où il est prouvé que les épidémies de dengue augmentent en taille et en fréquence. La dengue n'est pas officiellement notifiée à l'OMS par tous les pays du continent. En l'absence de confirmation par un laboratoire, les cas de maladies enregistrées pourraient être dus à une infection par le virus de la dengue ou par des virus tels que le chikungunya qui produisent des symptômes cliniques similaires. (3)

En Egypte une épidémie serait apparue dès 1799. Des flambées ont eu lieu au Soudan (en 1985, DEN-1 et -2) et à Djibouti (1991, DEN-2). (3)

En octobre 2009, une importante épidémie de dengue de sérotype 3 a été observée au Cap-Vert qui en était jusqu'alors exempt ; plus de 21 000 cas y ont été rapportés. Dans le même temps, le Sénégal rapportait des cas de dengue du même sérotype. (23)

En 2010, une épidémie de sérotype 3 a été rapportée aux Comores, ce pays n'avait pas déclaré d'épidémie depuis 1993. (23) La même année, une épidémie concomitante de dengue et de chikungunya a été rapportée au Gabon.

Les cas importés diagnostiqués chez des voyageurs de retour d'Afrique permettent de mettre en évidence l'existence d'une circulation virale dans certains pays, en particulier en Afrique de l'Ouest (en Côte d'Ivoire, au Mali, au Sénégal, au Burkina Faso, au Bénin et au Cameroun), en Afrique de l'Est (en Tanzanie, Erythrée aux Comores) et en Afrique du Nord (en Egypte). (23)

2.5. L'Europe occidentale ; focus sur la France métropolitaine

L'Europe occidentale n'est pas encore une zone endémique.

Les données disponibles pour la région européenne indiquent que la plupart des cas ont été signalés comme des cas d'importations en provenance de pays endémiques. Cependant, dans le passé, la dengue a été endémique dans certains pays des Balkans et de la région méditerranéenne. (19)

En 2012, une flambée sur l'archipel de Madère au Portugal, a provoqué plus de 2000 cas. C'est la première fois que des cas autochtones ont été signalés sur l'île. Dix autres pays européens ont recensé des cas importés. (19)

Le sud de la France doit être particulièrement surveillé car depuis 2004 le moustique tigre (*Aedes albopictus*) y est présent. Ce moustique est vecteur de la dengue mais aussi du chikungunya.

Il s'est implanté en France métropolitaine dans : (25,26)

- 17 départements en 2013,
- 18 départements en 2014,
- 29 départements en 2015,
- 30 départements en mai 2016 (Ain, Alpes-de-Haute-Provence, Alpes-Maritimes, Ardèche, Aude, Bouches-du-Rhône, Corse-du-Sud, Haute-Corse, Dordogne, Drôme, Gard, Haute-Garonne, Gironde, Hérault, Isère, Landes, Lot, Lot-et-Garonne, Pyrénées-Atlantiques, Pyrénées-Orientales, Bas-Rhin, Rhône, Saône-et-Loire, Savoie, Tarn, Tarn-et-Garonne, Var, Vaucluse, Vendée, Val-de-Marne).

Il expose au risque de transmission autochtone de ces arboviroses du fait de l'introduction régulière des virus par des sujets infectés lors de séjours dans des zones où ils circulent. (25)

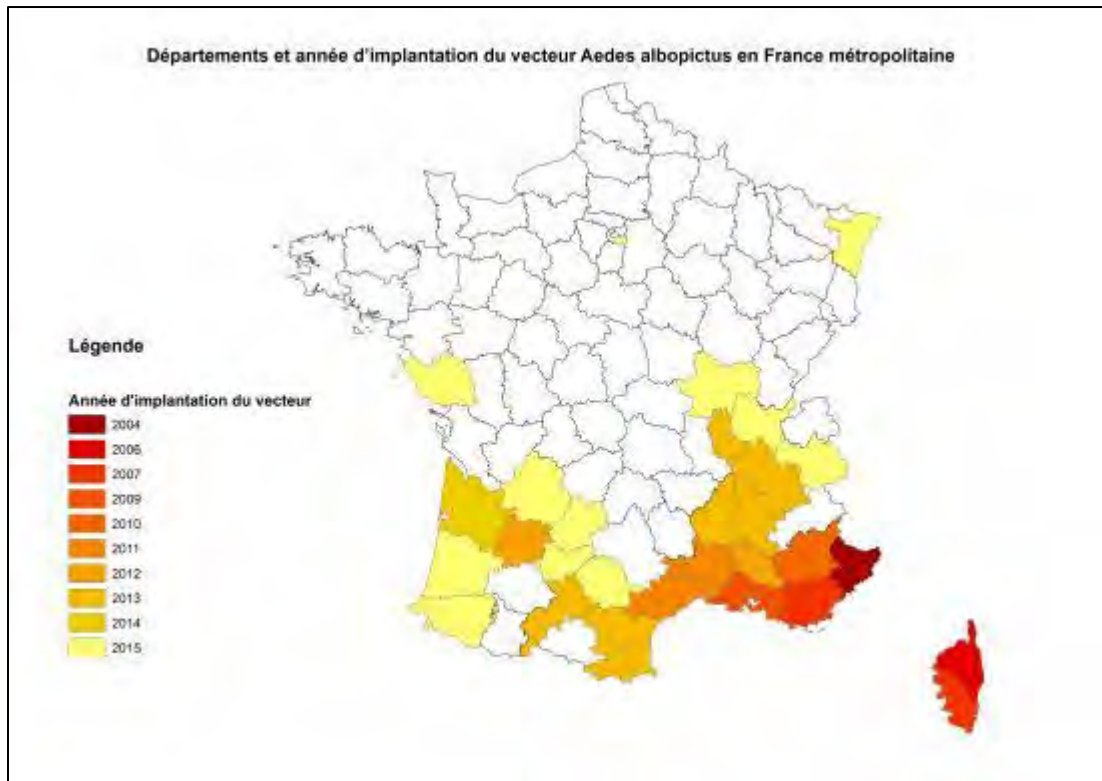


Figure 10. Départements et années d'implantation du moustique *Aedes albopictus* en France métropolitaine, 2015 (27)

Une étude en laboratoire d'une équipe de l'Institut Pasteur a montré qu'*Aedes albopictus* présent dans le Sud de la France est plus efficace que le vecteur typique de la dengue, l'*Aedes aegypti*, pour transmettre le DENV-1. En effet, près de 67% d'*Ae. Albopictus* ont été en mesure de transmettre ce virus au 9^{ème} jour après l'ingestion du repas sanguin infectieux, lorsque moins de 21% d'*Ae. Aegypti*, ont pu réaliser la transmission. (28)

Les 2 premiers cas autochtones de dengue en France ont été détectés en 2010 à Nice. (19) En 2014, 201 cas de dengue, dont 3 cas autochtones, ont été déclarés en métropole française. (29)

Entre le 8 Août et 11 Septembre 2015, sept cas autochtones de dengue ont été identifiés dans la périphérie de Nîmes, une ville d'environ 150.000 habitants. L'épidémie a eu lieu dans un rayon de 300 mètres autour de la résidence d'un cas importé qui serait le cas primaire. On a identifié le même type de virus DENV-1 chez ces cas autochtones et chez le cas importé. Le virus a été probablement distribué pendant 3 mois. C'est à ce jour, le plus grand foyer signalé en France métropolitaine, où des cas sporadiques de dengue autochtone ont été signalés précédemment. L'épidémie a eu lieu en dépit du fait que le nombre de cas de dengue importés a été relativement faible en 2015. En effet, 12 cas de dengue importés, ont été enregistrés dans la région Languedoc-Roussillon, dont cinq dans le Gard, entre le 1er mai et le 30 Novembre 2015, contre 32 en 2013 et 24 en 2014. (30)

Le risque d'apparition de nouveaux foyers épidémiques en France est donc réel, d'autant que de 60 à 85 % des cas de dengue sont asymptomatiques.

En conclusion, on constate au niveau mondial une intensification des épidémies de dengue. Cette recrudescence peut être très partiellement expliquée par l'amélioration de la surveillance. L'extension géographique se poursuit au sein des pays déjà touchés mais également vers des zones jusque-là indemnes. Une co-circulation de plusieurs sérotypes lors des épidémies est de plus en plus fréquente. Le nombre de formes sévères augmente mais il n'est pas possible d'affirmer une accentuation réelle de la gravité des épidémies. Cette gravité, qui ne se traduit pas par une augmentation de la létalité (conséquence d'une meilleure prise en charge), est difficile à anticiper compte tenu de la complexité des facteurs intervenant en particulier des sérotypes circulants.

3. La maladie : diagnostic et traitements

3.1. Signes cliniques et biologiques

La dengue peut conduire à plusieurs formes cliniques :

- **forme asymptomatique** : infection sans aucun symptôme (50 à 90 % des cas)
- **forme symptomatique** « classique » : apparition d'une forte fièvre souvent accompagnée de frissons, de maux de tête, de nausées, de vomissements, de douleurs articulaires et musculaires et, de façon inconstante, d'une éruption cutanée vers le 5^{ème} jour des symptômes
- **forme sévère** : rare, elle représente 1 % des cas symptomatiques qui évoluent en dengue hémorragique (DHF) ou syndrome de choc de la dengue (DSS).

Dans la forme classique, après une période d'incubation qui dure généralement de 4 à 7 jours mais dont la plage peut aller de 3 à 14 jours, la maladie débute de façon brutale et se déroule selon 3 phases : la phase fébrile, la phase critique et la phase de récupération. Du fait de la nature dynamique de la maladie, sa gravité n'apparaît habituellement qu'autour de la défervescence, c'est-à-dire pendant la transition entre phase fébrile et phase afebrile, qui coïncide souvent avec l'entrée dans la phase critique. (3)

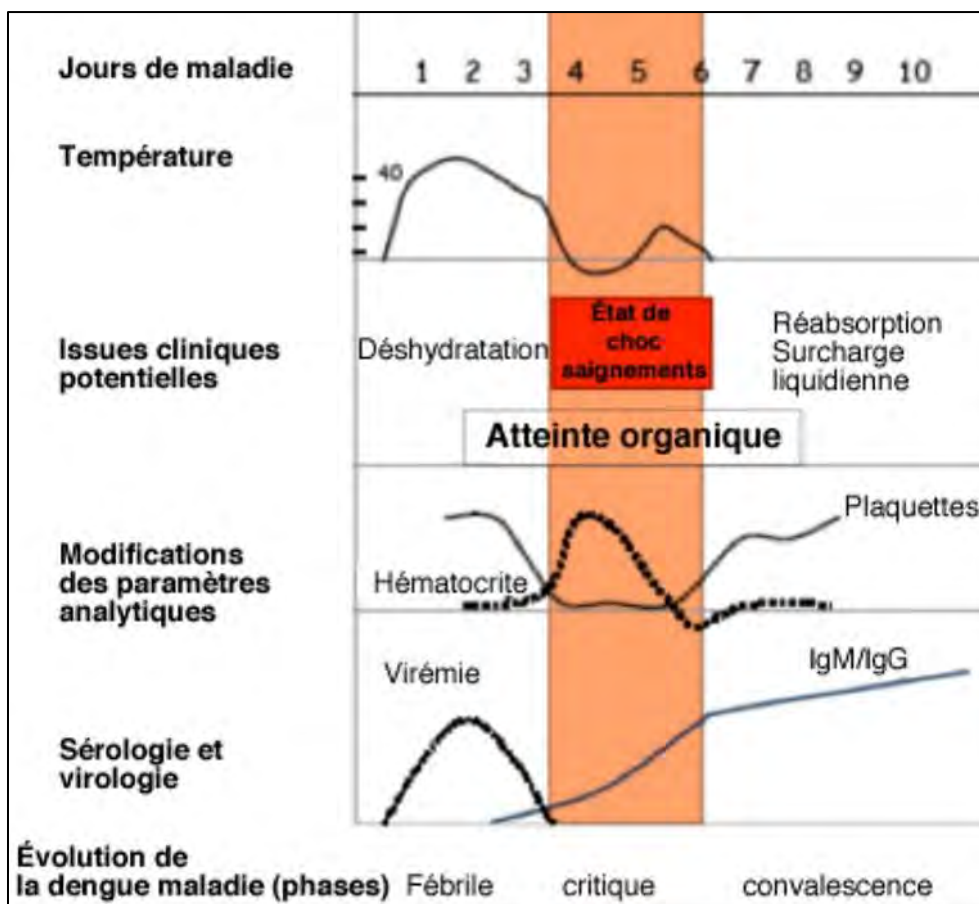


Figure 11. Evolution de la dengue maladie (3)

Lors de la phase fébrile, qui dure environ 2 à 7 jours, le patient développe une fièvre élevée très rapidement. Des flushs, des érythèmes, des douleurs dans tout le corps, des myalgies, des arthralgies et des céphalées accompagnent souvent cette fièvre. Certains patients peuvent avoir mal à la gorge, une conjonctivite. Une anorexie, des nausées et des vomissements sont communs. Cependant, il peut être difficile de distinguer la dengue d'une autre maladie donnant de la fièvre au début de la phase fébrile. De plus, à ce stade, il est impossible de caractériser un cas de dengue sévère. (3)

Des manifestations hémorragiques légères comme des pétéchies et des saignements des muqueuses (par exemple du nez et des gencives) peuvent être observées. Des saignements vaginaux massifs (chez les femmes en âge de procréer) et saignements gastro-intestinaux peuvent se produire au cours de cette phase, mais sont assez rares. Après quelques jours de fièvre, le foie peut avoir pris du volume et être sensible à la palpation. La première anomalie dans la numération-formule sanguine est une diminution progressive de la numération leucocytaire totale, ce qui devrait alerter le médecin d'une forte probabilité de dengue. Chez les jeunes enfants, la déshydratation et la fièvre élevée peuvent causer des troubles neurologiques et des convulsions fébriles (3).

La phase critique débute lorsque la température descend à 37,5-38°C ou moins et reste inférieure à cette valeur. C'est généralement entre le 3^{ème} et 7^{ème} jour de la maladie. En parallèle, une augmentation de la perméabilité capillaire avec l'augmentation des niveaux d'hématocrite peut se produire. Puis l'on peut observer une leucopénie progressive suivie par une diminution du taux de plaquette. Il s'ensuit une perte de plasma qui dure habituellement 24 à 48 heures et qui est cliniquement significative. (3)

A ce stade, les patients sans augmentation de la perméabilité capillaire voient leur état s'améliorer, tandis que ceux avec une augmentation de la perméabilité capillaire ont un risque d'empirer en raison du volume plasmatique perdu. Le degré de fuite plasmatique est variable. Des épanchements pleuraux ainsi que des ascites peuvent être cliniquement détectables d'où le recours possible à la radiographie pulmonaire ou à une échographie abdominale pour établir le diagnostic. Le niveau d'élévation de l'hématocrite reflète souvent la gravité de la fuite plasmatique (3).

Une fois la phase critique de 24 à 48 heures passée, le patient entre dans **la phase de récupération**. Une réabsorption progressive des liquides présents dans le milieu extravasculaire se produit dans les 48-72 heures suivantes. L'état général s'améliore, l'appétit revient, les symptômes gastro-intestinaux diminuent, l'état hémodynamique se stabilise et la diurèse suit. Une bradycardie et des modifications de l'électrocardiogramme sont fréquentes à ce stade. L'hématocrite se stabilise ou peut être plus faible que la normale en raison de l'effet de dilution des liquides réabsorbés. Généralement, le taux de leucocyte commence à augmenter rapidement alors que le retour à la normale du nombre de plaquette arrive plus tard. Au cours des phases critiques et/ou de récupération, l'administration trop importante de liquide par voie intraveineuse peut entraîner un risque de détresse respiratoire, d'œdème pulmonaire ou d'insuffisance cardiaque congestive (3).

1	Phase fébrile	Déshydratation : la forte fièvre peut être la cause de troubles neurologiques et de convulsions fébriles chez les jeunes enfants
2	Phase critique	Etat de choc résultant de la fuite plasmatique : hémorragie sévère, atteinte organique
3	Phase de convalescence	Hypervolémie (seulement si le remplissage vasculaire a été excessif et/ou trop prolongé) et œdème pulmonaire aigu

Tableau 1. Complications médicales observées au cours des phases fébrile, critique et de convalescence de la dengue.

3.2. Dengue sévère

Les formes de dengue sévère sont observables lors de premières infections par le virus de la dengue et lors d'infections secondaires. (31)

D'après la classification de l'OMS, la dengue sévère se définit par un ou plusieurs de ces critères :

- Perte de plasma allant jusqu'au choc et/ou accumulation liquidienne accompagnée d'une détresse respiratoire
- Hémorragie sévère
- Atteinte organique sévère.

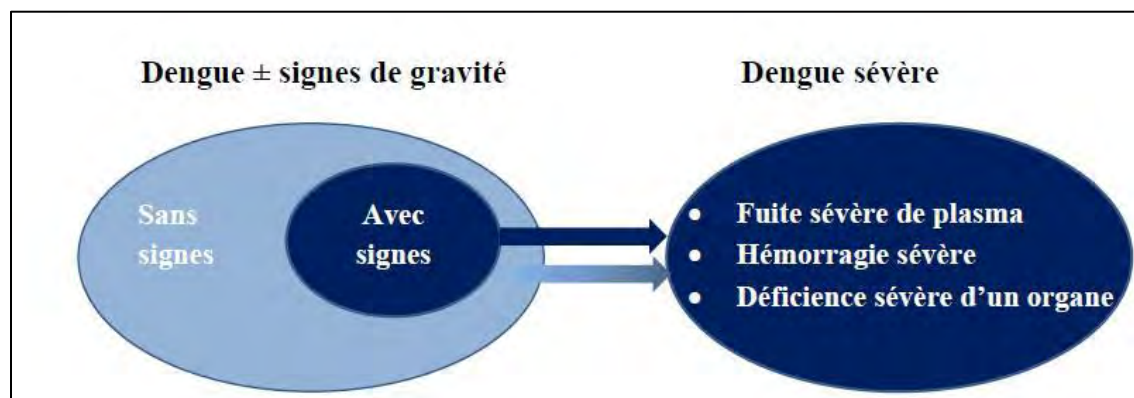


Figure 12. Schéma différenciant la dengue classique de la dengue sévère (3)

Les signes d'alerte ou de gravité précèdent habituellement les manifestations de l'état de choc et apparaissent vers la fin de la phase fébrile, généralement entre le 3^{ème} et le 7^{ème} jour de maladie. Par exemple, les vomissements persistants et les douleurs abdominales sévères sont des indicateurs précoces de la fuite plasmatique et vont en s'aggravant avec la progression vers l'état de choc. Dans le tableau ci-dessous sont détaillés les différents critères de diagnostic, signes de gravité et critères en faveur d'une dengue sévère.

CRITERES DE DIAGNOSTIC DE LA DENGUE ET SIGNES DE GRAVITE	CRITERES EN FAVEUR D'UNE DENGUE SEVERE
<p>Dengue probable :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Patient vivant/voyageant dans une région endémique - Fièvre et 2 des symptômes suivants : - Nausées, vomissement - Rash - Douleur - Test tourniquet positif* - Leucopénie - Tout signe d'alarme <p>*Un brassard de tensiomètre est appliqué et gonflé à un point situé entre les pressions artérielles systolique et diastolique pendant cinq minutes. Le test est positif s'il y a 10 ou plus pétéchies par pouce carré. En cas de dengue hémorragique, le test donne généralement un résultat définitif positif avec 20 pétéchies ou plus.</p>	<p>Fuite plasmatique sévère conduisant à :</p> <ul style="list-style-type: none"> - un choc - une accumulation de liquide avec détresse respiratoire
<p>Signes de gravité :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Douleurs abdominales - Vomissements persistants - Signe clinique d'accumulation de liquide - Saignement des muqueuses - Léthargie, instabilité psychomotrice - Hypertrophie du foie > 2cm - Biologique : augmentation de l'hématocrite associée à une rapide diminution des plaquettes 	<p>Hémorragie sévère évaluée par un clinicien</p> <p>Défaillance d'organe :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Foie : ASAT ou ALAT \geq 1000 - SNC : troubles de la conscience <p>Cardiomyopathie, insuffisance rénale, encéphalopathie...</p>

Tableau 2. Critères de diagnostic (3)

Le DSS est une forme de choc hypovolémique et résulte d'une perméabilité vasculaire et d'une fuite plasmatique continue. Cet état de choc apparaît habituellement autour de la défervescence, c'est-à-dire autour du 4^{ème} ou 5^{ème} jour de maladie (fourchette de 3 à 8 jours), en étant souvent précédé de signes d'alerte. À partir de ce stade, les malades qui ne bénéficient pas sans délai d'un remplissage vasculaire par voie intraveineuse évoluent rapidement vers l'état de choc. Le DSS se caractérise par un pouls rapide et faible avec une pression qui diminue (<20 mm Hg), une peau froide et humide et une agitation. Un enfant est considéré en état de choc lorsque la différence entre la pression systolique et diastolique est \leq 20mmHg ou s'il a des signes d'hypo-perfusion (extrémités froides, retard du remplissage capillaire, fréquence augmentée du pouls). Chez les adultes, la pression différentielle \leq

20mmHg peut indiquer un choc plus sévère. L'hypotension est généralement associée à un choc prolongé qui est souvent compliquée par des saignements majeurs.

Lors d'un choc prolongé, l'hypoperfusion des organes entraîne leur déficience progressive, une acidose métabolique et une coagulation intravasculaire disséminée. Cela conduit à une hémorragie sévère causant une chute de l'hématocrite, le patient se retrouvant en état de choc sévère. Au lieu de la leucopénie habituellement observée pendant la phase critique, le nombre total de globules blancs peut augmenter chez les patients présentant une hémorragie sévère. En outre, la déficience grave d'un organe comme une hépatite sévère, une encéphalite ou une myocardite et/ou des hémorragies graves peuvent également se développer sans fuite de plasma évidente ou de choc. Une hémorragie massive peut se produire sans choc prolongé dans les cas où de l'acide acétylsalicylique (aspirine), de l'ibuprofène ou des corticostéroïdes ont été pris. (3)

3.3. Diagnostic biologique

Les méthodes de diagnostic de laboratoire pour confirmer l'infection peuvent impliquer la détection du virus, de l'acide nucléique viral, des antigènes ou anticorps, ou une combinaison de ces techniques. Après l'apparition de la maladie, le virus peut être détecté dans le sérum, le plasma, des cellules sanguines circulantes et d'autres tissus pendant 4-5 jours. Au cours des premiers stades de la maladie, l'isolement du virus, de l'acide nucléique ou la détection des antigènes peut être utilisé pour diagnostiquer l'infection. A la fin de la phase aiguë, la sérologie est la méthode de choix pour le diagnostic. (3)

La réponse anticorps diffère en fonction de l'état immunitaire de l'hôte.

Chez les personnes qui n'ont pas déjà été infectées par un flavivirus ou immunisées avec un vaccin contre un flavivirus (virus de la fièvre jaune, japonaise, l'encéphalite, l'encéphalite à tiques), la réponse primaire des anticorps se caractérise par une augmentation lente des anticorps spécifiques. Les anticorps IgM sont les premiers isotypes d'immunoglobulines qui apparaissent. Ces anticorps peuvent être détectés chez 50% des patients entre le 4^{ème} et le 5^{ème} jour après l'apparition de la maladie. Le pourcentage de détection augmente avec le nombre de jours, allant jusqu'à 99% en 10 jours. Apparaissent ensuite les IgG à J7-J10 qui resteront détectables plusieurs mois voire toute la vie. (3)

Au cours d'une infection secondaire de la dengue, l'immunité acquise permet une réponse anticorps plus rapide. Les IgM apparaissent plus tôt que dans la réponse primaire mais en moindre quantité à tel point qu'avec certains tests ils sont indétectables. Les IgG sont déjà détectables et augmentent à partir du 4^{ème} jour.

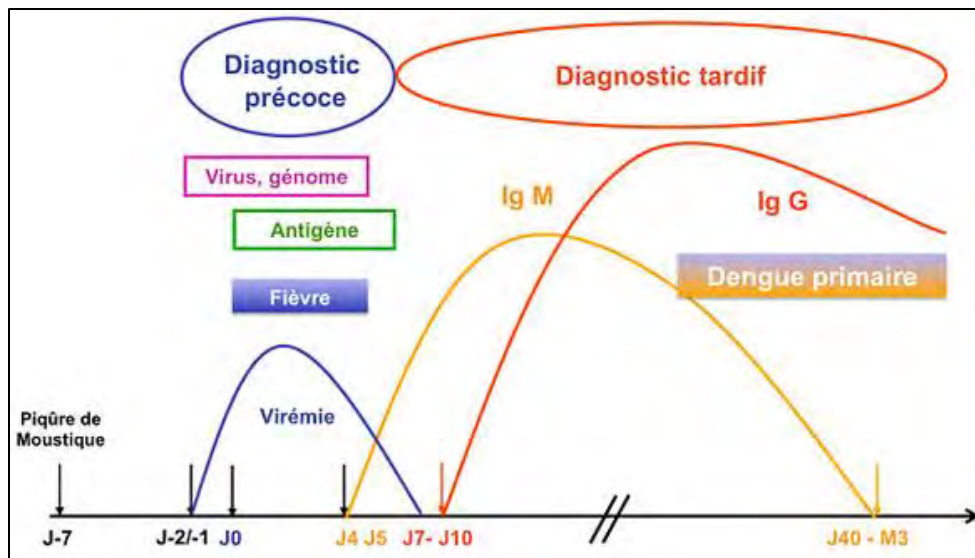


Figure 13. Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection primaire par le virus de la dengue. (4)

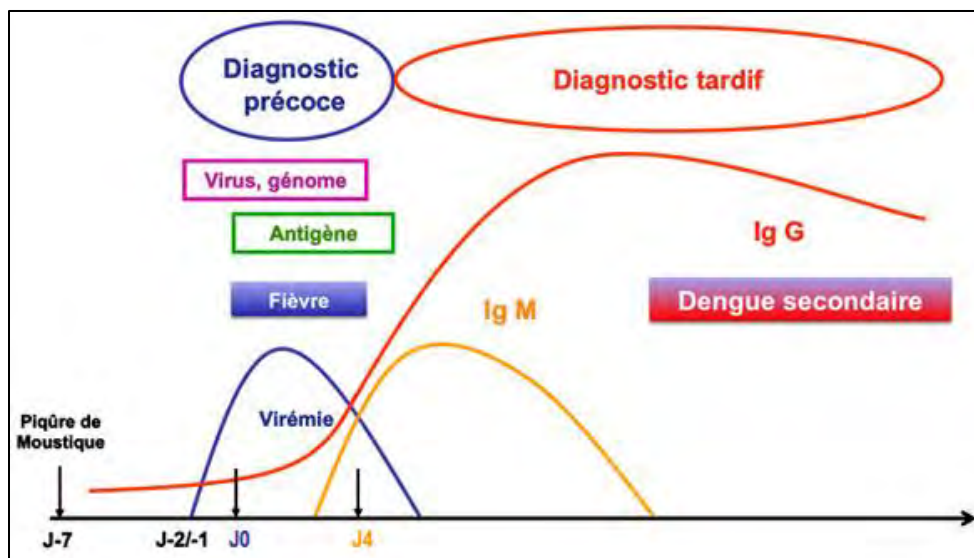


Figure 14. Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection secondaire par le virus de la dengue. (4)

Afin de différencier une infection primaire d'une infection secondaire, la méthode sérologique du titrage des anticorps IgM/IgG est plus utilisée que le test d'inhibition d'hémagglutination (IH). (3)

La méthode souvent utilisée pour titrer des anticorps est ELISA car elle est simple est peu couteuse. Voici les différentes étapes de ce test permettant de détecter la présence dans un sérum d'un anticorps spécifique :

- l'antigène spécifique de l'anticorps à doser est déposé dans un puits à fond plat en plastique ;

- l'antigène est dilué dans un tampon bicarbonate à pH 9,6 ce qui favorise les interactions électrostatiques entre l'antigène et le plastique de la plaque et permet la fixation stable de l'antigène au fond du puits ;
- des dilutions limites du sérum contenant l'anticorps à doser sont alors déposées dans les puits ;
- après un temps de contact suffisant, les puits sont lavés avec une solution saline de sorte que seuls les anticorps spécifiques restent fixés sur l'antigène et donc au plastique ;
- on dépose ensuite dans le puit un anticorps anti-immunoglobuline marquée avec une enzyme qui peut être la phosphatase alcaline ou la peroxydase ;
- après lavage, il ne reste plus qu'à révéler la présence des anticorps spécifiques en ajoutant le substrat de l'enzyme ayant servie à marquer les anticorps anti-immunoglobuline et à lire la réaction colorée.

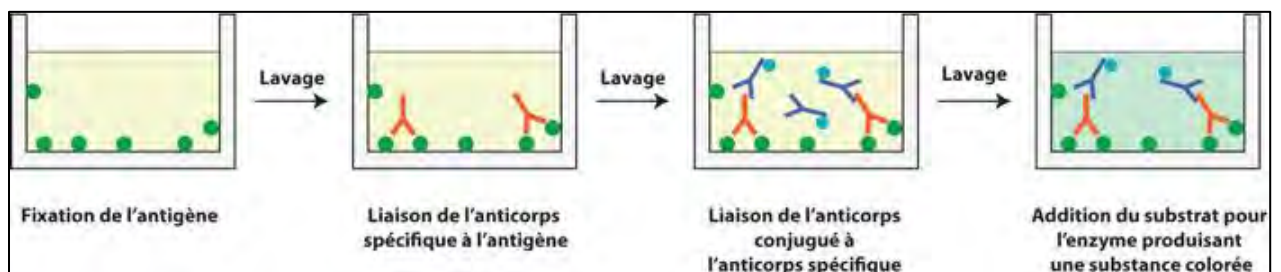


Figure 15. Schéma d'un ELISA indirect. (32)

Le test d'inhibition de l'hémagglutination repose sur la présence au niveau de l'enveloppe virale d'hémagglutinines (glycoprotéines antigéniques) qui en présence de globules rouges vont provoquer leur agglutination. Mais la présence d'anticorps spécifiques contre ces hémagglutinines va empêcher la combinaison des récepteurs des hématies avec les hémagglutinines du virus, on parle alors d'inhibition de l'hémagglutination.

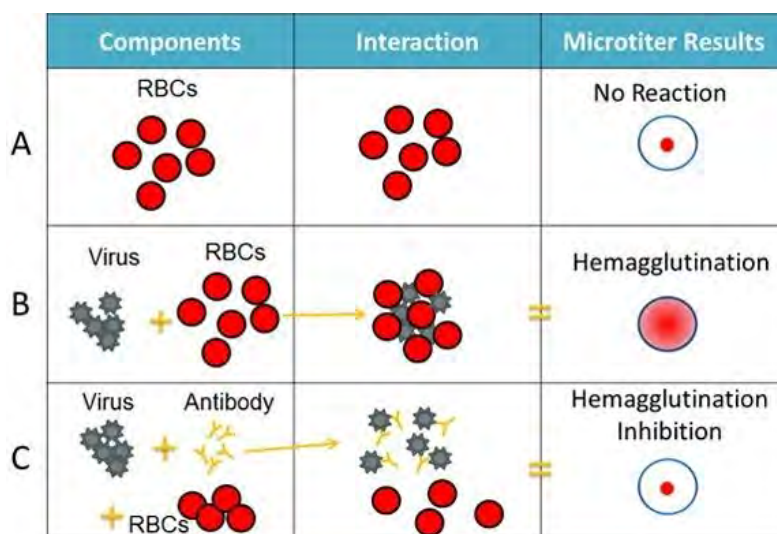


Figure 16. Schéma explicatif de la méthode par inhibition de l'hémagglutination. (33)

Indications	Tests diagnostiques	Avantages	Inconvénients
Diagnostic en phase aigue	Détection des acides nucléiques par RT-PCR	<ul style="list-style-type: none"> - Le plus sensible et spécifique - Identification du sérotype - Pré-résultat rapide 	<ul style="list-style-type: none"> - Potentiel faux positifs - Onéreux - Nécessite du personnel qualifié - Ne différencie pas une infection primaire, d'une secondaire
	Isolation du virus en culture cellulaire et identification par immunofluorescence	<ul style="list-style-type: none"> - Spécifique - Possible identification du sérotype (avec des Ac spécifiques) 	<ul style="list-style-type: none"> - Nécessite du personnel qualifié - Long : > 1 semaine - Ne différencie pas une infection primaire, d'une secondaire
	Détection d'Ag (NS1)	<ul style="list-style-type: none"> - Facile d'utilisation - Résultats rapides 	<ul style="list-style-type: none"> - Peu sensible
	<ul style="list-style-type: none"> - Tests sérologiques : IgM tests - Séroconversion : test d'IH ou titrage des IgG entre la phase aiguë et la phase de convalescence par ELISA 	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisable pour confirmer la phase aigue - Le moins cher - Facile d'utilisation - Différencie une infection primaire, d'une secondaire 	<ul style="list-style-type: none"> - Faux négatifs car taux d'IgM faible voire indétectable lors d'une infection secondaire - Besoin de 2 échantillons - Délai du résultat
Identification lors de surveillance et de flambée ; Surveiller l'efficacité des interventions	Détection d'IgM Isolation du virus et détection de l'ARN	<ul style="list-style-type: none"> - Identifie les cas probables - Facile d'utilisation - Confirmation de cas - Identification du sérotype 	<ul style="list-style-type: none"> - Faux négatifs car taux d'IgM faible voire indétectable lors d'une infection secondaire - Réalisable seulement dans un laboratoire de référence - Nécessite des échantillons de la phase aigue

Tableau 3. Avantages et inconvénients des méthodes biologiques de diagnostic. (3)

Finalement, de nombreuses méthodes de diagnostic biologique existent, le choix va reposer sur la situation épidémiologique de la région (retour de zone endémique ou risque d'émergence) et/ou du contexte clinique (cas suspect de forme sévère). De plus, suivant le rôle et le degré de spécialisation du laboratoire, les méthodes de culture virale, détection du génome viral par RT-PCR, détection de l'Ag NS1 ou la recherche des Ac spécifiques anti-DENV peuvent être utilisées. Les tests sérologiques ne sont utiles au diagnostic qu'en phase tardive de l'infection. L'isolement viral par culture cellulaire est trop long et trop laborieux pour un diagnostic d'urgence et les techniques de mise en évidence de l'Ag NS1 ne répondent pas encore à l'ensemble des exigences nécessaires, notamment en termes de sensibilité. Les techniques de biologie moléculaire (RT-PCR et extraction des ARNs) semblent donc être l'outil de choix pour le diagnostic de la dengue pendant la phase aiguë. (34)

3.4. Prise en charge

Les points importants du début de la prise en charge sont : (3)

- reconnaître qu'un patient fébrile pourrait avoir la dengue
- notifier rapidement aux autorités de la santé publique que le patient est un cas suspect de dengue
- prendre en charge les patients dans la phase fébrile précoce de la dengue
- reconnaître le stade précoce de la fuite plasmatique ou la phase critique et initier le traitement de réhydratation
- reconnaître les patients présentant des signes d'alerte qui nécessitent d'être admis dans une structure médicale
- reconnaître et gérer rapidement et correctement, les fuites sévères de plasma, un choc, une hémorragie sévère et la déficience grave d'un organe.

La clé repose sur une **reconnaissance précoce** et pour cela il faut effectuer un diagnostic différentiel avec d'autres maladies qui peuvent donner le même tableau clinique. A la phase fébrile, il peut s'agir du paludisme non compliqué, d'une primo-infection VIH, d'une virose aiguë exanthématique (rougeole, rubéole, mononucléose infectieuse), d'une autre arbovirose (Chikungunya,...) ou de la grippe. A la phase critique, les médecins peuvent confondre avec un paludisme grave, une gastro-entérite aiguë, la leptospirose, la salmonellose, la rickettsiose, une méningo-encéphalite (dont infections invasives à méningocoque), un sepsis bactérien, un abdomen aigu (appendicite, cholécystite, perforation...), une maladie de Kawasaki. (3)

Il n'existe pas de traitement antiviral spécifique contre la dengue. La prise en charge repose sur un traitement de soutien, consistant principalement à assurer un remplacement volumique intravasculaire adéquat.

L'OMS a développé les recommandations suivantes de **prise en charge individuelle** :

1. Evaluation globale :
 - a. historique du patient (antécédents médicaux, historique familial)
 - b. examen clinique (physique et mental)
 - c. analyses biologiques
2. Diagnostic, évaluation de la phase de la maladie et de la sévérité
3. Management
 - a. Notification de la maladie (dans les pays endémiques sans attendre la confirmation du laboratoire, alors que pour les pays non endémiques seulement après confirmation)
 - b. Décision en fonction des manifestations cliniques et des autres données, de :
 - renvoyer le patient chez lui (groupe A)
 - l'orienter vers une prise en charge à l'hôpital (groupe B)
 - lui administrer des soins d'urgence (groupe C)

Le screening des patients rapidement après leur arrivée dans un centre médical est nécessaire car leur prise en charge est fonction du niveau de gravité. Comme expliqué ci-dessus, les patients sont divisés en 3 groupes (A, B, C).

Les patients du groupe A : ceux sont les patients qui sont en mesure de tolérer des volumes adéquats de liquides oraux, d'uriner au moins une fois toutes les six heures, et qui n'ont pas de signe d'alerte, en particulier lorsque la fièvre cesse. Ces patients ambulatoires doivent être examinés quotidiennement pour apprécier la progression de la maladie (diminution des leucocytes, signes de gravité) jusqu'à ce qu'ils soient hors de la période critique.

Ceux qui ont un hémocrite stable peuvent être renvoyés chez eux après avoir été avisés de retourner immédiatement à l'hôpital s'ils développent l'un des signes de gravité et d'adhérer aux recommandations suivantes : boire des solutés de réhydratation, des jus de fruits pour contrer la perte de liquide due à la fièvre et aux vomissements, prendre du paracétamol en cas de fièvre mal tolérée (laisser un intervalle minimum de 6 heures entre chaque prise), ne pas utiliser d'anti-inflammatoire (comme l'aspirine ou l'ibuprofène) qui vont aggraver une gastrite ou un saignement.

Les patients du groupe B : ceux sont les patients qui présentent des signes de gravité, les populations à risque comme la femme-enceinte, les enfants, les personnes âgées, les patients obèses, les diabétiques de type 1, les insuffisants rénaux, les patients atteints de maladies hémolytiques chroniques mais aussi les patients isolés socialement. Ils sont orientés vers un centre de soins de santé secondaire pour être gardé en observation, en particulier à l'approche de la phase critique.

Les patients présentant des signes de gravité vont être réhydratés par l'administration de solutés isotoniques, par exemple du NaCl 0.9% ou du lactate de Ringer¹, en général pendant 24 à 48 heures afin de normaliser l'hématocrite. Les paramètres à suivre chez ces patients sont : les signes vitaux, la diurèse, l'hématocrite, la glycémie et les fonctions organiques.

Les patients sans signes de gravité sont encouragés à boire. S'ils ne se réhydratent pas convenablement par voie orale, une réhydratation par voie intraveineuse sera mise en place pendant quelques heures. Plusieurs paramètres vont être surveillés par l'équipe médicale : la température, le volume de consommation de liquide et les pertes, la production d'urine (volume et fréquence), les signes de gravité, l'hématocrite, le taux de globules blancs et de plaquettes. D'autres tests de laboratoire (comme les tests de fonctions hépatique et rénale) peuvent être faits, selon le tableau clinique et les installations du centre médical.

Les patients du groupe C : ceux sont soit les patients qui ont une sévère fuite plasmatique entraînant un choc et/ou une accumulation de liquide avec détresse respiratoire soit ceux avec une hémorragie importante soit ceux avec une défaillance d'organe. Ces patients atteints de dengue sévère sont envoyés dans un hôpital pouvant fournir des soins intensifs et des transfusions de sang.

Le traitement du choc repose sur le remplissage vasculaire consistant à administrer un grand volume de solutés cristalloïdes ou colloïdes (macromolécules) sur une période limitée sous étroite surveillance pour évaluer la réponse du patient et éviter le développement d'un œdème pulmonaire. Des algorithmes très précis de prise en charge en fonction du type de choc ont été établis par l'OMS : l'un pour choc compensé (la pression systolique est maintenue mais présence de signes d'hypoperfusion), et l'autre pour choc avec hypotension. Ils sont accessibles dans la section 2.3.2.3 du guide de l'OMS de 2009 *Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control*.

Concernant la prise en charge des hémorragies importantes, la transfusion sanguine doit être administrée dès qu'une hémorragie sévère est suspectée ou reconnue. Cependant, elle doit être donnée avec précaution en raison du risque de surcharge liquidienne. Il ne faut pas attendre que l'hématocrite soit descendu trop bas pour initier la transfusion sanguine. Les médicaments anti-inflammatoires et anticoagulants comme l'aspirine doivent être évités car ils majorent le risque hémorragique.

¹ Solution pour perfusion d'osmolarité approximative : 278 mOsm/l et de pH compris entre : 5,0 et 7,0, contenant des ions Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻

PARTIE 2 : LES MOYENS DE LUTTE NON IMMUNOLOGIQUES

Avant l'arrivée du vaccin, la prévention et la réduction de la transmission du virus chez l'homme dépendaient entièrement du contrôle des vecteurs et de la limitation du contact entre l'homme et les moustiques vecteurs.

1. Prévention individuelle contre les piqûres

La prévention individuelle contre les piqûres des moustiques passe par la limitation des zones de peau accessibles au moustique et par l'utilisation de répulsifs.

Le port de vêtements épais, larges et couvrants est encouragé pendant la journée où les moustiques sont les plus actifs. La protection vestimentaire est notamment recommandée en cas d'épidémie. De plus, il existe des moustiquaires traitées à l'insecticide qui offrent une bonne protection pour ceux qui dorment pendant la journée (par exemple les nourrissons, les travailleurs alités et les postes de nuit).(3)

Les répulsifs peuvent être appliqués sur la peau exposée ou sur les vêtements. Pour être efficace, ils doivent contenir du **DEET** (N, N-diéthyl-3-méthylbenzamide), de l'**IR3535** (3-[Nacetyl-N-butyl]-ester éthylique d'aminopropionique) ou de l'**Icaridine** (acide 1-pipéridinecarboxylique, 2- (2-hydroxyéthyl) -1-méthylpropylester). L'utilisation de répulsifs doit être en stricte conformité avec les instructions de l'étiquette. (3)

Le DEET a fait l'objet d'une évaluation au niveau européen et cette substance a été autorisée au 1^{er} août 2012, avec une restriction d'usage émise chez l'enfant de moins de 2 ans. Cependant, en cas de risque élevé de transmission d'une maladie vectorielle, il est utilisable sur une période courte en respectant scrupuleusement le nombre d'applications maximum admis et les conditions pratiques d'usage chez l'enfant. La substance IR3535 a été autorisée au plan européen au 1^{er} novembre 2015 et les produits qui en contiennent doivent désormais demander une AMM. Les substances picaridine et PMDRBO sont en cours d'évaluation au niveau européen. Se référer à l'annexe 1, 2 et 3 pour le détail des produits commercialisés en France. (35)

Lors de l'application du répulsif, il faut éviter les yeux, les lèvres et les lésions cutanées. C'est pourquoi, il est déconseillé d'appliquer directement le répulsif sur le visage, on recommandera d'en mettre d'abord sur les mains afin de l'étaler ensuite sur le visage. Les répulsifs s'éliminent à l'eau et au savon.

Il est fortement recommandé par le Haut Conseil de la Santé Publique français de ne pas utiliser pour se protéger des moustiques :

- de bracelets anti-insectes ;
- d'huiles essentielles dont la durée d'efficacité, généralement inférieure à 20 minutes, est insuffisante ;

- d'appareils sonores à ultrasons, de la vitamine B1, de l'homéopathie, de raquettes électriques, de rubans, papiers et autocollants gluants sans insecticide.

Le rôle du pharmacien d'officine est d'informer les patients qui vont dans une zone à risque de maladie que ces méthodes ne sont pas reconnues pour être efficace.

2. Lutte antivectorielle

Ae. aegypti utilise un large éventail d'habitats larvaires confinés, à la fois artificiel et naturel. Cependant, il n'est pas possible ni rentable de contrôler les stades immatures dans tous ces habitats. Certains habitats sont plus productifs et sont donc les cibles à privilégier. Cette stratégie ciblée exige une compréhension approfondie de l'écologie du vecteur local et les attitudes et les habitudes des résidents concernant les conteneurs. (3)

2.1. La gestion environnementale

Elle vise à modifier l'environnement afin de prévenir ou de minimiser la propagation du vecteur et le contact humain avec le vecteur en détruisant, modifiant, supprimant les contenants non essentiels qui fournissent des habitats larvaires. Ces actions doivent être le pilier de la lutte contre les vecteurs de la dengue. Trois types de gestion de l'environnement sont définis :

- **les modifications de longue durée**, c'est-à-dire des transformations physiques pour réduire les habitats larvaires de vecteurs, tels que l'installation d'un système fiable dans le réseau d'approvisionnement de l'eau pour les communautés, y compris au niveau des connexions des ménages.
- **les manipulations environnementales**, c'est-à-dire des modifications temporaires telles que la vidange et le nettoyage fréquent des citernes d'eau, des vases de fleurs, des climatisations, des gouttières ; le stockage des pneus à l'abri des précipitations ; le recyclage ou l'élimination des contenants et des pneus jetés, la gestion ou le retrait de la proximité de foyers de plantes telles que les broméliacées ornementales ou sauvages qui recueillent l'eau dans le creux des feuilles.
- **les changements au niveau des habitations ou du comportement humain**, c'est-à-dire des mesures visant à réduire le contact humain-vecteur, telles que l'installation d'une moustiquaire sur les fenêtres, les portes et les autres points d'entrée, et l'utilisation de moustiquaires pendant le sommeil en journée.

Le choix de l'approche doit être efficace, pratique et adaptée aux conditions locales.

2.2. Le contrôle chimique : les larvicides et adulticides

Alors que leur utilisation ne devrait être réservée qu'à des récipients qui ne peuvent pas être gérés autrement, les produits chimiques sont largement utilisés pour traiter les habitats des larves d'*Ae. Aegypti*. (3)

Les larvicides peuvent être difficiles à appliquer dans certains sites naturels tels qu'au niveau des ramifications des feuilles ou dans les trous d'arbres, qui sont des habitats communs d'*Ae. albopictus*, et dans des puits profonds. De plus, la difficulté d'accès aux habitats larvaires intérieurs (par exemple les contenants pour le stockage d'eau, les vases de plantes, les soucoupes) pour appliquer les larvicides est une limitation majeure dans de nombreux contextes urbains. *Ae. Aegypti* déposant souvent ses œufs dans des conteneurs d'eau, les

qualités d'un bon larvicide sont une faible toxicité pour les autres espèces, une absence de modification de l'odeur, de la couleur et du goût de l'eau. (3)

Afin de déterminer l'innocuité des larvicides dans l'eau potable à des doses efficaces contre les larves d'*Aedes*, le Programme international sur la sécurité chimique (PISC) a évalué la toxicité des actifs suivants : le méthoprène, le pyriproxifène, le téméphos et le biopesticide *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti). Toutefois, la sécurité des actifs dans la formulation finale varie d'un produit à l'autre et nécessite une étude plus approfondie, comme la contamination microbiologique possible dans les formulations de Bti. Les recommandations de l'OMS pour la qualité de l'eau potable fournissent des indications faisant autorité sur l'utilisation des pesticides dans l'eau potable. Naturellement, placer ces produits chimiques dans l'eau domestique, en particulier l'eau potable, est souvent mal considéré et peut être inacceptable dans certaines communautés. Les instructions d'étiquetage doivent toujours être respectées lors de l'utilisation d'insecticides notamment lors du traitement de l'eau potable afin d'éviter des doses qui sont toxiques pour les humains. (3)

Insecticide	Formulation	Dosage	Classification de l'OMS de la dangerosité des actifs
ORGANOPHOSPHORES			
- Pirimiphos-methyl	EC	1	3
- téméphos	EC, GR	1	U
REGULATEURS DE CROISSANCE DES INSECTES			
- diflubenzuron	DT, GR, WP	0.02-0.25	U
- rs-méthoprène	EC	1	U
- novaluron	EC	0.01-0.05	NA
- pyriproxifén	GR	0.01	U
BIOPESTICIDES			
- <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	WG	1-5 mg/l	U
- spinosad	DT, GR, SC	0.1-0.5	U

Tableau 4. Recommandations sur les composés et les formulations pour le contrôle des larves de moustiques dans les habitats-conteneurs, par l'OMS

Légende du Tableau 4 :

- EC : concentré émulsionnable
- DT : comprimés pour application directe
- GR : granule
- WG : granules dispersibles dans l'eau
- WP : poudre mouillable
- SC : concentré de suspension
- Classification du niveau de dangerosité :
 - 2 : risque modéré
 - 3 : risque faible
 - U : peu susceptible de présenter un risque aigu en utilisation normale

Les méthodes de lutte chimique qui ciblent les vecteurs adultes sont destinées à avoir un impact sur la densité des moustiques, la longévité et d'autres paramètres de transmission. Les adulticides sont utilisés soit pour traiter des surfaces résiduelles soit pour traiter de grands espaces. (3)

Le traitement de grands espaces est recommandé pour le contrôle de situations d'urgences afin d'endiguer une épidémie ou d'en prévenir l'arrivée. L'objectif est de détruire massivement et rapidement la population adulte de vecteurs. Néanmoins, il reste difficile de savoir si l'impact transitoire des traitements spatiaux est épidémiologiquement significatif sur le long terme. La pulvérisation spatiale devrait se concentrer sur les zones où les gens se rassemblent (par exemple un logement à haute densité, écoles, hôpitaux) et où des cas de dengue ont été signalés ou là où les vecteurs sont abondants. La pratique du traitement sélectif des espaces jusqu'à 400 mètres des maisons dans lesquelles des cas de dengue ont été signalés est courante. Cependant, entre le moment où un cas est détecté et l'organisation d'une réponse, l'infection est susceptible de s'être propagée à une zone plus large. Une planification minutieuse est nécessaire pour veiller à ce que des ressources suffisantes (équipement, insecticides, ressources humaines et financières) peuvent être déployées en temps opportun pour assurer une couverture adéquate. C'est seulement si les ressources le permettent qu'un traitement de grande superficie doit être envisagé. (3)

La surveillance des résistances au long cours est nécessaire pour s'assurer que des insecticides efficaces soient utilisés et que les modifications de recommandations d'utilisation des insecticides soient basées sur des données scientifiques récentes.

2.3. Le contrôle biologique

La lutte biologique est basée sur l'introduction d'organismes qui vont agir d'une façon ou d'une autre pour réduire les populations de l'espèce cible. Cela peut être en se nourrissant de l'espèce cible, en la parasitant, en rivalisant avec...

Contre l'*Aedes* seules certaines espèces de poissons larvivores et des prédateurs copépodes (*Copepoda: Cyclopoidea*), petits crustacés d'eau douce, se sont avérées efficaces dans des contextes opérationnels et dans les habitats de conteneurs spécifiques, mais rarement à grande échelle. De plus, ils agissent uniquement contre les stades immatures des moustiques. (3)

La lutte biologique évite la contamination chimique de l'environnement, elle devrait donc être utilisée en priorité. Malheureusement, cette technique peut avoir des limites opérationnelles telles que son coût, l'élevage des organismes sur une grande échelle, la difficulté à les utiliser. Les organismes de lutte biologique ne sont pas résistants à la dessiccation, de sorte que leur utilité se limite principalement aux habitats de conteneurs qui sont rarement vidés ou nettoyés. La volonté des communautés locales à accepter l'introduction d'organismes dans des conteneurs d'eau est essentielle ; la participation de la communauté est souhaitable dans la distribution du poisson ou des copépodes, et le suivi et le repeuplement des conteneurs lorsque cela est nécessaire. (3)

Diverses espèces de copépodes prédateurs se sont révélées efficaces contre les vecteurs de la dengue dans des contextes opérationnels. Bien que les populations de copépodes puissent survivre pendant de longues périodes, les réintroductions peuvent être nécessaires pour un contrôle à long terme. Un programme de contrôle de vecteur dans le nord du Viêt Nam a utilisé des copépodes dans de grands réservoirs de stockage d'eau. Combiné à la réduction des déchets, ce programme a réussi à éliminer *Ae. aegypti* dans de nombreuses communes et a empêché la transmission de la dengue durant un certain nombre d'années. À ce jour, ces succès n'ont pas été reproduits dans d'autres pays. (3)

Une nouvelle approche est à l'essai. Il s'agit de l'utilisation de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia* de *Drosophila* adaptée à *Aedes aegypti*. En effet, cette bactérie possède à la fois des effets de diminution de la durée de vie du moustique et des effets de blocage de la transmission directe du virus de la dengue. (36)

3. Surveillance biologique, clinique, entomologique

3.1. Description des surveillances

La surveillance biologique repose sur le typage des virus de la dengue.

La surveillance clinique utilise des réseaux de médecins chargés d'alerter les autorités de santé publique en cas de recrudescence de cas.

La surveillance entomologique consiste à suivre l'évolution spatio-temporelle en terme de densité vectorielle afin notamment d'être en mesure de donner l'alerte épidémique. Elle est également essentielle à la détection de nouvelles infestations avant qu'elles ne deviennent répandues et difficiles à éliminer. Elle peut aussi servir à évaluer l'impact des actions de lutte antivectorielle menées par la collectivité et à récolter du matériel biologique destiné d'une part à la poursuite de recherches sur le mode de propagation de la maladie et d'autre part à la réalisation de tests de sensibilité aux insecticides. (3)

Plusieurs méthodes de surveillance entomologique existent. Pour des raisons pratiques et de reproductibilité, les méthodes d'enquête les plus courantes utilisent des échantillons des stades immatures du vecteur (larves et pupes) récupérés dans les maisons ou dans des containers. Des indices ont été créés afin de contrôler le niveau d'infestation par *Ae. Aegypti* comme l'indice maison (IM) qui est un bon indicateur du comportement de la population vis-à-vis du vecteur. (3)

$$IM = \frac{\text{nombre de maisons avec au moins 1 gîte positif } Aedes aegypti \times 100}{\text{nombre de maisons visitées}}$$

3.2. Au niveau mondial

Les activités entreprises par l'OMS en ce qui concerne la dengue sont plus récemment guidées au niveau de la politique mondiale par la résolution WHA55.17 de l'Assemblée mondiale de la Santé (adoptée par la Cinquante-Cinquième Assemblée mondiale de la Santé en 2002) et au niveau régional par la résolution CE140.R17 du Pan American Conférence sanitaire (2007), la résolution WPR / RC59.R6 du Comité régional de l'OMS pour le Pacifique occidental (2008) et la résolution SEA / RC61 / R5 du Comité régional de l'OMS pour l'Asie du Sud-Est (2008). (3)

L'Assemblée mondiale de la Santé est l'organe décisionnel suprême de l'OMS. Elle se réunit généralement à Genève (Suisse) en mai chaque année, des délégations de ses États Membres y assistent. (3)

En 2012, l'OMS a publié un nouveau plan stratégique mondial de prévention et de contrôle pour la Dengue dont les objectifs principaux sont notamment : (21)

- de réduire le taux de mortalité d'au moins 50% d'ici 2020,
- de réduire le taux de morbidité d'au moins 25% d'ici 2020.

Ces recommandations se basent sur les chiffres de mortalité et morbidité de 2010.

Le Plan stratégique contre la Dengue en **Asie-Pacifique** pour 2008-2015 a été préparé en consultation avec les pays membres et partenaires de développement en réponse à la menace croissante de la dengue, qui se propage à de nouvelles zones géographiques et provoquant une forte mortalité au cours de la première phase des épidémies. Le plan stratégique vise à aider les pays à inverser la tendance à la hausse de la dengue en améliorant leurs méthodes pour détecter, caractériser et maîtriser rapidement les épidémies et pour arrêter la propagation à de nouvelles zones. Il est composé de six éléments: la surveillance de la dengue, la gestion des cas, la réponse en cas d'épidémie, la gestion intégrée des vecteurs, la mobilisation sociale, la communication sur la dengue et la recherche formative et opérationnelle. (3)

La PAHO, **Organisation Panaméricaine de la santé**, possède un programme régional pour la dengue. Il focalise les politiques publiques en vue d'une intégration multisectorielle et interdisciplinaire. Cela permet l'élaboration, la mise en œuvre, le suivi et l'évaluation des programmes nationaux grâce à la Stratégie de Gestion Intégrée pour la Prévention et le Contrôle de la Dengue (ou EGI-dengue, de son sigle en espagnol). Ce programme repose sur six éléments clés : la communication sociale (en utilisant la communication pour agir sur les comportements), l'entomologie, l'épidémiologie, le diagnostic en laboratoire, la gestion des cas et l'environnement. Cette stratégie a été approuvée par les résolutions de la PAHO. Seize pays et trois sous-régions (l'Amérique centrale, le Marché commun du Sud ou Mercosur¹ et les pays andins) ont convenu d'utiliser EGI-dengue comme une stratégie et sont dans le processus de mise en œuvre. (3)

3.3. En France métropolitaine et dans les territoires d'outre-mer

En métropole, c'est le Plan d'anti-dissémination du chikungunya et de la dengue qui détermine les objectifs et les outils de la surveillance. Ce plan, élaboré par le ministère chargé de la Santé et actualisé chaque année, prévoit de renforcer la surveillance entomologique et épidémiologique notamment dans la zone d'implantation d'*Aedes albopictus*. Le but est de prévenir et d'évaluer les risques de dissémination de ces deux virus (cf N°DGS/RII/2015/125 du 16 avril 2015 et N°DGS/RII/2016/103 du 1er avril 2016). (26)

¹ Le Mercosur est composé de l'Argentine, du Brésil, du Paraguay, de l'Uruguay, du Venezuela. On trouve également des pays associés tels que le Chili, la Colombie, le Pérou ou l'Équateur.

Cette surveillance de la dengue et du chikungunya repose sur 3 éléments (26) :

- **la déclaration obligatoire** de tous les cas confirmés de dengue et de chikungunya avec signalement immédiat à la plateforme régionale de veille et d'urgences sanitaires placée au sein de l'ARS. Un cas de dengue est confirmé s'il présente une fièvre supérieure à 38,5 °C d'apparition brutale, au moins un signe algique (céphalées, arthralgies, myalgies, lombalgies, douleur rétro-orbitaire) et une confirmation biologique ;
- **un réseau de laboratoires volontaires** réalisant les diagnostics du chikungunya et de la dengue. Ces laboratoires fournissent leurs résultats à l'InVS ;
- **un dispositif régional de surveillance renforcée**, mis en œuvre dans les départements de niveau 1 où l'Aedes est implanté et actif, à la période d'activité du moustique (du 1^{er} mai au 30 novembre de chaque année). Les médecins cliniciens et les laboratoires doivent signaler immédiatement les cas suspects de dengue et de chikungunya, chez des personnes de retour depuis moins de 15 jours d'un séjour en zone de circulation de ces virus, à la plateforme régionale de veille et d'urgences sanitaires de l'ARS. Ce signalement, couplé à la confirmation accélérée du diagnostic par les laboratoires, déclenche des mesures adaptées de lutte anti-vectorielle autour des cas suspects importés.

La détection d'un cas autochtone confirmé se traduit par l'alerte immédiate de l'ARS et la mise en place d'actions entomologiques renforcées. L'InVS et la Direction Générale de la Santé sont informés très rapidement. Une investigation épidémiologique approfondie est réalisée, accompagnée d'une communication aux professionnels de santé, au public, aux voyageurs et aux collectivités territoriales concernées. Des mesures de contrôle et de prévention complémentaires sont alors effectuées par les entomologistes. (26)

Les départements d'Outre-mer possèdent un dispositif de surveillance du virus de la dengue et du virus du chikungunya spécifique à leur contexte épidémiologique. Cette surveillance est assurée par les Agences régionales de santé et les Cellules interrégionales d'épidémiologie (Cire, antennes régionales de l'InVS). (26)

Finalement, comme le prouve les derniers chiffres exposés en première partie, les efforts visant à réduire la transmission par la lutte anti-vectorielle ont échoué. Le recours à une méthode de lutte médicamenteuse, comme l'utilisation d'un vaccin, aux résultats cliniques efficaces est nécessaire pour permettre d'enrayer le développement de la maladie au niveau mondial. Depuis déjà plusieurs années la recherche a travaillé sur la possible vaccination contre la dengue et voilà qu'enfin un vaccin a été commercialisé. Avant de présenter en détail ce vaccin, il est important de lever le voile sur la complexité de la réponse immunitaire lors de l'infection par le DENV et les facteurs en cause dans le déclenchement des formes sévères.

PARTIE 3 : FACTEURS IMPLIQUES DANS LA PATHOGENESE

La pathogénèse est le mécanisme de déclenchement et d'évolution d'un processus pathologique. La conception de stratégies immunologiques de lutte contre la dengue, tel que la formulation d'un vaccin, nécessite de bien comprendre cette pathogénèse. Nous allons donc explorer dans cette partie les mécanismes immunitaires mis en jeu lors de l'infection par le virus de la dengue et l'ensemble des facteurs responsables du développement des formes symptomatiques de la maladie et notamment des formes sévères.

1. Tropisme du virus de la dengue

Le DENV infecte principalement les cellules de la lignée myéloïde : les macrophages, les monocytes et les cellules dendritiques. Hormis, ces cellules du système immunitaire, il a été observé des signes d'infection des hépatocytes, des cellules endothéliales, des poumons et de la rate. La dispersion dans les organes périphériques, ainsi que les infections occasionnellement signalées du système nerveux central, relèvent probablement d'un mécanisme de propagation hématogène. (12,22)

Le foie est couramment impliqué dans les infections au DENV chez les humains et les modèles de souris, certains rapports suggérant une association entre les niveaux élevés d'enzymes hépatiques et les tendances spontanées de saignement. Des cas d'hépatite associée à la dengue ont été décrits. Bien que le DENV ait été trouvé dans une proportion significative d'hépatocytes humains et de cellules de Kupffer (macrophages du foie), seule une petite inflammation a été observée dans le foie. Elle pourrait être expliquée par une prévalence plus élevée de l'apoptose sur la nécrose. (37)

Des études *in vitro* ont montré que tous les sérotypes du DENV peuvent se reproduire activement dans les cellules endothéliales (CEs), l'infection induisant des dommages fonctionnels plutôt que morphologiques. Le tropisme de DENV pour les CEs *in vivo* reste controversé mais il existe des preuves de la présence d'antigène du DENV dans l'endothélium vasculaire pulmonaire. Cependant, la simple présence d'ARN ou d'antigène viral dans les CEs ne constitue pas une preuve de la réplication virale. Contrairement aux cellules mononucléaires, la CE ne porte pas de récepteurs Fc. Par conséquent, la présence d'ARN viral dans ces cellules serait plus susceptible d'être expliquée par un mécanisme de pinocytose.(37) L'infection directe des cellules endothéliales par le DENV n'est pas considérée *in vivo* comme un facteur majeur contribuant à la fuite de plasma observée lors des formes sévères. La fuite plasmatique résulterait plutôt de l'action des médiateurs circulants sur les CEs. (38)

Même si les autopsies de quelques patients décédés de la dengue sont représentatives pour refléter le tropisme viral dans la phase aiguë de l'infection, le tropisme du DENV n'est toujours pas parfaitement connu. En effet, le virus ne peut être isolé qu'à partir de cellules mononucléaires du foie et du sang périphérique, ce qui est déjà un obstacle de recherche. L'incapacité d'isoler le virus de la plupart des échantillons d'organes peut indiquer que ces

tissus contiennent principalement un virus dégradé ou un virus complexé avec des anticorps empêchant l'infection des cellules in vitro. (37)

2. Facteurs immunologiques en lien avec la pathogenèse

Après avoir vu qu'elles étaient les cibles principales du virus, nous allons essayer d'expliquer ce qui se passe une fois le virus entré dans le corps humain, en identifiant les facteurs immunologiques liés à la protection et ceux liés à la pathogenèse.

2.1. Lors d'une primo-infection

2.1.1. Activation de la réponse immune innée (RII)

Au cours de l'infection naturelle de la dengue chez l'homme, le moustique inocule directement le virus dans l'épithélium de la peau, permettant à celui-ci de contourner la première barrière naturelle mécanique du système immunitaire inné.

Dans le derme on retrouve entre autres, des cellules dendritiques (les cellules de Langerhans), des macrophages, des kératinocytes, des fibroblastes, soit différents types cellulaires que le virus est capable d'infecter grâce aux diverses molécules de surface auxquelles il peut se fixer et aux différentes voies d'entrée qu'il peut utiliser.

Les **cellules dendritiques** (DCs) apparaissent comme les cibles préférentielles du DENV, en particulier les DCs immatures qui se révéleraient être les cellules les plus permissives au DENV. En effet, les DCs immatures expriment des niveaux élevés de DC-SIGN (CD209), une lectine de type C qui facilite la liaison et l'entrée virale initiale. Une fois, le virus à l'intérieur de la cellule cible il va pouvoir se répliquer et de nouveaux virions sont ainsi produits localement (les détails ont été présentés ultérieurement dans la partie *1.2 Le cycle cellulaire*). Les quatre sérotypes du DENV possèdent la capacité d'infecter de manière productive les DCs. Par conséquent, l'interaction du virus à cette lectine sur les DCs est un premier facteur de pathogenèse. En temps normal, ces cellules ont un rôle primordial d'interface entre le système immunitaire inné (SII) et le système immunitaire acquis (SIA) par leur fonction de CPA (cellule présentatrice d'antigène). Mais ici, l'infection altérerait la capacité des DCs à réguler positivement l'expression à leur surface des molécules complexes costimulatrices, de maturation et d'histocompatibilité, ce qui entraînerait une diminution de leur capacité de stimulation des lymphocytes T, cellules spécialisées de la défense immunitaire dite adaptative. (39) De plus, elles contribueraient à la fuite vasculaire à travers la production de métalloprotéinases matricielles (MMP). En effet, il a été observé que MMP-2, MMP-13 et MMP-9 ont tous été considérablement augmentées dans les cellules dendritiques immatures infectées par le DENV2. (40)

Néanmoins, une étude a permis d'observer que les **macrophages** du derme humain exprimant CD209 étaient capables de séquestrer le virus dans des vésicules intracellulaires incompetentes à la fusion, empêchant la répllication virale. Ceci identifie les macrophages cutanés comme la première cellule du système immunitaire inné potentiellement capable de

protéger l'hôte humain contre l'infection par le virus de la dengue peu de temps après une piqûre de moustique. L'abondance et la position stratégique des macrophages dans le derme sont compatibles avec leur fonction de première barrière de défense contre les agents pathogènes en les isolant et en les éliminant afin d'éviter une activation immunitaire inutile. L'étude ne dévoile pas si le DENV est éliminé dans le macrophage dermique, ou si le macrophage infecté va libérer progressivement le virus. (41)

Les macrophages et DCs infectés vont produire des cytokines. L'environnement cytokinique et l'interaction des peptides viraux avec les **cellules NK** (*Natural killer*) va permettre leur activation. Ces cellules non spécifiques sont comme les macrophages et cellules dendritiques impliquées dans la réaction immunitaire innée. Elles vont produire à leur tour des cytokines, qui vont exercer un rétrocontrôle positif sur les cellules de l'inflammation, mais aussi relarguer leur granules cytotoxiques et plus tard lyser les cellules infectées via l'ADCC (activation cytotolytique dépendante des anticorps).

Les cellules infectées du derme vont libérer des nouveaux virions ainsi que la protéine virale soluble NS1. Cette dernière peut activer directement des **facteurs du complément**. Le système du complément est l'un des principaux composants humoraux de l'immunité innée et interagit étroitement avec le système hémostatique. En temps normal, son activation est favorable car elle aboutit à la lyse d'une cellule infectée. Mais ici, son activation va également conduire à la production du complexe C5b-C9 qui pourrait déclencher des réactions cellulaires et stimuler la production de cytokines inflammatoires associées au développement de formes sévères. Alternativement, le complexe C5b-C9 pourrait déclencher indépendamment d'autres effets locaux et systémiques, ce qui pourrait être impliqué dans la coagulation intravasculaire. (37) De plus, chez les patients atteints de dengue sévère, de grandes quantités de C3a et C5a ont été détectées révélant un rôle du complément dans la pathogenèse de la dengue. (37,40) Ces deux anaphylatoxines ont pour action de libérer l'histamine par dégranulation des mastocytes et des basophiles pour augmenter ainsi la perméabilité vasculaire et contracter les fibres musculaires lisses. C3a est donc capable de perturber le système vasculaire et peut aussi augmenter l'effet d'autres cytokines pro-inflammatoires. En effet, C3a et C5a agissent sur des récepteurs spécifiques pour produire des réponses inflammatoires locales et lorsqu'elles sont sécrétées à des concentrations suffisamment élevées pour provoquer une réponse systémique générale, elles provoquent un effondrement circulatoire similaire à une réponse allergique médiée par l'IgE. (40)

Lors de l'interaction avec le DENV, les **mastocytes** libèrent des chimiokines recrutant des cellules T, NK et NKT¹. Mais l'interaction conduit également à la sécrétion de médiateurs contribuant à la fuite vasculaire suggérant un rôle des mastocytes dans la protection et la pathogenèse de la dengue. (42)

¹ Les cellules NKT sont considérées comme une sous-population particulière de lymphocytes T, exprimant à leur surface le récepteur TCR et le récepteur NKR.

Pendant ce temps, des cellules dendritiques infectées vont véhiculer le virus via la circulation lymphatique jusqu'aux ganglions lymphatiques de drainage.

2.1.2. Activation lymphocytaire périphérique

Au niveau du ganglion lymphatique, la réplication virale qui va s'ensuivre permet alors la diffusion sanguine du virus et ainsi apparaît la virémie. Selon son tropisme, le virus va alors se diriger vers différents organes et y infecter les cellules.

A ce stade pour lutter contre l'infection, l'organisme va utiliser le système immunitaire spécialisé. L'arrivée des CPA dans les organes lymphoïdes secondaires va permettre l'activation des lymphocytes T CD4+ qui vont proliférer et se différencier en fonction des cytokines produites par la CPA, en lymphocytes T auxiliaires TH1 ou TH2. Ces lymphocytes T auxiliaires ont eux-mêmes pour rôle d'activer les lymphocytes B ou les lymphocytes T cytotoxiques ou les agents de l'immunité non spécifique par la sécrétion de cytokines.

Les cellules dendritiques infectées vont permettre l'activation de lymphocytes T cytotoxiques (les lymphocytes T CD8+) qui ont la capacité de lyser une cellule infectée car elle présente des peptides du pathogène sur le CMH-I qui va être reconnu par le TCR (récepteur du lymphocyte T). Néanmoins, l'association de symptômes sévères de la dengue, au déclin rapide des charges virales et aux pics de sécrétions de cytokines pro-inflammatoires a amené certains à proposer un rôle de la réponse cellulaire T dans l'immunopathologie de la dengue sévère. Il a été d'ailleurs remarqué que lors d'infections sévères, une forte proportion de lymphocytes T CD8+ produisent les cytokines TNF et IFN γ mais échouent à déployer les marqueurs de dégranulation. En revanche, lors de formes légères de la dengue, les lymphocytes T CD8+ montrent plus de dégranulation et moins de production de cytokines pro-inflammatoires, ce qui peut avoir une incidence sur le contrôle du virus, la pathogenèse de la maladie et l'immunopathologie. (42)

L'activation des lymphocytes B par les lymphocytes T va permettre leur différenciation en plasmocytes sécréteurs d'Ac (IgM et IgG) dirigés contre les antigènes viraux. Il faut cependant plusieurs jours avant de retrouver des Ac spécifiques du DENV dans le sang humain. Ils vont diffuser dans l'organisme pour s'associer aux antigènes libres ou à ceux présents sur les cellules infectées. Leurs fonctions sont multiples. Ils peuvent par exemple inhiber l'attachement du virus à la cellule cible. Mais ils exercent aussi en association avec le complément ou par ADCC. Lorsqu'un anticorps spécifique à l'antigène rencontre celui-ci, il se fixe et un complexe immun est formé. Il pourra ensuite être détruit par phagocytose.

Les anticorps sont dits neutralisants quand ils sont capables de bloquer l'infection de nouvelles cellules et donc de limiter la propagation de l'infection virale. La réponse immunitaire contre la dengue est principalement médiée par les anticorps neutralisants, particulièrement par ceux dirigés contre la protéine de l'enveloppe E mais aussi par ceux dirigés contre la membrane et la protéine NS1. Les Ac les plus neutralisants se lient au domaine 3 de la protéine de l'enveloppe. Les Ac neutralisants dirigés contre le domaine 2

bloquent la fusion membranaire avec les cellules cibles tandis que les Ac neutralisants dirigés contre le domaine 3 de la protéine E bloquent l'attachement du virus. (7)

Après une première infection par un sérotype particulier du virus de la dengue, on estime que la protection obtenue contre le sérotype responsable (protection homotypique) est durable sur le long terme (vraisemblablement à vie). Une protection croisée temporaire (d'environ deux ans) est également induite contre les autres sérotypes (protection hétérotypique). D'ailleurs, dans les zones endémiques la maladie est inhabituelle chez les moins de 6 mois, ce qui présuppose que les nourrissons sont protégés par les Ac maternels contre le DENV qui leurs sont transmis pendant la grossesse. Ce transfert passif d'Ac les protégerait jusqu'à ce que leur niveau diminue en dessous d'un certain seuil protecteur. (7)

Le rôle des lymphocytes T cytotoxiques dans la clairance du virus n'est pas non plus inexistant. La faible fréquence des cellules T en circulation pendant la virémie a incité certains à remettre en question la pertinence de la réponse des lymphocytes T à l'infection par la dengue. Cependant, une étude récente de 2015 a montré que le liquide prélevé dans les ampoules de patients contenait plus de cellules T spécifiques de la dengue que dans leur sang périphérique. Cela suggère que les lymphocytes T peuvent migrer du sang vers le tissu périphérique pendant une infection aiguë et aider activement à lutter contre l'infection au DENV. (42)

De plus, plusieurs études démontrent que les lymphocytes T CD4⁺ cytotoxiques se développent à la suite d'infections à DENV et qu'il y aurait une corrélation avec une protection accrue de l'hôte contre la dengue sévère. En effet, il est maintenant prouvé que les lymphocytes T CD4⁺ peuvent également exercer des fonctions cytotoxiques et induire l'apoptose des cellules cibles. Leur capacité à acquérir des fonctions cytotoxiques a été principalement attribuée aux cellules T auxiliaires de type 1 (Th1) après des infections virales mais il est maintenant clair que d'autres sous-ensembles de lymphocytes T CD4 comprenant des cellules T régulatrices peuvent également sécréter des molécules effectrices et exercer des effets cytotoxiques. (43)

Enfin, l'activation de la réponse immunitaire acquise a permis la formation de lymphocyte T et B mémoires et d'anticorps qui auront de l'importance lors d'une réinfection par le DENV. Ces cellules mémoires et anticorps produits sont de deux types : soit spécifique au sérotype (qui se lie uniquement au sérotype de l'infection) soit à réaction croisée (c'est-à-dire capable de se combiner à des antigènes différents mais dont les déterminants antigéniques sont très proches, dans notre cas avec deux ou plusieurs sérotypes du DENV).

2.1.3. Interactions du SII et SIA et leur rôle dans la protection ou la pathogénèse

Nous pouvons apercevoir sur ce schéma très simplifié (figure 17), les interactions entre un monocyte infecté et un lymphocyte T reconnaissant les épitopes du DENV exprimés par la cellule infectée. Cette interaction est au cœur de la coopération entre la RII et la RIA.

Les flèches vertes indiquent les voies qui sont principalement protectrices contre l'infection comme l'activité cytolytique du lymphocyte T activé. Les flèches rouges désignent les voies qui sont principalement associées à une maladie plus grave (réponses immunitaires pathologiques) tel qu'un fort taux de cytokines inflammatoires et les flèches jaunes désignent des voies qui peuvent être associées à la fois à la protection ou à la pathogenèse. (38)

Tous les acteurs de la réponse immune cités précédemment ne figurent pas sur ce schéma mais il permet de visualiser la contradiction de la réponse immune suite à une infection par le DENV.

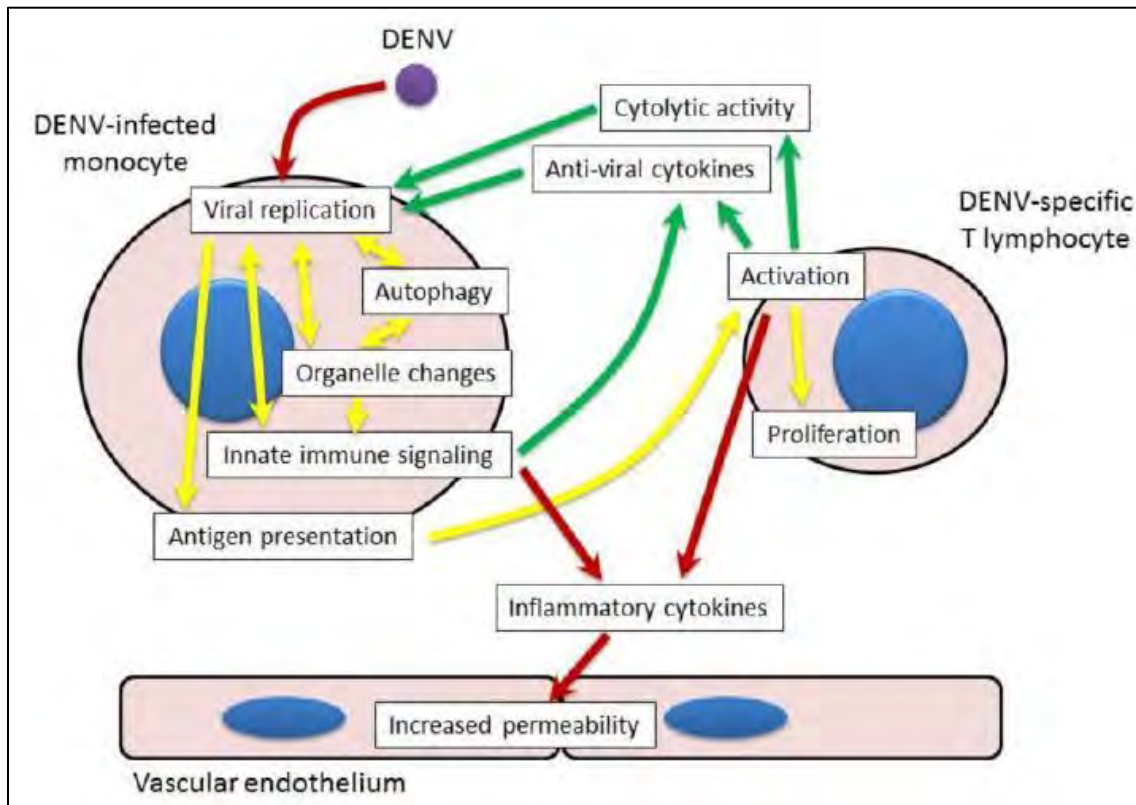


Figure 17. Les réponses immunes innées et acquises au DENV et leurs relations avec la protection ou la maladie. (38)

Comme l'illustre la figure, la fuite de plasma résulte de l'action des médiateurs circulants sur les cellules endothéliales. En effet, le pic de symptômes, le pic de la fuite vasculaire et le pic du contrôle viral coïncident avec une «tempête de cytokine» dans laquelle des taux circulants élevés de nombreux médiateurs inflammatoires tels que TNF, sTNFR1, sTNFR2, IFN γ , CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL8, CCL5 et VEGF ainsi que la cytokine anti-inflammatoire IL-10. Cette tempête de cytokine serait en grande partie en cause dans le déclenchement de la perméabilité vasculaire accrue. (42)

2.2. Lors d'une seconde infection

Lors d'une seconde infection par le même sérotype, ce qui diffère avec la primo-infection est la présence dans l'organisme de lymphocytes B mémoires, lymphocytes T mémoires et

d'IgG spécifiques au sérotype. Les cellules mémoires vivent très longtemps et permettent une réponse beaucoup plus rapide et beaucoup plus forte à l'Ag.

Les lymphocytes B mémoires ont la caractéristique de pouvoir sécréter directement, sans temps de latence, des anticorps de haute affinité lors d'une deuxième infection par le même antigène. La réponse obtenue se produit pour des taux beaucoup plus faible d'antigène et est considérablement plus importante en intensité. Ainsi dans ce cas, l'infection est plus facilement et rapidement contrôlée.

Lors d'une seconde infection par un sérotype différent, la maladie se fait plus intense et les formes sévères plus fréquentes. En effet, il est généralement admis qu'après la diminution des anticorps à neutralisation croisée, le risque de contracter la forme sévère de la maladie est plus élevé lors d'une seconde infection hétérotypique par le virus de la dengue. Ainsi la probabilité de développer une maladie grave augmenterait avec la durée entre la primo infection et la seconde infection hétérotypique. Cette observation s'expliquerait par deux hypothèses que nous allons détailler maintenant.

2.2.1. L'hypothèse du péché originel antigénique

Cette hypothèse appelée en anglais « *original antigenic sin* » soutient que lors d'une réinfection par un sérotype différent, le système immunitaire humain active de manière préférentielle les cellules T mémoires à réaction croisée plutôt que d'instruire des cellules T naïves contre l'antigène de l'infection en cours. (44)

En effet, l'expression des épitopes viraux sur des cellules infectées lors de cette seconde infection hétérotypique déclencherait l'activation des lymphocytes T mémoires à réaction croisée. (36) D'une part, ces lymphocytes libèreraient plus de cytokines pro-inflammatoires entraînant la fuite plasmatique dans l'endothélium vasculaire. (40) D'autre part, l'activation de ces lymphocytes T mémoire à faible affinité pour le second sérotype infectant résulterait en un contrôle inefficace de l'infection et à la détérioration de la clairance virale. (45)

Cependant, le rôle pathogène des lymphocytes T est aujourd'hui controversé et aucune étude n'a démontré de preuve directe soutenant ce rôle pathogène. A l'inverse, de nombreuses études utilisant des modèles de souris ont montré une contribution directe des lymphocytes T contre le DENV. En particulier, une étude de 2015 a démontré que les lymphocytes CD8 peuvent directement contribuer à la protection contre une réinfection hétérotypique chez la souris. (45)

En cohérence avec ces données recueillies sur des modèles murins, de récentes études utilisant des donneurs de sang exposés au DENV provenant d'un pays hyper endémique, soutiennent que les lymphocytes T auraient un rôle protecteur lié à l'HLA humain. L'étude d'A. Elong Ngono publiée en 2016 a permis de comparer le rôle des lymphocytes CD8 spécifiques d'un sérotype au rôle des lymphocytes CD8 capables de réactions croisées (en utilisant un modèle murin transgénique à HLA et une immunisation peptidique). Les résultats

montrent que les deux types de lymphocytes T CD8 peuvent contribuer à la protection contre l'infection au DENV. (45)

2.2.2. L'hypothèse ADE : aggravation de la maladie dépendante des anticorps

C'est la théorie des anticorps facilitant responsables des formes compliquées, hypothèse émanant d'Halstead dans les années 70. En effet, il a constaté que dans les pays où circulent plusieurs types viraux, les cas de dengue de formes hémorragiques semblaient associés à une deuxième infection par un sérotype différent et que la gravité de la maladie était supprimée au cours d'une troisième ou quatrième infection au DENV. (46) Plus tard, des études prospectives de cohortes ont démontré de façon convaincante cette association. (39)

Dans une étude de 2007, les chercheurs ont travaillé sur des singes séronégatifs au DENV. Une partie des singes a reçu un supplément d'IgG tandis que les autres ont reçu une solution tampon. Puis tous les singes ont été infectés par le DENV-4 et les scientifiques ont mesuré les titres viraux. Les singes avec supplément d'IgG ont développé 15 fois plus de titres viraux que les singes infectés sans supplément d'IgG, ce qui confirme l'existence du mécanisme de l'ADE. (47)

De plus, une vaste étude de cohorte prospective à Iquitos (au Pérou) a révélé une réduction marquée des symptômes de la maladie lors d'une troisième ou quatrième infection au DENV. (48)

L'explication de ce phénomène serait celle-ci. Lors de la réponse immunitaire que suscite la première infection, deux types d'Ac apparaissent : les anticorps dits homologues, qui assurent une protection à vie contre le sérotype en cause, et les anticorps dits hétérologues, reconnaissant les 4 sérotypes viraux.

Ces anticorps hétérologues n'agissent pas lors de la première infection. (18) Mais lors d'une réinfection par un sérotype différent, ces anticorps hétérologues induits par la primo-infection sont présents chez l'hôte souvent à des taux non neutralisants. Ils se lieraient à des particules virales sans pouvoir neutraliser le virus. En effet, le complexe Ac-virus s'attacherait au fragment Fc γ des récepteurs sur les monocytes, ce qui faciliterait l'entrée du virus dans ces cellules via un mécanisme d'endocytose. Ce phénomène permettrait d'augmenter le nombre de cellules infectées dont la lyse produirait des médiateurs vasoactifs et procoagulants. Il s'ensuivrait ainsi une réaction inflammatoire intense et inadaptée avec une augmentation de la perméabilité vasculaire. (7)

Le récepteur Fc (FcR) est composé d'une chaîne α pour la reconnaissance du domaine Fc, d'un ITAM (Motif d'Activation des récepteurs Immuns basé sur la Tyrosine) et d'une chaîne γ responsable de la transduction du signal. Il fonctionne comme un complexe à plusieurs sous-unités qui se lie typiquement à l'IgG. L'IgM ne jouerait donc pas un rôle direct dans l'ADE et contribuerait plutôt à la pathogenèse de la maladie par l'activation des récepteurs du complément. (40)

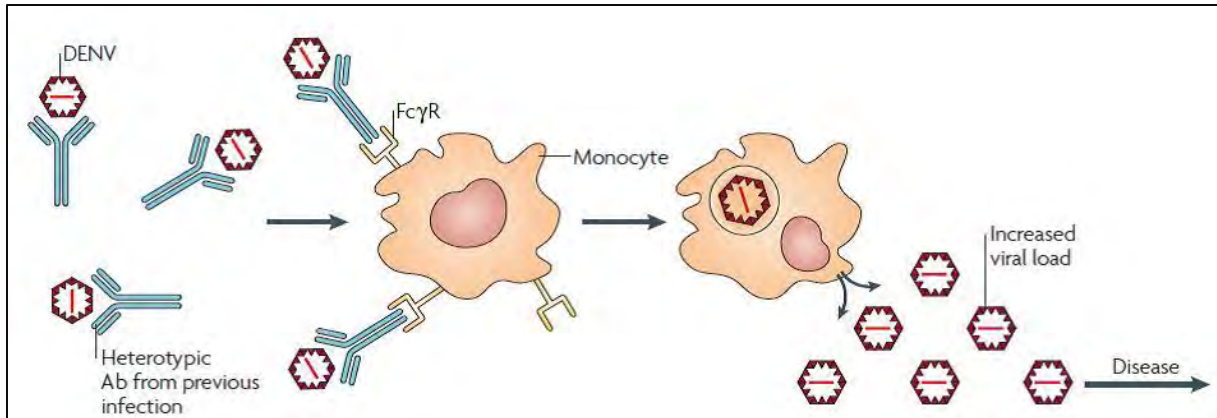


Figure 18. Schématisation de l'hypothèse ADE. (7)

Les FcRs sont présents sur la plupart des phagocytes, y compris les cellules dendritiques et les macrophages. Alors que les cellules dendritiques matures ne possèdent pas de niveaux élevés de DC-SIGN, elles facilitent l'ADE via les récepteurs FcγIIa et FcγIIb. D'ailleurs le rôle des cellules dendritiques dans la pathogenèse serait principalement dû au phénomène ADE. (40)

Le phénomène ADE serait indépendant de la réponse immune cellulaire c'est-à-dire que les lymphocytes T n'auraient aucun rôle dans ce mécanisme. En effet, dans les zones endémiques les formes sévères apparaissent généralement entre 6 et 12 mois. Lorsque le titre des Ac maternels décroît en dessous du seuil protecteur mais qu'il en reste encore, le plus souvent autour des 6 mois de l'enfant, il est alors à haut risque de développer une forme sévère malgré le fait qu'il n'ait jamais été infecté par un DENV et donc l'absence d'immunité cellulaire spécifique. Après la dégradation totale des Ac maternels, les enfants perdent cette susceptibilité à développer une forme sévère. (7)

2.2.3. Synergie d'action des deux hypothèses

Sur la figure 19 (page suivante), on assiste à la coopération entre un monocyte et une cellule T lorsqu'on applique les deux hypothèses précédemment décrites. Les interactions aboutissent finalement à la fuite plasmatique, preuve de leurs rôles dans la gravité de la maladie.

Il faut cependant rappeler que la dengue sévère peut se produire aussi au cours d'une primo-infection par le virus de la dengue, durant laquelle l'hypothèse ADE et l'hypothèse du péché originel antigénique ne sont pas applicables. Cela confirme bien l'existence des autres facteurs de pathogenèse vu précédemment.

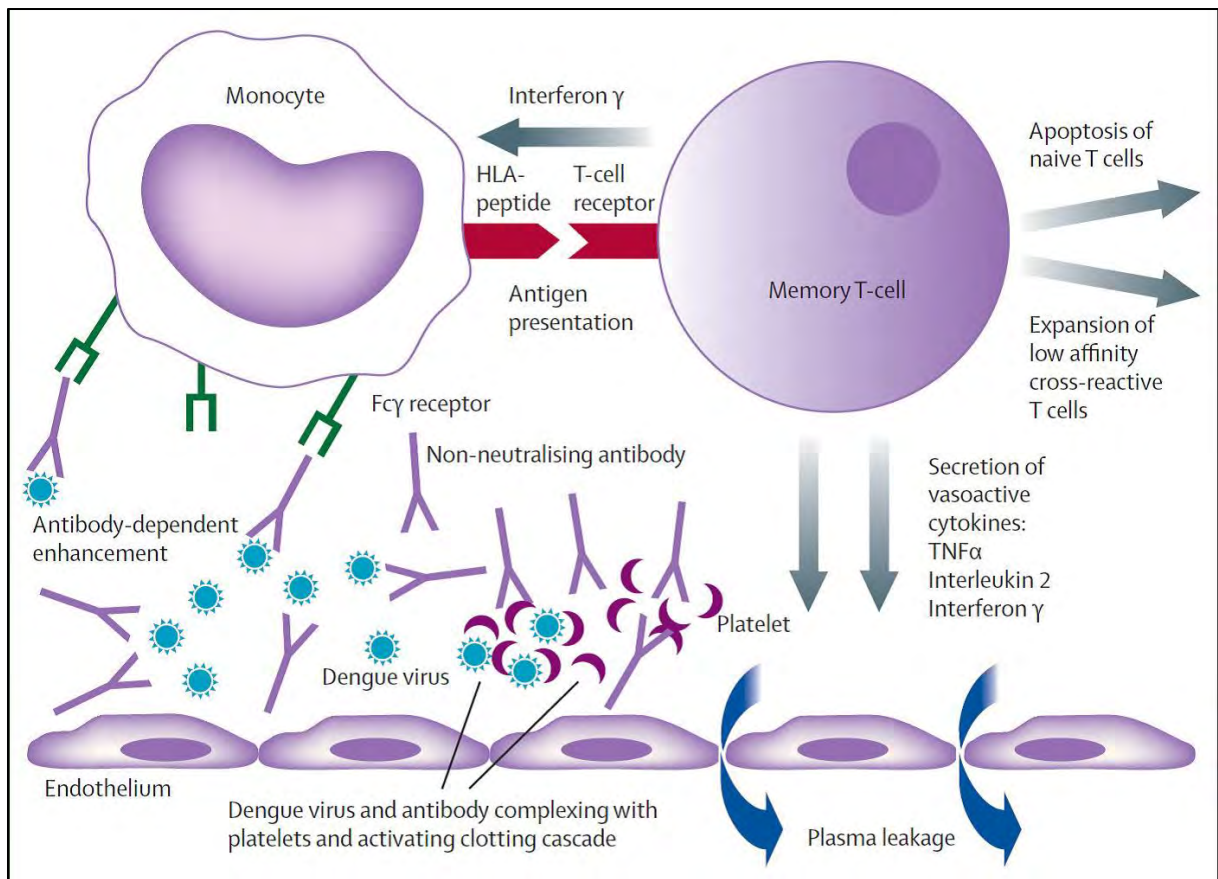


Figure 19. Représentation schématique de l'immunopathogénèse lors d'un cas de dengue sévère (49)

Dans tous les cas, lors de cette seconde infection, les réponses immunes innées et acquises sont toutes les deux de nouveaux sollicitées et de nouveaux anticorps sont produits. Ces anticorps neutralisants à large spectre offrent une protection multi typique, ce qui expliquerait le faible nombre de cas de dengue sévère lors d'infections ultérieures. (22)

3. Autres facteurs impliqués dans la pathogenèse

3.1. Facteurs viraux

Selon l'hypothèse de virulence du virus, certaines souches de DENV sont responsables de maladies plus sévères. Voici plusieurs résultats d'études qui corroborent cette affirmation.

Une étude prospective réalisée dans deux hôpitaux en Thaïlande sur 168 enfants souffrant d'une infection aiguë de la dengue, entre avril 1994 et décembre 1996, avait pour but d'explorer le rôle de la charge virale dans la pathogenèse de la dengue hémorragique. (50) Les résultats de cette étude montrent une corrélation entre l'augmentation de la gravité de la maladie et :

- le titre élevé de virémie,
- une infection secondaire au virus (81% des patients ayant eu une infection secondaire de la dengue ont développé une maladie plus sévère),
- une infection par le sérotype 2 comme le prouvent les résultats ci-dessous.

Virus type	All dengue patients						Patients with secondary dengue virus infections					
	<i>n</i>	% with DHF	<i>P</i> ^a	<i>n</i>	Mean PEI	<i>P</i> ^b	<i>n</i>	% with DHF	<i>P</i> ^a	<i>n</i>	Mean PEI	<i>P</i> ^b
DEN-1	46	39	.01	43	4.9	.005	30	50	.1	28	6.8	.03
DEN-2	47	66	—	44	14.2	—	44	68	—	43	14.5	—
DEN-3	47	40	.02	45	6	.02	32	47	.1	30	8.7	.1
DEN-4	25	40	.05	23	4.3	.02	24	38	.02	23	4.3	.02
Totals	165			155			130			124		

Figure 20. Pourcentage de dengue hémorragique (DHF) et indice d'épanchement pleural¹ (PEI) chez les enfants infectés par le virus de la dengue (DEN) 2 par rapport à ceux infectés par d'autres sérotypes du virus de la dengue. (50)

Des études prospectives ont été menées de 1994 à 2006 à Bangkok, en Thaïlande pour déterminer si la dengue hémorragique et les signes de maladie clinique grave (épanchement pleural, ascite, thrombocytopenie, hémococoncentration) étaient associés au sérotype. Il y avait 162 cas (36%) avec un DENV-1, 102 (23%) avec un DENV-2, 123 (27%) avec un DENV-3 et 64 (14%) avec un DENV-4. Il n'y avait pas de différence significative dans les taux de dengue hémorragique entre chaque sérotype : DENV-2 (43%), DENV-3 (39%), DENV-1 (34%) et DENV-4 (31%). En limitant l'analyse aux cas secondaires, les scientifiques ont remarqué que le DENV-2 et le DENV-3 étaient deux fois plus susceptibles d'entraîner une dengue hémorragique que le DENV-4 ($p = 0,05$). (51)

Une étude transversale a porté sur des enfants hospitalisés atteints d'infection confirmée au DENV pendant deux périodes dans les mêmes hôpitaux au Nicaragua : (52)

¹ L'indice d'épanchement pleural correspond à la profondeur de l'épanchement pleural divisé par le diamètre de l'hémithorax droit, multiplié par 100.

- une période de 3 ans (1999-2001) où le DENV-2 représentait 96% des 984 virus identifiés,
- la saison de la dengue de 2003 où prédominait le DENV-1 (87% des 313 sérotypes identifiés).

Lors de la comparaison des deux périodes, les scientifiques ont observé beaucoup plus de choc (OR 1,91, IC 95% 1,35-2,71) et d'hémorragie interne (OR 2,05, IC 1,16-3,78) pendant la période où le DENV-2 prédominait, alors qu'une perméabilité vasculaire accrue était plus fréquente lors de la période DENV-1 (OR 2,36, CI 1,80-3,09). Ainsi ces deux périodes où le sérotype majoritaire était pour la première DENV-2 et pour la seconde DENV-1 sont associées à des manifestations cliniques distinctes. (52)

Parce que les mêmes traitements cliniques et protocoles de thérapie ont été suivis pendant les deux périodes, ces résultats semblent indiquer que le DENV-2 a produit une maladie plus grave que le DENV-1. Le fait que le DENV-2 provoque une plus grande sévérité de la maladie est également corroboré par les données démontrant que l'infection par le DENV a entraîné des manifestations hémorragiques plus graves (par exemple, hématomèse, méléna, hématurie, ménorragie, épistaxis et saignements gingivaux) pendant la période DENV-2 contrairement à la période DENV-1 où un pourcentage plus élevé de manifestations hémorragiques plus légères a été observé.(52)

L'ensemble des résultats de ces études démontrent des différences spécifiques dans le phénotype clinique entre les sérotypes, confirment que les sérotypes du DENV varient dans leur capacité à provoquer une maladie par rapport à une exposition antérieure au DENV et laisse percevoir que le sérotype 2 serait le plus virulent des sérotypes de la dengue.

De plus, les sérotypes peuvent être classés en différents géotypes sur la base des variations de nucléotides. Les différences génétiques virales ont été associées à des différences de virulence majeure comme notamment la différence d'acides aminés observée entre les virus géotypiques du sud-est asiatique et américain à la position E-390 codant pour la glycoprotéine E. (53) Pour rappel, la glycoprotéine E est impliquée dans la fixation et la fusion du virus dans les cellules. C'est aussi un antigène majeur responsable de la formation d'Ac neutralisants.

Contrairement à ce que l'on pourrait penser aucune corrélation directe entre la charge virale et la gravité de la maladie n'a été observée. Néanmoins, une charge virale élevée serait corrélée avec une thrombocytopenie prolongée et une récupération retardée. (31)

3.2. Facteurs liés à l'hôte

Nous avons déjà détaillé, dans la partie 1 au paragraphe 3.4 *Prise en charge*, les caractéristiques de la population à risque de dengue sévère. Pour rappel, l'obésité, le diabète de type 1, l'insuffisance rénale et les maladies hémolytiques chroniques sont des antécédents médicaux à prendre en compte. Dans ce groupe de population à risque, nous avons aussi mentionné les enfants et les personnes âgées car l'âge est également un facteur de risque de maladie sévère. Seuls les facteurs génétiques n'ont pas encore été abordés jusqu'ici.

3.2.1. L'âge

L'âge aurait une influence sur la sévérité de la maladie. Les données épidémiologiques ont montré que les enfants sont les plus à risque de développer une dengue symptomatique et une dengue sévère.

Age	Subjects, n ^a	Symptomatic DENV infection, n [n/100 person-yrs(95% CI)] ^b	Subclinical DENV infection, n [n/100 person-yrs(95% CI)] ^a	Total DENV infection, n/100 person-yrs	Ratio of subclinical to symptomatic DENV infection
6 mos —5 yrs	148	5 [2.50 (0.95, 5.49)]	15 [9.69 (5.66, 15.59)]	12.19	3.9:1
6–15 yrs	184	10 [4.90 (2.52, 8.70)]	19 [10.04 (6.25, 15.35)]	14.94	2.0:1
16–30 yrs	168	1 [0.5 (0.04, 2.31)]	12 [6.79 (3.71, 11.50)]	7.29	13.6:1
31–50 yrs	172	0 [0 (0, 1.32)]	7 [4.16 (1.85, 8.17)]	4.16	^c
>50 yrs	182	0 [0 (0, 1.29)]	8 [4.46 (2.11, 8.42)]	4.46	^d
All ages	854	16 [1.62 (0.97, 2.58)]	61 [7.03 (5.42, 8.96)]	8.65	4.3:1

Figure 21. Incidence des formes symptomatiques et subcliniques liés au DENV chez différentes tranches d'âge. (54)

a : analyse basée sur 854 sujets, en per protocole

b : basée sur tous les sujets, en ITT

c : sept infections subcliniques et zéro infection symptomatique

d : huit infections subcliniques et zéro infection symptomatique

Les résultats de cette étude prospective de cohorte menée aux Philippines, où le virus de la dengue est en circulation depuis plusieurs décennies montre une différence importante dans le ratio du nombre de formes subcliniques sur le nombre de formes symptomatiques chez les enfants de 6 mois à 5 ans (3.9/1) et de 6 à 15 ans (2.0/1), en comparaison avec ceux de plus de 15 ans (13.6/1). Nous pouvons néanmoins critiquer l'étude car certains résultats ont un intervalle de confiance qui intègre 1 et qui sont donc non significatifs. (54) Ces résultats sont conformes à l'idée que les enfants sont plus susceptibles de développer une maladie.

Une autre étude s'est intéressée plus particulièrement à l'influence de l'âge sur les résultats d'une seconde infection au DENV. Une énorme épidémie de DHF / DSS a eu lieu à Cuba en 1981. Les individus étaient âgés de 3 à 40 ans, et leur seule exposition à la dengue était celle de DENV-1 en 1977 et de DENV-2 en 1981. Les données hospitalières et séro-épidémiologiques publiées et non publiées provenant de l'épidémie de DENV de 1981 ont été utilisées pour l'analyse. Les enfants, âgés de 3 à 4 ans, avec des infections secondaires au DENV-2 présentaient un taux de mortalité élevé (25,4 / 10 000 infections secondaires DEN-

2). Les résultats montrent que le taux de mortalité a diminué avec un âge plus élevé, soit 15,9 fois plus faible dans le groupe d'âge de 10 à 14 ans. Le taux de décès chez les enfants âgés de 3 à 14 ans était 14,5 fois plus élevé que chez les jeunes adultes âgés de 15 à 39 ans. Le taux de décès a légèrement augmenté chez les adultes âgés de 50 ans et plus. Les taux d'hospitalisation pour DHF ou DSS ont montré la même tendance que les taux de mortalité. L'âge est donc ici une variable importante dans le résultat des infections secondaires au DENV-2. Les taux de mortalité et d'hospitalisation pour dengue sévère sont les plus élevés chez les jeunes enfants et chez les personnes âgées. (55)

Les différences de perméabilité microvasculaire de base entre les enfants et les adultes pourraient contribuer à ce phénomène bien que d'autres facteurs entrent certainement en jeu.(56)

3.2.2. Facteur génétique

Une surreprésentation de formes graves dans certaines familles a été observée laissant percevoir un facteur génétique dans le développement de dengue sévère. (7)

Plusieurs études épidémiologiques ont indiqué que les facteurs génétiques constituent des éléments importants dans la susceptibilité à la maladie. Plusieurs allèles HLA de classe I et II sont associés au développement de dengue hémorragique. De plus, le polymorphisme de plusieurs gènes a été reconnu comme impliqué dans le développement de formes graves de la dengue. Il s'agit du polymorphisme du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), du récepteur de la vitamine D, de CTLA-4 (molécule de costimulation négative) et du facteur de croissance transformant β (TGF- β). Le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), pourrait également contribuer à une réplification accrue de DENV dans les monocytes. Le polymorphisme dans le gène de la lectine 2 de liaison au mannose (MBL2) a été associé à une thrombocytopenie et à un risque accru de développer une dengue hémorragique. Le risque de développer une forme sévère suite à une infection par DENV est probablement déterminé par une combinaison de multiples facteurs génétiques, chacun ayant des effets plus ou moins importants, prédisposant à une forme de maladie plus sévère. (37)

Finalement, les mécanismes impliqués dans la pathogenèse des formes sévères restent peu compris. Notre compréhension de cette maladie est sévèrement limitée par des modèles animaux inappropriés. En effet, les modèles animaux peuvent soutenir la propagation virale mais ne présentent pas les symptômes de la maladie à moins d'être gravement immunodéprimés. (40)

Néanmoins, on peut déduire de cette partie que la réponse immunitaire contre le DENV ne ferait pas que protéger de la maladie, elle semble aussi jouer un rôle dans la pathogenèse des formes sévères même si d'autres facteurs interviennent comme les facteurs viraux (le tropisme du virus, la virulence de la souche) et les facteurs liés à l'hôte.

PARTIE 4 : DEVELOPPEMENT D'UN VACCIN

La vaccination est une méthode éprouvée de lutte contre les maladies infectieuses. Puisque les programmes de lutte antivectorielle sont difficiles à maintenir et donnent de résultats insuffisants, les autorités de santé publique ont appelé depuis plusieurs années au développement d'un vaccin contre le virus de la dengue, en particulier pour protéger les personnes contre la maladie dans les pays endémiques. (57)

Le but de cette partie est d'expliquer le fonctionnement d'un vaccin, les caractéristiques du vaccin idéal contre la dengue, la complexité à développer ce vaccin idéal et enfin d'évaluer l'efficacité et l'innocuité du nouveau vaccin Dengvaxia®.

Des vaccins contre d'autres *Flavivirus* ont été commercialisés depuis déjà quelques années (fièvre jaune et encéphalite japonaise par exemple). Dans le cas de la dengue, la difficulté vient en partie de l'existence des quatre sérotypes : le développement de vaccin contre la dengue a été ralenti par la crainte que l'immunisation puisse prédisposer les individus à la forme sévère de la maladie via les mécanismes précédemment décrits.

1. Objectifs du vaccin

1.1. Rôle de la vaccination

Grâce à la mémoire du système immunitaire, la réponse immune secondaire est à la fois plus rapide, plus intense et généralement plus efficace que la réponse immune primaire. Ce phénomène est à la base du concept de la vaccination.

La vaccination consiste à introduire dans l'organisme un antigène en l'occurrence viral pour obtenir une immunité durable et spécifique vis-à-vis de l'infection. Pour atteindre ce résultat les vaccins miment certaines des caractéristiques immunogènes des agents infectieux et ils induisent les mêmes défenses immunitaires protectrices que l'infection naturelle en déclenchant une réponse humorale et cellulaire qui va conduire à la production de lymphocytes T et B mémoires et d'anticorps spécifiques qui vont persister plusieurs années dans l'organisme. Ainsi l'organisme sera protégé contre une éventuelle future infection impliquant le même pathogène. Par conséquent, l'immunisation permet de procurer au corps humain les moyens de se défendre contre une agression biologique avant tout contact réel avec le pathogène.

La performance de cette réponse immune faisant appel à la mémoire immunitaire dépend à la fois d'une augmentation quantitative des lymphocytes spécifiques de l'Ag, de leur disponibilité immédiate et de leur réactivité supérieure. En effet, que ce soit pour les lymphocytes T ou B mémoires, de nombreuses différences avec les cellules naïves expliquent leurs meilleures performances. (58)

Premièrement, ils possèdent une plus forte affinité de leur immunorécepteur, conséquence de l'activation préférentielle des clones T les plus affins aux étapes initiales de la réponse primaire et de la sélection des cellules B les plus affines au terme de la réponse primaire.

De plus, le seuil de déclenchement de leur activation est plus facilement atteint ; ils ont une sensibilité étendue aux différentes cytokines capables d'induire leur prolifération ; une fonction effectrice rapidement voire immédiatement opérationnelle ; et enfin, pour certaines d'entre elles, appelées cellules mémoires résidentes, leur présence au sein même des tissus périphériques (peau, muqueuses) leur permettent ainsi d'être aux premières loges pour agir directement contre l'agresseur. (58)

L'acquisition de ces propriétés caractéristiques des cellules mémoires est réservée à un tout petit nombre de cellules activées, qui ont pu échapper à la mort par apoptose. Lorsque les cellules mémoires reçoivent les signaux indispensables à leur survie, elles parviennent à se maintenir au fil des années pour exercer cette propriété essentielle qu'est la mémoire immunologique.

1.2. Les différents types de vaccin et leur composition

Il existe plusieurs types de vaccins selon l'agent infectieux utilisé.

Ceux contenant un agent infectieux **vivant atténué** capable de se multiplier chez l'homme entraînent une infection inapparente ou atténuée stimulant suffisamment l'immunité spécifique protectrice contre l'agent infectieux pathogène (exemple du vaccin ROR). Il existe deux voies de développement des vaccins vivants atténués, ceux dérivant directement des virus naturels et ceux issus de virus modifiés chimériques.

D'autres utilisent des agents infectieux **inactivés** ou « inertes » incapables de se multiplier. Ils sont composés des structures antigéniques de l'agent infectieux permettant au sujet vacciné de développer une réponse adaptée et protectrice (par exemple, le vaccin antipoliovirus inactivé).(59)

Les vaccins inactivés ont deux avantages majeurs par rapport aux vaccins à virus vivants atténués : la sécurité et l'induction d'une réponse anticorps équilibrée pour chaque sérotype. La sécurité est indéniable car il n'est pas possible pour les vaccins inactivés de revenir à un phénotype plus pathogène. Ils ne sont donc pas contre-indiqués chez les sujets immunodéprimés contrairement aux vaccins vivant atténués.

En plus du principe actif, un vaccin contient plusieurs éléments nécessaires à son efficacité et à sa conservation. On retrouve souvent des stabilisateurs pour garantir une qualité dans le temps du vaccin. Il s'agit de sucres (lactose, saccharose), d'acides aminés (glycine) ou de protéines (albumine, gélatine). Des conservateurs peuvent aussi être utilisés pour prévenir la prolifération bactérienne ou fongique. Les formulations de vaccin inactivé contiennent très fréquemment un adjuvant dont le but est d'augmenter la réponse immunitaire contre

l'antigène. Un diluant stérile, le plus souvent de l'eau ou du NaCl, est nécessaire pour reconstituer le vaccin avant son administration. (60)

1.3. Caractéristiques du vaccin idéal

Les principaux défis pour le développement de vaccins contre la dengue sont la combinaison en un seul vaccin des quatre souches pour éviter le phénomène ADE et l'obtention d'une immunité à long terme contre les 4 sérotypes. Idéalement, le vaccin devrait être efficace contre toutes les formes de maladie de la dengue, allant de la forme simple aux formes sévères.

Puisque le principal médiateur de la protection immunologique dans l'infection par le DENV est la réponse anticorps, le but majeur de l'immunisation est donc l'induction d'un niveau protecteur d'Ac. Cela peut être réalisable en utilisant un vaccin vivant ou un vaccin inerte.

Comme l'infection par des vaccins vivants atténués ou inactivés induit généralement moins d'anticorps que l'infection par le virus sauvage, il est hautement probable qu'au moins deux doses de vaccin seront nécessaires pour induire les mêmes taux élevés d'anticorps qui se développent suite à une infection avec le virus de type sauvage. Si cet objectif peut être atteint à court terme, des vaccinations supplémentaires de rappel plusieurs années plus tard pourraient ne pas être nécessaires, car l'infection par le virus sauvage fournit une protection à vie contre une réinfection. Cependant, dans les régions non endémiques où les infections naturelles sont peu fréquentes, il faut tenir compte du besoin éventuel de doses de rappel supplémentaires.

Les vaccins vivants atténués sont économiques à fabriquer. Il n'a pas encore été démontré qu'il soit possible de fabriquer un vaccin inactivé aussi immunogène et aussi économique qu'un vaccin vivant atténué. Les vaccins inactivés peuvent être coûteux à fabriquer car pour obtenir une immunogénicité¹ optimale sur les sujets séronégatifs des adjuvants sont nécessaires, mais ces adjuvants peuvent augmenter les dépenses et la réactogénicité du vaccin. De plus, des doses de rappel multiples sont nécessaires pour assurer une immunité à long terme.

Ainsi la recherche dans le développement d'un vaccin contre la dengue s'est portée majoritairement sur des candidats vaccins vivants atténués.

Plusieurs principes ont orienté le développement de vaccins vivants atténués contre les virus de la dengue. (7)

Premièrement, ces vaccins sont capables d'**induire des réponses immunitaires humorales et cellulaires durables en imitant l'infection naturelle**. Les vaccins de virus vivants atténués

¹ L'immunogénicité est la capacité pour toute substance d'induire une réponse immunitaire spécifique.

peuvent théoriquement induire une large réponse immunitaire humorale et cellulaire à la fois aux protéines structurelles et non structurales, alors que les vaccins dérivés de virus chimériques antigéniques atténués induiraient une réponse plus restreinte aux protéines non structurales, en fonction du contexte génétique.

Deuxièmement, **la réplication** d'un vaccin DENV vivant doit être suffisamment restreinte pour empêcher le développement d'une maladie significative. Les symptômes tels que la fièvre, les maux de tête et les arthralgies observés dans la maladie naturelle de la dengue ne seraient pas acceptables après la vaccination. Par contre, il serait acceptable d'observer des signes asymptomatiques ou sous-cliniques d'infection tels qu'une éruption légère, une légère élévation des enzymes hépatiques et une leucopénie transitoire. C'est l'équilibre délicat entre le caractère réactogène et immunogène du vaccin.

Troisièmement, le virus présent dans le vaccin doit avoir **une transmissibilité réduite par les moustiques**. Ceci peut être contrôlé par une faible virémie, de sorte que les 1 à 2 µl de sang ingéré par le moustique ne contiennent pas suffisamment de virus pour déclencher une infection, ou bien contrôlé par la présence de mutations virales qui empêcheraient la réplication du virus dans le moustique.

Quatrièmement, le virus du vaccin doit avoir **une forte infectivité** donc être infectieux à faible dose et bien se répliquer dans les cultures cellulaires réduisant le coût de production.

Cinquièmement, chaque partie du vaccin doit se répliquer suffisamment chez l'homme pour **induire une réponse anticorps neutralisante équilibrée pour chacun des quatre sérotypes**.

Sixièmement, il est nécessaire que **la base génétique responsable de l'atténuation pour chacune des quatre composantes soit clairement définie** afin que la stabilité génétique puisse être surveillée pendant toutes les phases de fabrication et d'utilisation chez l'homme.

Les caractéristiques majeures du vaccin idéal contre la dengue sont donc :

- un bon profil de sécurité,
- une immunisation rapide nécessitant le moins d'injection possible,
- un équilibre entre immunogénicité et réactogénicité,
- être approprié pour un usage chez les jeunes enfants et sur les voyageurs en zone à risque,
- génétiquement stable,
- stimulant les anticorps neutralisants et l'immunité cellulaire TH1,
- une immunité longue et prolongée,
- une immunité équivalente contre les quatre sérotypes,
- ne pas contribuer à une immunopathogenèse (ADE induite par le vaccin),
- facilement stocké et transporté,
- abordable et rentable,

- les titres de neutralisation des quatre virus doivent être atteints quel que soit le statut immunitaire antérieur des individus vaccinés

Les difficultés dans la réalisation de ce vaccin sont donc nombreuses, d'où un travail de plusieurs années pour voir enfin le 1^{er} vaccin commercialisé en 2016.

2. Les étapes de développement d'un vaccin contre la dengue

Des découvertes scientifiques fondamentales ont permis le développement du vaccin. Il s'agit d'abord en 1944 de l'isolement et l'identification du sérotype 1 à Hawaï et du sérotype 2 en Nouvelle Guinée par Sabin et Schelsinger, puis de l'isolement et l'identification du 3^{ème} et 4^{ème} sérotype par W. Hammon en 1956. (61)

2.1. Construction et développement préclinique

Les deux volets du développement pharmaceutique d'un vaccin sont d'une part la production et la formulation, d'autre part l'élaboration des méthodes de contrôle et des spécifications qui serviront à la libération des lots et aux études de stabilité. Les développeurs doivent utiliser le guide de l'OMS, *WHO Guidelines on nonclinical evaluation of vaccines*, comme référence pour l'évaluation préclinique de leur vaccin candidat.

L'évaluation préclinique d'un vaccin vivant atténué contre la dengue comprend des tests *in vitro* et *in vivo*. Ils sont nécessaires avant le début de la phase clinique du programme de développement de vaccins. Ces tests doivent fournir des informations sur la sécurité et l'efficacité du vaccin candidat. Les tests peuvent se poursuivre parallèlement à la phase clinique du développement. Ils doivent inclure la caractérisation du produit à chaque étape de fabrication (y compris la quantification des contaminants tels que des protéines cellulaires et ADN), des études d'efficacité et d'immunogénicité. Bien qu'il n'existe pas de modèle animal qui imite précisément la maladie de la dengue chez l'homme, les modèles animaux ont été, et sont utilisés dans des études sur l'immunogénicité, l'efficacité, la toxicologie et la sécurité. (8)

2.1.1. Développement et caractérisation du candidat vaccin

Chacun des candidats vaccins à virus vivants atténués doivent être caractérisés pour définir autant que possible les marqueurs génétiques critiques de l'atténuation et les marqueurs phénotypiques qui suggèrent que le génome du virus de vaccin est resté stable après le passage sur culture tissulaire. Chaque virus vaccinal doit également être évalué pour déterminer si la base génétique de l'atténuation est suffisamment stable pour réduire le risque de réversion à la virulence, en utilisant des approches disponibles *in vivo* et *in vitro*. À cette fin, les études en laboratoire et sur les animaux peuvent permettre de définir des changements génétiques dans le génome du virus. Les marqueurs phénotypiques peuvent être utiles pour détecter les événements de réversion et pour différencier les souches de vaccin des souches de virus de type sauvage dans la surveillance épidémiologique suite à la vaccination humaine. La qualification de chaque souche vaccinée atténuée devrait inclure l'obtention de la séquence nucléotidique consensus du génome entier du candidat vaccin, en utilisant la séquence nucléotidique consensus du génome du virus parent comme comparateur. Ceci est essentiel pour documenter les mutations dans le génome du virus vaccinal qui peuvent être en corrélation avec son phénotype atténué. Il est également recommandé de documenter tous les phénotypes *in vitro* de virus vaccinés qui pourraient servir d'indicateurs de la stabilité des mutations qui différencient le virus vaccinal de son parent virulent. (8)

2.1.2. Immunogénicité et protection

L'évaluation des réponses immunitaires innées et adaptées chez les animaux fournit des preuves que le vaccin contre la dengue a répliqué dans l'hôte. Les animaux, en particulier les souris, sont également utiles pour évaluer les différents éléments de la réponse immunitaire à DENV. Bien qu'il n'y ait pas de corrélation immunitaire spécifique de protection, les anticorps dirigés contre la protéine E du virus neutralisent le virus et ont montré qu'ils protégeaient les animaux lorsqu'ils étaient activement induits par des vaccins expérimentaux ou lorsqu'ils étaient administrés passivement avant la provocation. Sur la base des données accumulées, il est généralement admis que la protection chez l'homme implique une réponse d'anticorps neutralisant spécifique au DENV. Cependant, une corrélation entre le titre des anticorps neutralisants dans le sérum et une protection, n'a pas été établie pour aucun des quatre sérotypes du virus. Le titrage des Ac neutralisants peut être déterminé *in vitro* à l'aide du test PRNT, que nous détaillerons juste après. Alors que l'activité de protection chez un modèle animal ne prédit pas nécessairement l'effet protecteur chez l'homme, elle fournit des informations utiles concernant la puissance du vaccin. La réponse immunitaire ou l'activité de protection de chacun des quatre sérotypes dans un vaccin DENV tétravalent doivent être évaluées, y compris la qualité de la réponse et toute interférence virologique et immunologique possible entre les sérotypes.(8)

Du fait de l'absence de modèle animal adapté, le test PRNT (Plaque Réduction Neutralisation Test) s'est montré comme le « gold standard » pour caractériser et mesurer le taux d'Ac anti-dengue circulant et donc évaluer le pouvoir neutralisant d'un sérum ou d'un vaccin. C'est la technique de séroneutralisation par réduction de plages de lyse.

Le test PRNT a été décrit pour la première fois dans les années 1950, puis adapté plus tard au virus de la dengue. La conception de base du PRNT permettait la détection de l'interaction virus-anticorps dans un tube à essai ou une plaque de microtitrage, puis de mesurer l'effet de l'anticorps sur l'infectivité virale par plaquage du mélange sur des cellules sensibles aux virus. En l'occurrence, ce sont les cellules Vero¹ qui sont utilisées pour le test PRNT pour la dengue. Les cellules sont recouvertes d'un milieu semi-solide qui limite la propagation du virus. Chaque virus qui déclenche une infection productive produit une zone localisée d'infection (une plaque), qui peut être détecté de diverses manières. Les plaques sont comptées et comparées à la concentration initiale du virus pour déterminer la réduction en pourcentage de l'infectivité virale totale. Dans le PRNT, l'échantillon de sérum testé est habituellement soumis à des dilutions en série avant mélange avec une quantité normalisée de virus. La concentration du virus est maintenue constante de sorte que, lorsqu'elle est ajoutée à des cellules sensibles et recouverte de milieux semi-solides, les plaques individuelles peuvent être discernées et comptées. De cette manière, on peut calculer les titres finals PRNT pour chaque échantillon de sérum à n'importe quel pourcentage de réduction sélectionné de

¹ Les cellules Vero sont des cellules épithéliales de rein de singe vert africain.

l'activité virale. La concentration de sérum nécessaire pour réduire le nombre de plaques de 50% (PRNT₅₀) par rapport au virus seul donne la mesure de la quantité d'anticorps et de leur efficacité. Les titres de neutralisation du sérum doivent être exprimés en UI. Un inconvénient du test PRNT est qu'il nécessite beaucoup de main-d'œuvre et n'est donc pas facilement utilisable pour un débit élevé, ce qui rend difficile son utilisation pour des essais à grande échelle de surveillance et de vaccins. (62)

2.1.3. Toxicité et sécurité

Le terme «toxicité» est associé aux conséquences indésirables de l'administration d'un médicament qui se rapporte à son effet direct dépendant de la dose chez l'animal. Ainsi, les études de toxicité impliquent une analyse minutieuse de tous les organes majeurs, ainsi que des tissus proches et distaux du site d'administration, pour détecter des effets toxiques directs imprévus typique d'un médicament sur une large gamme de doses, y compris des doses supérieures la dose cliniquement pertinente envisagée. Pour les vaccins vivants, l'accent est mis en phase préclinique sur la démonstration de la sécurité en raison de la réplication du virus vaccinal. De telles études sont conçues dans le but principal de démontrer que le vaccin est moins «virulent» chez l'hôte animal que les virus de type sauvage comparables et qu'il ne présente aucun tropisme inattendu ni la capacité de provoquer une réponse immunitaire néfaste. (8)

Comme nous l'avons déjà dit, il n'existe pas de modèle animal qui reproduise adéquatement la maladie de la dengue humaine. Cependant, les primates non humains et les souris peuvent fournir des informations utiles pour caractériser les virus.

Certains primates non humains dont les singes Rhesus (*Macaca mulatta*) et Cynomolgus (*Macaca fascicularis*) sont susceptibles d'être infectés par les virus de la dengue et de la fièvre jaune. Ces espèces sont reconnues par l'OMS comme de bons modèles pour évaluer le neurotropisme et le viscérotropisme des vaccins contre la fièvre jaune atténués et peuvent fournir des informations précieuses sur l'immunogénicité et la virémie induites par les candidats au vaccin contre la dengue. (63)

Lorsque c'est utile, un modèle de souris peut être sélectionné pour évaluer le potentiel d'un vaccin candidat pour provoquer une maladie par rapport à son virus parent de type sauvage. Dans une telle expérience, les titres de virus dans le sang, la rate, le foie, les ganglions lymphatiques, les poumons, le cerveau et d'autres tissus à différents temps post-infection peuvent être évalués. La souris AG129 déficiente en récepteur à l'interféron permet la réplication de tous les sérotypes de DENV. Une souche DENV-2 adaptée pour se répliquer dans la souris AG129 induit une maladie physiologiquement pertinente. À l'heure actuelle, la souris AG129 semble appropriée pour les études de sécurité, mais elles ne possèdent pas une réponse immunitaire innée intacte, ce qu'il faut prendre en compte dans l'interprétation des résultats. Pour cette même raison, il ne serait pas conseillé d'utiliser des souris AG129 pour des études classiques de toxicologie. D'autres souches de souris consanguines avec des gènes

supprimés sont en cours de recherche en tant que modèles d'infection et de maladie de DENV. (8)

En utilisant des souches parentales comme témoins, les scientifiques doivent prouver que les vaccins candidats ont une capacité réduite à infecter et à être transmis par les moustiques, notamment par *Ae. Aegypti*, qui ont été infectés dans un milieu de laboratoire contrôlé. (8)

2.2. Développement clinique

Le développement clinique se déroule traditionnellement en trois phases, auxquelles s'ajoute une phase 4 en post-commercialisation. (64)

La phase 1 est une étude de tolérance locale et systémique (effets indésirables) sur un petit groupe de personnes surveillées de près (par exemple 20-80). Elle permet aussi de tester une gamme de doses sûres. De plus, des informations préliminaires sur l'immunogénicité chez l'homme peuvent être obtenues.

L'étude de phase 2 permet de recueillir des données de sécurité/dose/efficacité dans la population cible, sur un plus grand groupe de personnes (plusieurs centaines), permettant de définir la dose optimale, le calendrier initial et le profil de sécurité. Les essais de phase 2b sont des essais de phase 2 qui ont été élargis ou étendus afin de détecter toute preuve préliminaire d'efficacité dans la population cible.

La phase 3 est une étude comparant l'efficacité et la sécurité du vaccin à tester versus un placebo ou un vaccin témoin. Elle est réalisée en situation réelle sur un grand échantillon (dite étude pivot).

La phase 4 après l'obtention de l'AMM va permettre d'affiner la connaissance sur le vaccin, notamment en mettant en évidence les effets indésirables rares et en relevant plus précisément la fréquence des effets indésirables. Cette phase d'étude post-commercialisation reste active jusqu'au retrait du vaccin s'il a lieu.

L'évaluation clinique des vaccins candidats à la dengue a plusieurs aspects uniques.

La dengue présente de nombreuses manifestations cliniques et pose des défis diagnostiques. Idéalement, un vaccin devrait être efficace contre toutes les formes de maladie de la dengue, allant de maladies fébriles aux formes sévères. Les essais doivent donc être suffisamment importants pour traiter l'impact d'un vaccin sur les différentes formes cliniques de dengue. De même, l'évaluation à long terme des volontaires sera nécessaire pour démontrer l'absence de preuves de renforcement immunitaire ou maladie grave. (64)

Des essais doivent avoir lieu dans plusieurs pays, en particulier en Asie et en Amérique, en raison des caractéristiques épidémiologiques distinctes et des virus circulant dans chaque région. Le pic épidémique varie quelque peu selon le moment et l'emplacement exact d'une année à l'autre, même dans les pays d'endémie, ainsi les données de surveillance à long terme

de la dengue sur le site potentiel d'essais du vaccin sont cruciales et, malgré tout, l'imprévisibilité du moment et de l'emplacement ajoute un niveau de complexité aux calculs de la taille de l'échantillon d'essai. (64)

Il est absolument nécessaire avant de débiter les études cliniques de déterminer un critère primaire d'évaluation de l'efficacité et des critères secondaires. D'après l'OMS, l'option la plus définitive est de confirmer la présence du virus de la dengue chez un patient présentant des signes et/ou des symptômes de la maladie de dengue, indépendamment de la gravité. Un tel critère nécessite un système de surveillance actif qui identifie toutes les maladies fébriles pour éviter l'absence de détection de la dengue légère. Chaque protocole doit préciser les signes cliniques et les symptômes utilisés pour définir les cas de dengue et, par-là, déclencher la nécessité d'obtenir des échantillons cliniques pour confirmer la présence du virus. Une deuxième option pour un critère d'évaluation primaire, mais pouvant être beaucoup moins pratique, consiste à étudier la dengue sévèrement confirmée par voie virologique, telle que déterminée par la surveillance hospitalière. On peut s'attendre à ce que cette option étende la durée et le coût de l'essai de phase 3 de façon significative, à moins qu'elle ne soit effectuée dans le cadre d'une épidémie importante et prolongée, qui ne peut être prédite avec exactitude d'une saison à l'autre. Dans tous les cas, un diagnostic virologique doit confirmer les critères primaires pour chaque essai. Il est généralement possible de faire un diagnostic virologique soit par isolement du virus, par RT-PCR, soit par un marqueur d'antigène tel que NS1. La standardisation des méthodes de diagnostic viral est encouragée. Toutefois, les méthodes de diagnostic viral, en particulier l'isolement du virus et les dosages à l'aide de PCR, sont plus sensibles au cours des cinq premiers jours d'infection.(64)

Les critères secondaires d'efficacité pourraient inclure : (64)

- l'efficacité contre chacun des quatre types de virus distincts ;
- l'efficacité après la première ou deux doses de vaccin ;
- l'effet sur la durée de l'hospitalisation pour la dengue ;
- la gravité des cas de dengue confirmés en laboratoire ;
- l'efficacité du vaccin contre une infection à la dengue "possible" ou "probable".

L'ensemble des directives pour l'évaluation clinique des vaccins contre la dengue dans les zones endémiques élaboré l'OMS se trouvent dans le *Guidelines for the clinical evaluation of dengue vaccines in endemic areas* de 2008.

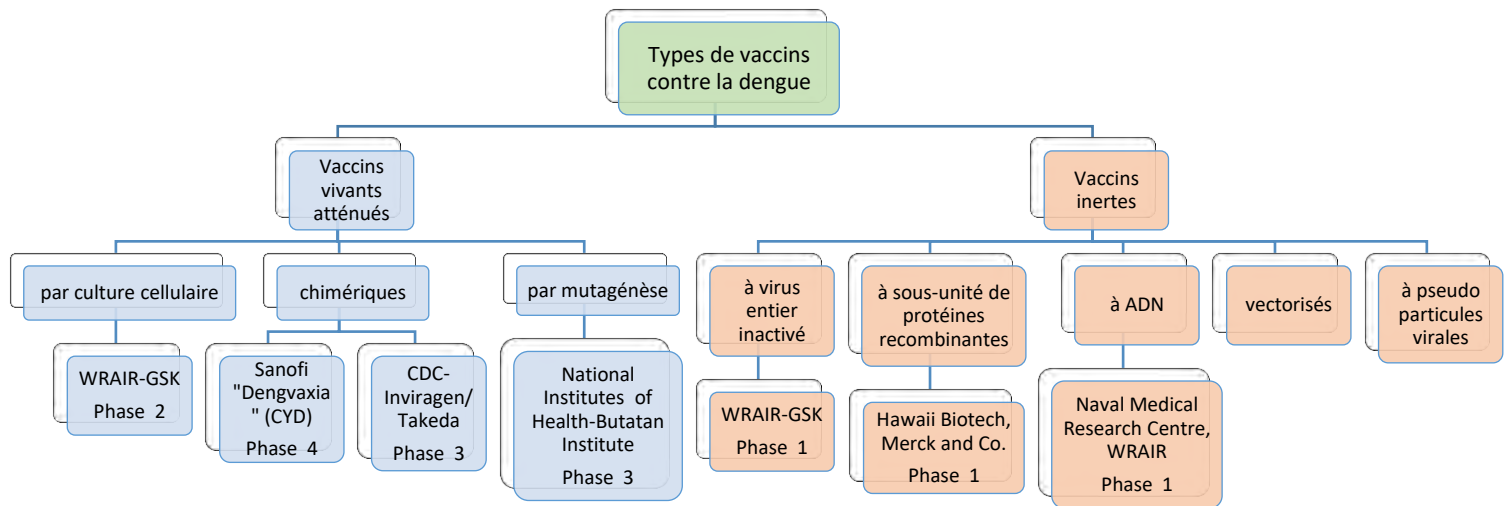
2.3. De nombreux essais de fabrication de vaccins

Malgré le challenge énorme que représente la fabrication d'un vaccin tétravalent contre la dengue, plusieurs essais ont été menés. Motivés par la propagation continue et non contrôlée de la maladie dans le monde entier, les chercheurs, les organismes de financement, les responsables de l'élaboration des politiques et les fabricants de vaccins ont suscité un regain d'intérêt pour la dengue. La création de partenariats public-privé a facilité le processus. De plus, des études sur la charge de morbidité ont quantifié le coût de la dengue tant pour le

secteur public que pour les ménages et ont démontré la rentabilité potentielle d'un vaccin contre la dengue. (3)

De plus, le succès dans le développement, l'obtention d'une autorisation de commercialisation et l'utilisation clinique de vaccins vivants et atténués contre les flavivirus, tels que les vaccins contre la fièvre jaune 17D et l'encéphalite japonaise SA14-14-2, ont permis d'envisager qu'un vaccin contre la dengue convenablement atténué pourrait être très efficace. (8)

C'est pourquoi comme le montre l'organigramme ci-dessous, les efforts visant à développer un vaccin contre la dengue ont porté principalement au début sur les virus vivants atténués avec aujourd'hui plusieurs vaccins en phase clinique avancée et un de déjà commercialisé, Dengvaxia®. Les vaccins inertes ne sont seulement qu'en phase 1 de développement clinique.



(65) **Figure 22. Classification des candidats/vaccins contre la dengue et leur phase de développement.**

Les approches des candidats vaccin les plus avancés sont basés sur l'ensemble du virus de la dengue. Par conséquent, les réponses immunitaires suscitées par ces vaccins pourraient être trop similaires aux infections naturelles du DENV et induire le phénomène ADE. Le pouvoir protecteur de ces vaccins candidats pourrait donc être remis en question.

C'est ce que nous allons vérifier avec l'analyse des résultats précliniques et cliniques de l'unique vaccin commercialisé à ce jour : Dengvaxia®.

3. Dengvaxia®

3.1. Présentation

Plusieurs essais de fabrication d'un vaccin contre la dengue ont été déterminants dans l'élaboration de Dengvaxia®. En 1944-1945, Sabin et Schelsinger développent le premier vaccin monovalent contre la dengue, un vaccin vivant atténué de sérotype DENV1. Puis en 1970-1980, le Professeur Natth Bhamarapavati à l'Université Mahidol (Bangkok - Thaïlande) réussit à fabriquer un vaccin vivant atténué tétravalent contre les quatre sérotypes de la dengue. Les résultats des investigations cliniques menées avec ce vaccin en Thaïlande laissent entrevoir la possibilité d'un vaccin tétravalent contre la dengue. (61)

Dengvaxia® est donc un vaccin vivant atténué composé des sérotypes 1, 2, 3, et 4. Chaque sérotype du virus de la dengue est obtenu séparément par recombinaison génétique (technique de l'ADN recombinant) en remplaçant les gènes codant pour les protéines prM et E du génome du virus de la fièvre jaune (17 D) par les gènes correspondants des 4 sérotypes sauvages du virus de la dengue. (22)

Le vaccin contient 4.5-6.0 log₁₀ de la dose infectieuse médiane en culture cellulaire (CCID50) des virus vaccinaux vivants atténués de chacun des sérotypes. (66)

Il est disponible en flacon monodose ou multidoses (5 doses) et se présente sous forme de lyophilisat, à reconstituer avant l'injection avec du NaCl stérile concentré à 0,4% pour le flacon monodose et à 0,9% pour la présentation multidoses. Une fois reconstitué, une dose de 0,5 ml est administrée en sous-cutané (SC). Ce vaccin ne contient ni adjuvant ni conservateur. Il se conserve non reconstitué pendant 36 mois à une température entre 2°C et 8°C. Une fois reconstitué ou ouvert, il ne peut être conservé seulement 6 heures à ces mêmes températures. (22)

Le schéma vaccinal a été fixé à trois injections administrées à 6 mois d'intervalle. Dans les premières homologations obtenues, le vaccin est indiqué pour la prévention de la dengue due aux virus de sérotypes 1, 2, 3 et 4 chez les sujets âgés de 9 à 45 ans ou de 9 à 60 ans (selon l'homologation) qui vivent dans des zones d'endémie de la dengue. (22)

Le fabricant a mentionné une contre-indication à la vaccination chez les sujets suivants: (22)

- les personnes présentant des antécédents de réactions allergiques graves à un quelconque composant du vaccin contre la dengue, ou ayant présenté de telles réactions après une administration précédente du vaccin contre la dengue ou d'un vaccin contenant les mêmes composants ;
- les personnes atteintes d'un déficit immunitaire congénital ou acquis compromettant l'immunité à médiation cellulaire ;
- les personnes présentant une infection à VIH symptomatique, ou une infection à VIH asymptomatique accompagnée de signes d'altération de la fonction immunitaire;
- les femmes enceintes ou allaitantes.

Le fabricant a en outre indiqué que la vaccination devrait être retardée chez les personnes présentant un état fébrile modéré à sévère ou une maladie aiguë.

3.2. Construction

Chacun des quatre virus recombinant du vaccin contre la dengue (CYD 1-4) a été construit en substituant les gènes codant pour les protéines prémembranaires (prM) et l'enveloppe (E) du virus la fièvre jaune 17D (YF 17D) avec ceux d'un virus de la dengue de type sauvage. Ces virus sauvages étaient la souche PUO-359/TVP-1140 thaïlandaise pour le sérotype 1, la souche PUO-218 thaïlandaise pour le sérotype 2, la souche PaH881/88 thaïlandaise pour le sérotype 3 et la souche 1228 (TVP-980) indonésienne pour le sérotype 4. Le CYD TDV (tétravalent) est produit en combinant les quatre virus CYD dans une seule préparation de vaccin contenant 5 log 10 CCID50 de chaque sérotype ('formulation 5555'). (67)

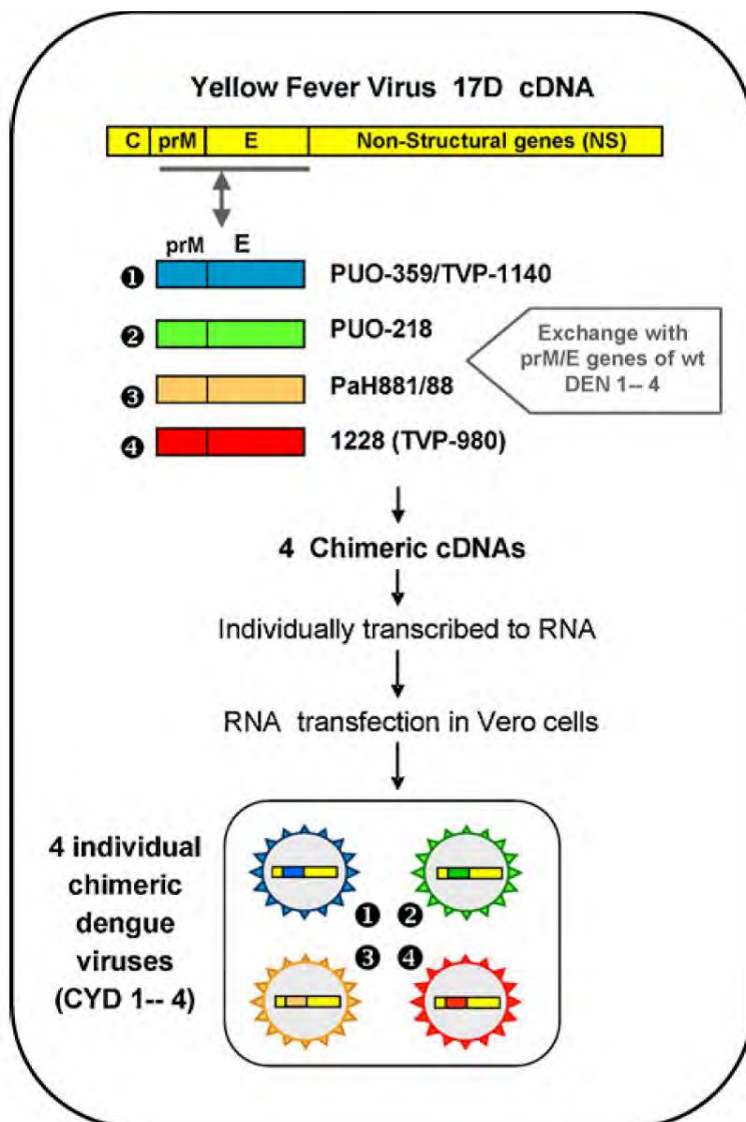


Figure 23. Construction du vaccin. (67)

Il a été entrepris de poursuivre parallèlement aux voies de développement, les voies d'industrialisation. En effet, l'extension et le développement industriel ont été initiés avant le début de l'évaluation de l'efficacité et se sont poursuivis parallèlement afin que, en cas de résultat favorable, le vaccin puisse être produit de façon cohérente, atténuant ainsi le risque d'approvisionnement et permettant de commencer la vaccination contre la dengue où c'est le plus urgent. (67)

3.3. Etudes précliniques

Les études précliniques ont démontré que les souches candidates pour le vaccin sont compétentes pour la réplication, sont génétiquement stables et ne deviennent pas plus neurovirulentes après 20 passages dans des cellules Vero. Le vaccin est génétiquement et phénotypiquement stable, non hépatotrope, moins neurovirulent que le vaccin de la fièvre jaune 17D et n'infeste pas les moustiques par voie orale. (67)

3.3.1. Stabilité génétique et phénotypique

Le génome du vaccin contre la fièvre jaune est remarquablement stable, que ce soit *in vitro* ou *in vivo*, ce qui pourrait être attribué au très faible taux d'erreur de l'ARN polymérase virale. Comme cette enzyme est aussi responsable de la réplication des CYD, il était attendu que la stabilité des génomes des CYD1-4 soit haute. La séquence complète de chacun des génomes CYD1-4 a été établie à différents stades tout au long de la production de lots de vaccin. Quelques mutations présentes au début du processus sont apparues lors de l'étape entre (P7) et (P8) et ont ensuite été conservées de manière stable tout au long du processus, reflétant probablement l'adaptation aux cellules Vero. Après d'autres passages, les quatre virus ont affiché une stabilité génétique très élevée, sans changement entre les lots de semences mères et les lots de travail malgré des changements importants dans le processus, y compris l'augmentation de la culture cellulaire, l'élimination du sérum du milieu de culture et la croissance dans les bioréacteurs aux étapes ultérieures. Seules quelques variations génétiques ont été observées au-delà des lots de travail, qui étaient souvent partielles (mélange de la séquence initiale et de la nouvelle) et apparaissaient après un nombre relativement élevé de cycles de réplication du virus. Les variations sur prM et E ont été jugées sans impact sur la neurovirulence chez la souris, et aucune des variations dans les gènes codant pour les protéines non structurales et ceux de la capsid, non hérités de YF 17D étaient à des positions d'atténuation. Le séquençage des virus vaccinés isolés sur quelques humains après la vaccination ne présentait aucune mutation par rapport aux séquences granulométriques d'origine, à l'exception d'une mutation silencieuse sur le sérotype 4. (67)

Malgré son importance dans l'évaluation de la stabilité génétique, le séquençage du génome ne peut pas fournir des informations importantes sur les conséquences biologiques potentielles d'une mutation. Cependant, les mutations affectant l'efficacité de l'infection ou la croissance et la transmission du virus dans la culture cellulaire modifient généralement le phénotype de la plaque. La cohérence du phénotype de la plaque tout au long de la production du lot de vaccination en utilisant un test de phénotype de taille de plaque a été mesurée. Le phénotype

de la taille de la plaque a été jugé stable à toutes les étapes de production, pour les quatre virus CYD. La stabilité phénotypique a en plus été évaluée sur les modèles animaux. (67)

3.3.2. Immunogénicité *in vitro*

Les cellules dendritiques de la peau sont parmi les premières cellules à rencontrer un inoculum viral et sont également les cellules présentatrices d'antigène les plus efficaces impliquées dans la réponse immunitaire primaire. Les conséquences immunologiques de l'infection avec les virus CYD par rapport à leurs parents ont été étudiées. Les scientifiques ont mesuré l'infectiosité de CYD1-4 dans les DC humaines dérivées de monocytes et déterminé les conséquences de l'infection en termes d'activation et de maturation cellulaire, et la sécrétion des cytokines pro et anti-inflammatoires, de chimiokines et des interférons de type I.

Leur conclusion était que les virus CYD1-4 induisent une maturation continue et une réponse contrôlée, accompagnée d'une production limitée de cytokines inflammatoires et d'une expression cohérente de l'IFN anti-viral de type I, en accord avec leur profil de sécurité clinique et leur immunogénicité. (67)

3.3.3. Sécurité et efficacité *in vivo*

Après l'inoculation intracérébrale chez les souris et les singes, les quatre virus CYD ont été considérablement atténués, même par rapport au vaccin parental YFV 17D. Le test formel de neurovirulence chez le singe a consisté à inoculer dans le lobe frontal du cortex cérébral soit la formulation du vaccin constituée d'environ $5 \log_{10}$ UFP¹ de chaque virus ChimeriVax-DEN1-4 ($5.6 \log_{10}$ UFP total) soit le vaccin contre la fièvre jaune 17D ($4.7 \log_{10}$ UFP). Aucun vaccin n'a produit des résultats histopathologiques dans les tissus non-neuronaux. Dans les tissus nerveux, la neurovirulence du vaccin tétravalent ChimeriVax-DEN était minime. Les lésions liées au vaccin dans les méninges et dans le cerveau ou la moelle épinière des singes des deux groupes étaient limitées à une inflammation minimale à modérée. Ces lésions ont été observées chez 10 (91%) des 11 singes traités par YFVAX et chez 6 (55%) des 11 singes inoculés avec le vaccin tétravalent ChimeriVax-DEN. De plus, les lésions cérébrales produites par le vaccin tétravalent ChimeriVax-DEN étaient significativement moins sévères que celles observées avec la souche 17D du vaccin de la fièvre jaune. (68)

L'immunogénicité et l'efficacité protectrice de quatre formulations tétravalentes se différenciant par les doses de chaque sérotype ont été évaluées chez des singes cynomolgus. Les singes dans chaque groupe ont reçu une dose unique en sous-cutanée (SC) avec l'une des quatre formulations tétravalentes : 5,5,5,5 [groupe 1], 3,5,5,3 [groupe 2], 5,5,5,3 [groupe 3],

¹ Unité Formatrice de Plaque : la plus petite quantité d'une suspension virale capable de former une plaque sur des cultures en couche monocellulaire.

3,3,3,3 [groupe 4] \log_{10} TCID₅₀¹ des virus ChimeriVax-DEN1, ChimeriVax-DEN2, chimeriVax-DEN3 et ChimeriVax-DEN4, respectivement. (68)

Tous les singes ont développé de faibles niveaux de virémie post-vaccination et tous les singes qui avaient reçu des concentrations égales soit d'une formulation à dose élevée soit à une dose faible étaient séropositifs contre les quatre sérotypes du virus.

Formulation	Monkey	PRNT ₅₀ against:			
		DEN1	DEN2	DEN3	DEN4
5,5,5,5 (group 1)	F20967F	320	5,120	1,280	>2,560
	F21343M	40	80	40	640
	F21786F	160	1,280	320	1,280
	F213114F	40	160	320	640
	F21339M	160	1,280	320	>2,560
	F21386F	160	1,280	320	640
GMT ^b		113	718	285	1,140
3,3,3,3 (group 4)	F209108F	160	160	160	>2,560
	F21311M	40	40	160	1,280
	F18172F	320	20	320	640
	F20788F	80	320	2,560	640
	F21522M	80	80	80	1,280
	F21570F	20	10	2,560	>2,560
GMT		80	56	403	1,280
3,5,5,3 (group 2)	F21501M	80	1,280	640	640
	F212117F	320	<10	10	<10
	F21355M	40	80	2,560	>1,280
	F20977F	10	2,560	320	<10
	F21534M	40	40	320	<10
	F21565F	640	>10,240	640	>1,280
GMT		80	218	320	31
5,5,5,3 (group 3)	F21342M	320	320	10,240	1,280
	F212105F	80	20	1,280	160
	F21544M	160	<10	320	<10
	F21784F	2,560	160	5,120	>1,280
	F21149M	10	40	<10	<10
	F21384F	80	40	640	320
GMT		142	34	489	66

Figure 24. Réponse en Ac neutralisants (PRNT₅₀) à un mois post-immunisation avec une formulation tétravalente. (68)

Comme le montre la figure 24, le taux d'Ac neutralisants mesuré à un mois après la vaccination était très hétérogène au sein d'un même groupe entre les quatre sérotypes et au sein du même groupe si l'on compare les taux pour un même sérotype. Ces résultats

¹ Dose infectieuse médiane en culture de tissus. La différence théorique entre PFU et TCID₅₀ est de 0,16 \log_{10} . Cependant, elle n'est jamais détectée en raison de la variabilité des essais biologiques (écart type, +/- 0,2 à +/- 0,3 \log_{10}). (69)

démontrent un échec de la production symétrique d'anticorps neutralisants pour chacun des quatre DENV administrés sous forme de mélanges. L'hypothèse d'une interférence entre les quatre souches est à privilégier pour expliquer ces réponses immunitaires asymétriques.

Pour évaluer l'immunité protectrice, 22 des 24 singes dans les groupes originaux ont été randomisés dans quatre nouveaux groupes et ont reçu 6 mois plus tard une injection d'un sérotype sauvage virulent. Tous les animaux précédemment vaccinés ont été protégés (sans virémie détectable) contre une provocation avec le virus DEN2 ou DEN3, alors que 83% (cinq de six) ont été protégés contre la provocation du virus DEN1 ou DEN4. Ainsi les résultats ne sont pas totalement satisfaisants puisque certains singes n'avaient pas une immunité protectrice solide face la souche sauvage et ont développé une virémie. De plus, tous les singes soumis à l'injection d'une souche sauvage du virus DEN4 n'ont pas développé des niveaux élevés d'anticorps neutralisants significativement plus élevés que ceux des groupes témoins (singes n'ayant pas reçu de vaccin). (68)

Des études ont entrepris d'expliquer cette interférence entre les sérotypes. Elle pourrait avoir au moins deux origines : une infectiosité plus élevée d'un ou plusieurs sérotypes, entraînant éventuellement une compétition au niveau de la réplication et/ou une compétition immunitaire liée à l'immunodominance¹ de certains épitopes T et/ou B. (63)

En effet, chez le singe, plusieurs études ont mis en évidence une hiérarchie des sérotypes dans leur capacité à stimuler la réponse immunitaire humorale : CYD4 > CYD1 > CYD3 > CYD2. (63,70) La prédominance de CYD4 pourrait être principalement liée à ses taux de réplication plus élevés, comme en témoigne sa prédominance dans les cas de virémie. Cependant, une immunogénicité intrinsèque pourrait également être impliquée parce que le CYD3, qui induit également une virémie lorsqu'il est administré dans un vaccin monovalent, n'induit pas des niveaux élevés d'anticorps neutralisants. D'autre part, CYD1 peut induire des niveaux d'anticorps neutralisants élevés en l'absence de virémie. (63)

Dans une autre étude sur le singe utilisant la formulation [5,5,5,3], alors que la réponse en anticorps neutralisants anti-CYD4 était très faible après une première injection du vaccin, l'injection d'une deuxième dose vaccinale de cette même formulation, 1 mois après, a induit une réponse dominante du CYD4 sur les sérotypes CYD2 et CYD3. Ces résultats suggèrent également que le sérotype 4 pourrait être intrinsèquement immunodominant chez les singes. (63)

De plus, grâce à diverses expériences on a pu mettre en évidence le rôle de certains paramètres dans les interférences entre sérotypes chez le singe. Tout d'abord, il a été observé qu'une pré-immunité hétérologue par un flavivirus (virus de la fièvre jaune ou sérotype

¹ Certains épitopes sont dits immunodominants parce qu'ils induisent une réponse immune plus forte que les autres épitopes de la molécule d'antigène.

hétérologue du DENV) avant la vaccination tétravalente induisait une réponse plus large et plus forte. L'administration de deux vaccins bivalents complémentaires à des sites anatomiques drainés par des ganglions lymphatiques différents ou l'inclusion d'une dose de rappel à 1 an après la première vaccination ont permis de moduler la réponse immunitaire finale et d'induire une réponse significative contre les quatre sérotypes. Cependant, il s'agit là de paramètres observés sur des singes qui pourraient être différents chez l'homme. (63)

3.4. Etudes de phase 1

3.4.1. Etude d'un vaccin monovalent sur des adultes en zone non endémique

Un essai randomisé en double aveugle de phase I a été mené pour évaluer la sécurité, la tolérance et l'immunogénicité du ChimeriVax™-DEN2 par rapport à celle de YF-VAX. Quarante-deux adultes en bonne santé âgés de 18 à 49 ans, sans immunité préalable au virus de la fièvre jaune, à l'encéphalite japonaise (EncJ) ou à l'encéphalite à tiques (EncT) ont reçu au hasard une dose unique de ChimeriVax™-DEN2 (soit une dose élevée, 5 log UFP ; soit une faible dose, 3 log UFP) ou de YF-VAX® par voie SC. Pour déterminer l'effet de la pré-immunité au virus de la fièvre jaune sur le vaccin ChimeriVax™-DEN2, 14 sujets précédemment vaccinés par YF-VAX® ont reçu une dose élevée de ChimeriVax™-DEN2 dans une étude ouverte. (71)

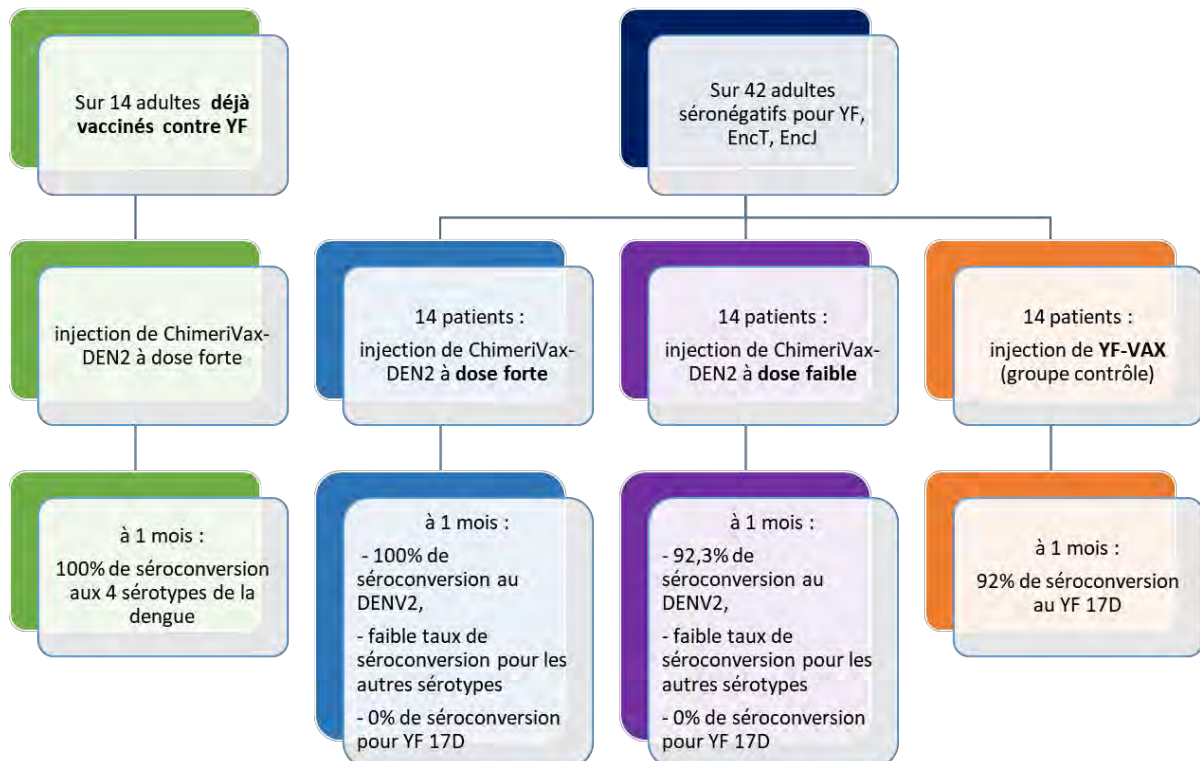


Figure 25. Vue d'ensemble simplifiée de l'étude et des résultats.

100% et 92,3% des sujets séronégatifs au virus de la fièvre jaune inoculés avec 5,0 et 3,0 log₁₀ UFP de ChimeriVax™-DEN2, respectivement, ont été séroconvertis au DENV2 sauvage (souche 16681). 92% des sujets inoculés avec YF-VAX® ont été séroconvertis contre le virus YF 17D. Aucun des sujets séronégatifs au virus de la fièvre jaune inoculé avec ChimeriVax™-DEN2 ont été séroconverti au virus YF 17D. De faibles taux de séroconversion aux sérotypes hétérologues DEN 1, 3 et 4 ont été observés sur les sujets séronégatifs au YF inoculés avec ChimeriVax™-DEN2. En revanche, 100% des sujets immunisés contre YF et inoculé avec ChimeriVax™-DEN2 ont été séroconvertis aux 4 sérotypes du DENV et de manière surprenante, les niveaux d'anticorps neutralisants contre les virus DEN 1, 2 et 3 sur ces sujets ont persisté après 1 an. (71)

La plupart des événements indésirables étaient similaires à YF-VAX® et d'intensité légère à modérée, sans effets secondaires graves.

Ces données ont démontré que le profil de sécurité et d'immunogénicité du vaccin ChimeriVax™ -DEN2 est cohérent avec celui de YF-VAX® et que la préimmunité au virus YF n'interfère pas avec l'immunisation ChimeriVax™-DEN2, mais induit une réponse en anticorps durable et croisée aux 4 sérotypes du DENV. (71)

La chimère monovalente du sérotype 2 évaluée sur des adultes sains a donc été jugée sûre et immunogène. Par conséquent, l'étape suivante a été de tester une formulation tétravalente de vaccin contre la dengue (TDV) sur des adultes sains.

3.4.2. Etude d'une formulation tétravalente sur des adultes en zone non endémique

La sécurité et l'immunogénicité du TDV a été évalué chez soixante-six adultes sains. Pour l'inclusion dans l'étude, l'infection ou la vaccination par un *Flavivirus* ou une résidence de 12 semaines dans une zone endémique élevée de la dengue ont été exclues. Les 66 adultes ont été randomisés dans 2 groupes de 33 :

- le groupe 1 a reçu 3 injections de TDV aux mois 0, 4 et 12-15,
- le groupe 2 a reçu le placebo de NaCl au mois 0 puis 2 injections de TDV aux mois 4 et 12-15.

Chaque dose de 0,5 mL, contenant environ 5 log₁₀ TCID₅₀ de chaque sérotype du virus de la dengue recombinante, a été administrée par voie sous-cutanée dans le deltoïde droit, tout comme le placebo. (69)

Les effets indésirables les plus répandues étaient des céphalées, des malaises et des myalgies mais dans l'ensemble le vaccin a été bien toléré par tous les participants. Autre point positif, la réponse immunitaire a augmenté avec des doses de vaccin successives. Tous les participants ont été séroconvertis contre les 4 sérotypes après avoir reçu 3 doses à 0, 4 et 12-15 mois, et presque tous séroconvertis après 2 doses, réparties entre 8 et 11 mois. En point négatif, de faibles taux de virémie ont été observés principalement contre le DENV-4. (69)

3.4.3. Etude d'une formulation tétravalente en zone endémique

Une fois rassuré sur l'immunogénicité et la sécurité du TDV chez des adultes naïfs, des données étaient nécessaires sur les populations en zone endémique et sur des enfants et adolescents.

Dans une étude de phase I aux Philippines, randomisée, contrôlée, en simple-aveugle (l'observateur), les groupes de participants âgés de 2-5 ans, de 6-11 ans, de 12-17 ans et de 18-45 ans ont reçu :

- soit trois vaccinations de TDV aux cours des mois 0, 3,5 et 12
- soit une vaccination typhoïde au mois 0 puis deux de TDV aux mois 3,5 et 12.

Ils ont été suivis pour évaluer la sécurité (y compris la sécurité biologique et la virémie du virus vaccinal) et l'immunogénicité.(72)

Aucun incident néfaste grave et aucune tendance significative dans les paramètres de sécurité biologique n'ont été signalés. La douleur au site d'injection, les maux de tête, les malaises, les myalgies, la fièvre et l'asthénie ont été signalés comme effets indésirables les plus fréquents, mais d'intensité légère à modérée dans la plupart des cas et transitoire. La réactogénicité n'a pas augmenté avec les vaccinations successives et n'a pas été plus élevée chez les enfants que chez les adultes et les adolescents. Par contre, des niveaux faibles de virémie vaccinale ont été détectés dans les deux groupes après chaque vaccin TDV.

Après trois vaccinations TDV, les taux de séropositivité contre les quatre sérotypes étaient supérieur à 91% chez les 2-5 ans, à 88% chez les 6-11 ans, à 83% chez les 12-15 ans et de 100% pour tous les sérotypes chez les adultes. Une réponse similaire a été observée après deux doses pour le groupe à 2 injections de TDV. (72)

Ainsi un schéma vaccinal de trois vaccinations TDV administrées au cours d'une année ou deux vaccinations TDV ayant plus de 8 mois d'intervalle a permis une réponse équilibrée des anticorps aux quatre sérotypes de la dengue dans cette population exposée au flavivirus, y compris chez les enfants.

3.5. Etudes de phase 2

3.5.1. Etude sur des adultes pour tester différentes formulations

Un essai multicentrique de phase II en double aveugle randomisé a été mené chez des adultes américains en bonne santé pour tester diverses formulations tétravalentes pour le vaccin CYD-TDV : CYD-TDV 5555 ($\approx 5 \log_{10}$ TCID₅₀ des sérotypes 1-4), CYD-TDV 5553 ($\approx 5 \log_{10}$ TCID₅₀ des sérotypes 1-3 et $\approx 3 \log_{10}$ TCID₅₀ du sérotype 4) et CYD-TDV 4444 ($\approx 4 \log_{10}$ TCID₅₀ des sérotypes 1-4). Les vaccins ont été administrés à 0, 6 et 12 mois. L'immunogénicité a été évaluée à l'aide du test de neutralisation de la réduction de plaque.(73)

Les résultats de sécurité/réactogénicité étaient semblables pour les trois formulations de vaccin, bien que le pourcentage de participants déclarant des réactions du site d'injection sollicité soit inférieur avec CYD-TDV 4444 que dans les deux autres formulations. Tous les événements indésirables graves n'étaient pas liés à la vaccination.

La réduction de la dose d'antigène du sérotype 4 (formulation 5553) crée un déséquilibre dans la réponse immunitaire à CYD-TDV. Les réponses immunitaires à CYD-TDV 5555 étaient légèrement supérieures à celles de la formulation 4444. Par conséquent, la formulation contenant une dose infectieuse à 5 log₁₀ TCID₅₀ de chaque sérotype a été utilisée pour les prochaines études.(73)

3.5.2. Etude sur des enfants en zone endémique asiatique

Un essai randomisé et contrôlé de phase IIb a été mené sur 4002 écoliers de 4 à 11 ans dans la province de Ratchaburi, en Thaïlande. Deux groupes ont été définis au hasard. Un groupe a reçu une dose de vaccin aux mois 0, 6 et 12. Le groupe contrôle a été séparé en deux cohortes : l'une a reçu une première injection du vaccin contre la rage inactivé (Verorab, Sanofi Pasteur, Lyon France) puis deux injections de placebo à base de NaCl, et l'autre trois injections de NaCl aux mois 0, 6 et 12. Toutes les maladies fébriles aiguës ont été étudiées. La virémie de la dengue a été confirmée par la RT-PCR spécifique au sérotype et test ELISA de la protéine NS1. L'objectif principal était d'évaluer l'efficacité protectrice contre la dengue symptomatique confirmée virologiquement, indépendamment de la gravité ou du sérotype, se produisant 1 mois ou plus après la troisième injection (analyse par protocole). (74)

	Dengue vaccine		Control		Efficacy	
	Person-years at risk	Cases or episodes*	Person-years at risk	Cases or episodes*	% (95% CI)	Heterogeneity p value†
>28 days after three injections (per-protocol analysis)						
Cases	2522	45	1251	32	30.2% (-13.4 to 56.6)	0.0340
Serotype 1 episodes	2536	9	1251	10	55.6% (-21.6 to 84.0)	..
Serotype 2 episodes	2510	31	1250	17	9.2% (-75.0 to 51.3)	0.0309
Serotype 3 episodes	2541	1	1257	2	75.3% (-375.0 to 99.6)	..
Serotype 4 episodes	2542	0	1263	4	100.0% (24.8 to 100.0)	..
NS1-antigen positive only episodes	2542	4	1265	0	ND	..
>28 days after two injections						
Cases	3824	61	1905	47	35.3% (3.3 to 56.5)	0.0057
Serotype 1 episodes	3855	10	1921	16	68.8% (27.0 to 87.4)	..
Serotype 2 episodes	3824	44	1918	22	-0.3% (-75.8 to 41.1)	0.0009
Serotype 3 episodes	3860	2	1924	6	83.4% (7.1 to 98.4)	..
Serotype 4 episodes	3864	1	1934	4	87.5% (-26.5 to 99.7)	..
NS1-antigen positive only episodes	3863	4	1936	1	-100.5% (-9771.8 to 80.2)	..
After at least one injection (intention-to-treat analysis)						
Cases	5292	76	2630	58	34.9% (6.7 to 54.3)	0.0027
Serotype 1 episodes	5343	14	2666	18	61.2% (17.4 to 82.1)	..
Serotype 2 episodes	5312	52	2662	27	3.5% (-59.8 to 40.5)	0.0007
Serotype 3 episodes	5348	4	2667	11	81.9% (38.8 to 95.8)	..
Serotype 4 episodes	5353	1	2679	5	90.0% (10.6 to 99.8)	..
NS1-antigen positive only episodes	5351	5	2681	1	-150.5% (-11748.3 to 72.0)	..

Figure 26. Efficacité du CYD mesurée par rapport au nombre de cas virologiquement confirmés de dengue.(67)

Comme nous le résume la figure 26, l'efficacité globale de CYD-TDV après 3 doses a été seulement de 30,2% (95% IC : -13,4 à 56,6). En outre, l'efficacité était très variable entre les différents sérotypes :

- 55,6% (IC 95% : -21,6 à 84,0) pour DENV-1,
- 9,2% (95% CI : -75,0 à 51,3) pour DENV-2,
- 75,3% (IC 95% : -375,0 à 99,6) pour DENV-3,
- 100% (IC à 95% : 24,8 à 100,0) pour DENV -4.

Contrairement aux études précédentes l'efficacité n'augmente pas avec le nombre d'injection vaccinale alors que le niveau d'Ac lui augmente bien. Ce qui signifierait que seule l'immunité humorale n'est pas suffisante pour offrir une forte protection et que l'immunité cellulaire a bien son importance dans la réponse à une infection contre la dengue.

L'efficacité particulièrement basse (9,2%) contre le DENV-2 dans cette étude peut être attribuée aux raisons suivantes : (65)

- le géotype du DENV-2 circulant en Thaïlande avait une inadéquation antigénique avec la souche du virus du vaccin en raison de mutations sur la glycoprotéine E ;
- le test PRNT utilisé pour déterminer les titres d'anticorps neutralisants au cours des essais a été effectué dans des cellules Vero qui n'ont pas les récepteurs Fc γ sur la surface de la cellule. Comme le phénomène ADE peut jouer un rôle important *in vivo* en utilisant ces récepteurs, ce dosage peut ne pas prédire réellement l'efficacité du vaccin ;
- étant donné que le vaccin contenait de nombreux épitopes à effet croisé, il est possible qu'intervienne le potentiel de neutralisation des anticorps *in vivo* conduisant à une faible efficacité.

3.5.3. Etude sur des enfants en zone endémique américaine

Un autre essai randomisé, en aveugle et contrôlé de phase II a été mené sur des enfants et adolescents de 9 à 16 ans en Amérique latine. Les volontaires ont reçu :

- soit 3 doses de CYD-TDV à 0, 6 et 12 mois,
- soit du placebo (NaCl) à 0 et 6 mois puis un vaccin tétanique ou diphtérique ou de coqueluche acellulaire en troisième injection à 12 mois. (75)

Après la troisième dose de CYD-TDV, 100%, 98,6% et 93,4% des participants étaient séropositifs pour au moins 2, au moins 3 ou les 4 sérotypes, respectivement. Les vaccinés séropositifs pour les anticorps contre le flavivirus avant l'immunisation, avaient des titres d'anticorps plus élevés lors de l'immunisation (comparativement aux sujets séronégatifs). Les taux de cas de dengue virologiquement confirmés pour les quatre sérotypes DENV étaient plus faibles dans le groupe vaccin que dans le groupe témoin. CYD-TDV avait un profil de sécurité favorable et a suscité des réponses d'anticorps contre les 4 sérotypes du virus de la dengue. (75)

Le contraste entre les résultats de cette étude et celle menée en Thaïlande a été attribué à la différence épidémiologique et aux souches différentes qui y circulaient. (65)

3.6. Résultats des études de phase 3

3.6.1. Essai en Asie-Pacifique

Il s'agit d'une étude de phase 3 de type randomisée, multicentrique, à l'insu des observateurs et contrôlée par placebo. Elle a été effectuée sur des enfants sains, âgés de 2 à 14 ans, dans 5 pays d'Asie pacifique (Indonésie, Malaisie, Philippines, Thaïlande, Vietnam). Ils ont été assignés au hasard (stratifiés par âge et site) pour recevoir trois doses de CYD-TDV, ou de placebo (une solution à 0.9% de NaCl), à 0, 6 et 12 mois. Les sujets ont été suivis jusqu'à 25 mois. (76)

Cette étude doit permettre de tester l'efficacité clinique et la sécurité du vaccin. L'objectif principal de l'étude est d'évaluer l'efficacité de trois doses du candidat vaccin dans la prévention des cas de dengue symptomatiques confirmés par méthode virologique, quelle que soit leur gravité. Le critère de jugement principal est le nombre de cas de dengue (définis par une maladie fébrile aiguë avec confirmation virologique de la dengue) survenant plus de 28 jours après la troisième dose et au cours des 12 mois de la phase active de l'étude.

En ce qui concerne la tolérance, l'objectif est d'évaluer la survenue d'évènements indésirables graves (EIG) chez tous les sujets et tout au long de l'étude.

L'apparence du vaccin et du placebo étant différente, l'étude s'est déroulée à l'insu des observateurs dont le rôle était de suivre les patients tandis que le personnel qui s'occupait de la préparation et de l'administration était au courant. Les investigateurs de l'étude ainsi que les parents ou les représentants légaux sont restés dans l'ignorance jusqu'à ce que la phase hospitalière de l'étude soit terminée.

Les critères d'inclusion de cette étude sont des enfants âgés de 2 à 14 ans, en bonne santé, restant dans la zone de l'étude jusqu'à sa fin (soit cinq années qui suivent la dernière injection).

Parmi les critères d'exclusion on retrouve : une maladie aiguë avec fièvre, les sujets ayant reçu un autre vaccin moins de 4 semaines avant l'inclusion, les sujets avec une immunodéficience acquise ou congénitale.

Une surveillance active des participants a été mise en place dès la première injection jusqu'au 25^{ème} mois via un contact hebdomadaire avec leurs représentants légaux ou eux-mêmes, et par la surveillance de l'absentéisme à l'école.

Dans le cas où les participants ont développé une fièvre, en plus des tests faits selon le lieu de prise en charge, 2 échantillons de sang devaient être prélevés :

- l'un dans les 5 jours suivant l'apparition de la fièvre afin d'effectuer un test de recherche de l'antigène NS1, une recherche du virus de la dengue par PCR quantitative (après transcription inverse) ainsi qu'une PCR spécifique du sérotype, et titrage des IgM et IgG
- l'autre en phase de convalescence soit 7 à 14 jours après, afin de rechercher des IgM et IgG

Le critère d'évaluation principal a été atteint avec une efficacité globale après 3 injections de 56,5% (IC 95% : 43,8-66,4). Ainsi, le vaccin a été jugé modérément efficace. Pour le DENV-2, bien que l'efficacité se soit améliorée par rapport à celle mesurée dans les études de phase 2, elle reste faible et statistiquement insignifiante : 35,0% (IC 95%: -9,2 à 61,0). Pour le DENV-1, elle est de 50,0% (IC 95% : 24,6 à 66,8), pour le DENV-3 de 78,4% (IC 95% : 52,9 à 90,8) et de 75,3% (IC 95% : 54,5 à 87) pour le DENV-4.

L'efficacité était supérieure chez les participants ayant déjà des Ac neutralisants pour la dengue que chez les participants séronégatifs. De plus, elle était meilleure chez les enfants les plus âgés. L'efficacité du vaccin a été jugée plus faible chez les vaccinés <9 ans. Ces préoccupations ont mis les enfants <9 ans et la population naïf de la dengue en dehors de la portée de leur application en raison de problèmes de sécurité et d'une faible efficacité.

647 événements indésirables graves (402 [62%] dans le groupe vaccin et 245 [38%] dans le groupe témoin) ont été notifiés. 54 (1%) des enfants dans le groupe vaccin et 33 (1%) de ceux du groupe témoin ont eu des effets indésirables graves qui se sont produits dans les 28 jours suivant la vaccination. Les événements indésirables graves étaient compatibles avec les troubles médicaux fréquemment retrouvés à cet âge-là et étaient principalement des infections et des blessures.

3.6.2. Essai en Amérique latine

Un autre essai d'efficacité de phase 3 de CYD-TDV a été réalisé dans cinq pays d'Amérique latine endémiques de dengue. Les enfants en bonne santé âgés de 9 à 16 ans ont été répartis au hasard dans un ratio de 2:1 pour recevoir trois doses du vaccin ou du placebo à 0, 6 et 12 mois dans des conditions aveuglées. Les sujets ont été suivis pendant 25 mois. Au total, 20 869 enfants en bonne santé ont reçu un vaccin ou un placebo. (77)

L'analyse en per protocole a révélé une efficacité globale de 60,8% (IC 95% : 52,0 à 68,0). L'analyse en intention de traiter (ceux qui ont reçu au moins une injection), a révélé une efficacité de 64,7% (IC 95% : 58,7 à 69,8).

L'efficacité du vaccin spécifique au sérotype était de 50,3% (IC 95% : 29,1 à 65,2), 42,3% (IC 95% : 14,0 à 61,1), 74% (IC 95% : 61,9 à 82,4) et 77,7% (IC 95% : 60,2 à 88,0) pour DENV-1, DENV-2, DENV-3 et DENV-4, respectivement. Cela nous permet enfin d'avoir des

résultats significatifs pour chaque sérotype, et de se rassurer quant à l'efficacité contre le sérotype 2 même si l'on peut toujours observer une différence d'efficacité entre tous les sérotypes.

Mais, conformément aux essais d'Asie-Pacifique, l'efficacité du vaccin a été plus faible chez les individus séronégatifs à l'inclusion pour le virus de la dengue. L'efficacité globale était de 83,7% (IC 95% : 62,2 à 93,7) pour les séropositifs et de 43,2% (IC 95% : -61,6 à 80,0) pour les séronégatifs à l'inclusion.

Le profil de sécurité pour le vaccin CYD-TDV était semblable à celui du placebo, sans différence marquée dans les taux d'effets indésirables.

3.6.3. Efficacité du vaccin en terme d'hospitalisation

Trial, Age Group, and Study Period	Vaccine Group			Control Group			Relative Risk (95% CI)
	Cases of Dengue	Total Participants†	Annual Incidence Rate‡	Cases of Dengue	Total Participants†	Annual Incidence Rate‡	
	no.		% (95% CI)	no.		% (95% CI)	
CYD14							
All participants§	27	6,778	0.4 (0.3–0.6)	13	3387	0.4 (0.2–0.7)	1.04 (0.52–2.19)
2–5 yr	15	1,636	1.0 (0.6–1.6)	1	813	0.1 (0.0–0.7)	7.45 (1.15–313.80)
6–11 yr	10	3,598	0.3 (0.1–0.6)	8	1806	0.5 (0.2–1.0)	0.63 (0.22–1.83)
12–14 yr	2	1,544	0.1 (0.0; 0.5)	4	768	0.6 (0.2–1.4)	0.25 (0.02–1.74)
<9 yr	19	3,493	0.6 (0.4–0.9)	6	1741	0.4 (0.1–0.8)	1.58 (0.61–4.83)
≥9 yr	8	3,285	0.3 (0.1–0.5)	7	1646	0.5 (0.2–1.0)	0.57 (0.18–1.86)
CYD15							
All participants¶	16	13,268	0.1 (0.1–0.2)	15	6630	0.2 (0.1–0.4)	0.53 (0.25–1.16)
9–11 yr	10	6,029	0.2 (0.1–0.3)	9	3005	0.3 (0.1–0.6)	0.55 (0.20–1.54)
12–16 yr	6	7,239	<0.1 (0.0–0.2)	6	3625	0.2 (0.1–0.4)	0.50 (0.13–1.87)

Figure 27. Incidence annuelle de l'hospitalisation due à un cas de dengue confirmé par examen virologique. (78)

Pour l'étude en Asie (CYD14), la 3^{ème} année après le début de l'essai, a révélé (78) :

- une incidence annuelle d'hospitalisation pour cas de dengue, confirmée par examen virologique, similaire dans le groupe vaccin et dans le groupe témoin (de 0,4%) ;
- un risque relatif (RR) d'hospitalisation pour cas de dengue, confirmée par examen virologique, dans le groupe vacciné en comparaison au groupe contrôle de 1,04% (IC 95% : 0,52-2,19) ;
- dans la tranche d'âge de 2 à 5 ans : un RR de 7,45% (IC 95% :1,15-313,80) et une incidence annuelle d'hospitalisation de 1,0% pour le groupe vacciné et de 0,1% pour le groupe placebo.

Ce qui signifie que le taux d'hospitalisation des vaccinés du groupe d'âge de 2 à 5 ans était supérieur à sept fois celui du groupe témoin ! De plus, l'incidence d'hospitalisation 10 fois

plus élevée dans le groupe vacciné que dans le groupe placebo pourrait être la preuve d'un mécanisme d'aggravation de la maladie par la vaccination.

Pour l'étude en Amérique latine (CYD15), la 3^{ème} année après le début de l'essai, a révélé:

- une incidence annuelle d'hospitalisation pour cas de dengue, confirmée par examen virologique, quasi similaire dans le groupe vaccin (0,1) et dans le groupe témoin (0,2)
- un RR d'hospitalisation pour cas de dengue (confirmée par examen virologique) dans le groupe vacciné en comparaison au groupe contrôle de 0.53% (IC 95% : 0, 25-1,16) ;
- un RR quasi similaire et inférieur à 1 pour le groupe 9-11 et 12-16 ans.

Les résultats pour cette étude sont très positifs contrairement aux résultats alarmants que l'on retrouve dans l'étude CYD14 et expliqueraient pourquoi le vaccin n'a eu des AMM que pour l'utilisation sur des enfants âgés d'au moins 9 ans.

DISCUSSION

L'efficacité du vaccin contre l'infection par le virus de la dengue a été évaluée durant la phase active de surveillance des essais en Asie-Pacifique et en Amérique latine (période de 25 mois après l'inclusion dans l'étude). Dans les 2 essais, le vaccin était moins efficace contre les sérotypes 1 et 2 que contre les sérotypes 3 et 4. Les estimations de l'efficacité vaccinale étaient comparables dans ces 2 essais de phase 3, malgré les différences de contexte épidémiologique et d'âge à la vaccination. Pour tous les sérotypes, les estimations de l'efficacité vaccinale contre la dengue virologiquement confirmée obtenues dans l'analyse selon le protocole évoquée ci-dessus étaient comparables aux résultats des analyses selon l'intention de traiter à partir de la première dose.

Tous sérotypes confondus, l'estimation globale combinée, pour ces deux essais de phase 3, de l'efficacité contre la dengue virologiquement confirmée dans la période de 25 mois suivant la première dose (analyse ITT) était de 60,3% (IC à 95%: 55,7 à 64,5). Une méta-analyse post-hoc limitée aux participants de ≥ 9 ans des essais CYD14 et CYD15 a été réalisée. Les estimations globales de l'efficacité dans les 25 mois suivant la première dose obtenues pour les participants de ≥ 9 ans sont comparables à celles de la population entière de l'essai. L'efficacité du vaccin s'élevait à 65,6% (IC à 95%: 60,7 à 69,9) contre la dengue virologiquement confirmée, tous sérotypes confondus, chez les sujets de ≥ 9 ans, l'efficacité était de 81,9% (IC à 95%: 67,2 à 90,0) chez les sujets initialement séropositifs et 52,5% (IC à 95%: 5,9 à 76,1) chez les sujets initialement séronégatifs. (78)

L'efficacité vaccinale était plus faible dans le groupe des enfants les plus jeunes de 2 à 5 ans et atteignait son niveau le plus élevé chez les groupes les plus âgés. Le vaccin était plus efficace chez les sujets séropositifs en début d'étude que chez les sujets séronégatifs malgré le développement d'anticorps neutralisants à des taux élevés. De ces deux observations, une des hypothèses qui a été développée pour expliquer ces résultats a été de dire que finalement chez les enfants séronégatifs, qui sont en proportion plus importante parmi les groupes les plus jeunes, la vaccination pourrait s'apparenter à une infection naturelle silencieuse, qui permettrait l'action du mécanisme ADE lors d'un contact ultérieur avec un virus sauvage de la dengue. Le jeune âge (<5 ans) pourrait également contribuer au risque accru observé.

Ces informations expliquent que le vaccin soit indiqué chez les plus de 9 ans vivant en zone endémique. Cependant, dans de nombreux pays endémiques, les sujets séronégatifs représentent une fraction importante des personnes de tout âge. Les sous-populations avec une faible prévalence de la séropositivité de la dengue risquent de développer une maladie plus sévère si elles sont vaccinées. Heureusement, les données provenant de la sous-population d'étude de l'immunogénicité, suivie durant les 5 années de la phase 2b et de la phase 3, ne révèlent pas de risque accru d'hospitalisation ou de forme sévère pour les personnes séronégatives de ≥ 9 ans, alors qu'il existe des signes de risque accru chez les enfants séronégatifs de < 9 ans.(22)

D'autres hypothèses ont été émises pour expliquer la faible efficacité chez les individus séronégatifs de la dengue. La première raison pourrait provenir du fait que Dengvaxia® ne possède pas les épitopes critiques de la région non structurale reconnus par la cellule T qui joue un rôle important dans la protection contre la dengue. Les études impliquent également le rôle essentiel de l'immunité contre NS1 dans la protection, qui n'est pas présente avec Dengvaxia®. (65)

Une étude récente utilisant le modèle létal de souris AG129 a montré que l'inoculation de complexes immuns de virus formés avec une quantité hautement neutralisante d'Ac à réaction croisée provoquait une infection létale même si le niveau de la virémie était faible. D'autre part, ceux formés avec des anticorps neutralisants spécifiques au sérotype n'ont causé aucune mortalité quel que soit leur niveau de concentration. (79) Ceci pourrait indiquer que la spécificité pour un sérotype des anticorps est cruciale pour l'efficacité d'un vaccin chez l'homme.

D'après l'OMS les pays devraient envisager l'introduction de Dengvaxia® uniquement si les données épidémiologiques indiquent une forte charge de morbidité de la dengue. Les populations à cibler seront définies comme étant celles où la présence d'une infection préalable par un virus de la dengue de n'importe quel sérotype, mesurée par la séroprévalence, est d'environ 70% ou plus dans la tranche d'âge ciblée par la vaccination afin d'optimiser le rapport coût/efficacité et l'impact de la vaccination sur la santé publique.

De plus, l'introduction du vaccin contre la dengue doit s'inscrire dans une stratégie globale de lutte contre la dengue comprenant des activités efficaces et soutenues de lutte antivectorielle, la prestation de soins cliniques selon les meilleures pratiques pour les patients atteints de dengue et une surveillance solide de la maladie. Elle devra également s'accompagner d'une stratégie ciblée de communication. Les décisions relatives à cette introduction doivent reposer sur une évaluation minutieuse de la situation au niveau de chaque pays, en tenant notamment compte des priorités locales, de l'épidémiologie nationale et internationale de la dengue, de l'impact et du rapport coût/efficacité escomptés selon les contributions de chaque pays, de l'accessibilité financière et de l'incidence budgétaire. Lors de l'introduction du vaccin, il est recommandé aux pays de disposer d'un système fonctionnel de pharmacovigilance capable, au minimum, d'assurer le suivi et la prise en charge des manifestations post-vaccinales indésirables et au mieux, de détecter et de notifier les cas de dengue sévère et d'hospitalisation pour dengue de manière systématique et durable.

CONCLUSION

Finalement, Dengvaxia® est loin d'être le vaccin idéal envisagé plus tôt. Sa moindre efficacité sur les sujets séronégatifs aux virus de la dengue implique de continuer les recherches pour mieux comprendre les mécanismes immunitaires en jeu lors d'une infection. La recherche d'un modèle animal adéquat est aussi toujours d'actualité.

La fabrication d'un tel vaccin même s'il est jugé relativement efficace est néanmoins déjà une belle réussite que l'on espère suffisante pour limiter les épidémies de cette maladie dans les pays endémiques. C'est pourquoi Dengvaxia® a déjà été autorisé dans 16 pays à commencer par son enregistrement au Mexique en décembre 2015 puis en Argentine, Bolivie, Brésil, Cambodge, Costa Rica, Salvador, Guatemala, Indonésie, Malaisie, Mexique, Paraguay, Pérou, Philippines, Singapour, Thaïlande et Venezuela. (5)

Cependant, les résultats des études sur Dengvaxia® incitent au développement d'un autre vaccin qui serait plus efficace en provoquant uniquement la formation d'Ac fortement neutralisants et spécifiques au sérotype. Un tel vaccin pourrait permettre une plus large utilisation notamment sur des nourrissons et dans une population séronégative au DENV, en zone non endémique, pour les voyageurs par exemple. C'est ce qu'espère d'ailleurs l'OMS afin d'endiguer plus intensivement la propagation de la maladie.

Malheureusement, la plupart des candidats vaccins actuels (par exemple, ceux à virus atténués par mutagénèse, virus inactivé et virus chimériques) portent tous les épitopes réactifs croisés, conduisant à la génération d'une grande quantité d'anticorps à réaction croisée (par rapport aux anticorps spécifiques du sérotype). (65)

Un médicament antiviral serait également une autre possibilité pour lutter contre cette maladie. Des efforts considérables sont d'ailleurs en cours pour développer des composés antiviraux qui cibleraient les facteurs viraux ou hôte. Néanmoins, à l'heure actuelle aucun médicament antiviral contre la dengue n'a été approuvé et aucune commercialisation n'est visible à l'horizon.

ANNEXES

Substance active	Nom commercial	Présentation	Indications
Perméthrine	Biovectrol®, Tissus	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Cinq sur Cinq Tropic®, spray Vêtements	vaporisateur	vêtements
	Insect Ecran®, Vêtements spray	vaporisateur	vêtements
	Insect Ecran® concentré insecticide, Trempage tissus	solution à diluer	vêtements, tissus, moustiquaires
	Lotion anti-moustiques, vêtements/tissus Manouka®	vaporisateur	vêtements, tissus
	Lotion insecticide anti-insectes, vêtements-tissus, Steripan®	vaporisateur	vêtements, tissus
	Moskito Guard® textiles	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Mousti 6 semaines, Tracy®	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Mousticologne® spray tissus	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Moustifluid®, lotion tissus et vêtements Zones tropicales et à risque	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Parazeet® Spécial Tissus	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Repel Insect, vaporisateur vêtements	vaporisateur	vêtements
	Repel Insect®, Spécial trempage vêtements et voilages	solution à diluer	vêtements, tissus, moustiquaires
	Skitostop® spray Anti-insectes pour tissus	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	W2000® Barrage aux insectes	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires

Tableau 5. Liste de produits biocides insecticides pour l'imprégnation des vêtements, tissus ou moustiquaires disponible en France en 2015. (80)

Substance active	Nom commercial
Perméthrine	Moskitul ®
	Moustiquaire Hamaca®
	Moustiquaire Bangla® imprégnée

Tableau 6. Liste de moustiquaires pré-imprégnées d'insecticide disponible en France en 2015. (80)

Substance active et concentration	Nom commercial et présentation du produit (liste non exhaustive, donnée à titre indicatif et ne constituant pas une recommandation officielle des produits)	Nombre maximal d'application(s) quotidienne(s).				
		À partir de 6 mois et tant que l'enfant ne marche pas	Des que l'enfant marche et jusqu'à 24 mois	>24 mois à 12 ans	> 12 ans	Femmes enceintes
DEET ^{2,3} (N1,N-diéthyl-m-toluamide)	20% Derm'Alpes King [®] gel insectifuge	1	2	2	3	3
	30 à 50% Biovectrol [®] Tropic 2 ; 50% (en instruction) Bushman [®] répulsif (roll-on-gel, dry-gel ou atomiseur) 34% (en instruction) Care Plus [®] anti-insect DEET, spray 50% ; (en instruction) Care Plus [®] anti-insect DEET Spray 40% ; (en instruction) Derm'Alpes King [®] Lotion-ou Spray-insectifuge 34% ; (en instruction) Insect Ecran [®] zones infestées adultes (spray 50%) dispose d'une AMM Moustifluid [®] zones à hauts risques (spray), 30% (en instruction) Répulsif Anti-moustiques corporel Spring [®] , 30% ; dispose d'une AMM Ultrathon [®] répulsif insectes 34% (crème ou spray) (en instruction) Verotex [®] Antimoustique, 30% ; dispose d'une AMM			Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle. Posologie en fonction des préconisations du fabricant	Posologie en fonction des préconisations du fabricant	Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle. Posologie en fonction des préconisations du fabricant
IR3535 ⁴ (N-acétyl-N-butyl-β-alaninate d'éthyle)	20% Apaisyl [®] répulsif moustique Atonia [®] spray antimoustique Biovectrol [®] Famille Cinq sur Cinq [®] famille Flash frais anti moustique Quies [®] Kapo [®] répulsif corporel (spray) Labell [®] Spray répulsif anti-moustiques Marie Rose [®] spray Anti-moustique 2en1 Marie Rose [®] spray répulsif antimoustique 8h Medicels [®] Spray répulsif anti-moustiques Moustifluid [®] lotion zone tempérée Moustifluid [®] jeunes enfants Moustifluid [®] lingettes Moustikill [®] spray antimoustique Moustiklogne [®] haute tolérance (lotion) Moustirol [®] antimoustiques Parazeet [®] Zones Tropicales Peaux Sensibles Piccol [®] anti-moustiques PicSun Antimoustiques Prebutix [®] lait corporel répulsif Pyrel [®] lotion anti-moustiques Saga Caraïbes [®] Tropic lotion repulsive insectes piqueurs Vapo Les Botaniques [®] insectes (spray) Vendome [®] adultes (spray) Vulcano [®] spray anti moustiques	1	2	2	3	3
	25% Akipik [®] lotion anti insectes Cinq sur Cinq [®] zones tempérées (lotion) Cinq sur Cinq Tropic enfants (lotion) Manouka [®] lotion (ou roll-on) zone tropicale Moustifluid [®] lotion haute protection zones tropicales et à risques Prébutix [®] gel roll'on répulsif extrême zones tropicales Prébutix [®] lotion répulsive zone Europe (spray, roll-on) Steripan [®] Anti-moustiques			2	3	
	30% Bouclier Insect [®] spray Medicels [®] Spray répulsif anti-moustiques tropique Moustifluid [®] zone tropicale et à risque lotion haute protection Moustifluid [®] kit de protection extrême Stopia [®] bouclier extrême			2	3	
	35% Cinq sur Cinq [®] Tropic (lotion)			2	3	
	20% Apaisyl [®] répulsif moustiques haute protection Autan [®] Protection Plus lotion, Autan [®] active spray Centaura [®] (spray) Doctan [®] classique Insect écran [®] familles Insect Free [®] Moskito guard [®] (spray, lingettes) Répuls' Total [®] (émulsion) Skin2P Body [®] Doctan [®] ultra			2	3	3
25% Insect Ecran [®] spécial tropiques (spray) Mousticlogne [®] special zones infestées (lotion) Moustidose [®] lait répulsif famille (lait) Moustiklogne [®] protection extrême (lotion) Prebutix [®] lotion répulsive spécial voyageurs			2	3		
PMDRBO ⁴ (mélange de cis-et trans-p-menthane-3,8 diol) ou 2-Hydroxy-α,α,4-triméthylcyclohexanemethanol	19 à 20% Anti-pique Puresentiel [®] (spray) Biovectrol [®] naturel (spray) Mousticare [®] spray peau, spray famille, lingettes répulsives Orphea [®] antimoustique (lotion et spray) Phytosun aroms [®] répulsif moustiques (spray)	1	2	2	3	
	25% Mosi-guard [®] naturel (spray et stick) Mousticare [®] zones infestées (spray) Spray peau Penn'ty [®] Bio (dosé à 50 %)	1	2	2	3	

Tableau 7. Répulsifs recommandés, disponible en France en 2016, pour la protection contre les piqûres d'arthropodes (hors araignées, scorpions, scolopendres et hyménoptères).

BIBLIOGRAPHIE

1. Guzman A, Istúriz RE. Update on the global spread of dengue. *Int J Antimicrob Agents*. 1 nov 2010;36:S40-2.
2. Weaver SC, Vasilakis N. Molecular evolution of dengue viruses: contributions of phylogenetics to understanding the history and epidemiology of the preeminent arboviral disease. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis*. juill 2009;9(4):523-40.
3. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control (WHO) 2009 [Internet]. [cité 30 sept 2015]. Disponible sur: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44188/1/9789241547871_eng.pdf
4. Points sur les connaissances / Dengue / Maladies à déclaration obligatoire / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil [Internet]. [cité 12 sept 2016]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Dengue/Points-sur-les-connaissances>
5. Sanofi Pasteur. Dengue info [Internet]. Disponible sur: <http://dengue.info/dengue-vaccine-registered-in-16-countries/>
6. Demir T, Kilic S. Zika virus: a new arboviral public health problem. *Folia Microbiol (Praha)*. 28 juill 2016;
7. Whitehead SS, Blaney JE, Durbin AP, Murphy BR. Prospects for a dengue virus vaccine. *Nat Rev Microbiol*. juill 2007;5(7):518-28.
8. WHO. Guidelines on the quality, safety and efficacy of dengue tetravalent vaccines (live, attenuated) [Internet]. 2013. Disponible sur: http://who.int/biologicals/areas/vaccines/TRS_979_Annex_2.pdf?ua=1
9. Shrestha B, Brien JD, Sukupolvi-Petty S, Austin SK, Edeling MA, Kim T, et al. The development of therapeutic antibodies that neutralize homologous and heterologous genotypes of dengue virus type 1. *PLoS Pathog*. 1 avr 2010;6(4):e1000823.
10. Cruz-Oliveira C, Freire JM, Conceição TM, Higa LM, Castanho MARB, Da Poian AT. Receptors and routes of dengue virus entry into the host cells. *FEMS Microbiol Rev*. mars 2015;39(2):155-70.
11. Projet TIMTAMDEN [Internet]. ANR. [cité 29 juill 2017]. Disponible sur: http://www.agence-nationale-recherche.fr/projet-anr/?tx_lwmsuivibilan_pi2%5BCODE%5D=ANR-14-CE14-0029
12. De La Guardia C, Leonart R. Progress in the identification of dengue virus entry/fusion inhibitors. *BioMed Res Int*. 2014;2014:825039.
13. Massé N, Selisko B, Malet H, Peyrane F, Debarnot C, Decroly E, et al. Le virus de la dengue : cibles virales et antiviraux. *Virologie*. 1 mars 2007;11(2):121-33.

14. Arunachalam N, Tana S, Espino F, Kittayapong P, Abeyewickreme W, Wai KT, et al. Eco-bio-social determinants of dengue vector breeding: a multicountry study in urban and periurban Asia. *Bull World Health Organ.* mars 2010;88(3):173-84.
15. Virus de la dengue (DEN 1, DEN 2, DEN 3, DEN 4) - Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes [Internet]. [cité 8 août 2016]. Disponible sur: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/msds50f-fra.php>
16. La dengue | www.ilm.pf [Internet]. [cité 8 août 2016]. Disponible sur: <http://www.ilm.pf/infodengue>
17. Haut Conseil de la Santé Publique. Stratégie de diagnostic biologique de la dengue. 2011.
18. Guillaumot L. La Dengue : 4 virus, l'homme et le moustique... – Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie [Internet]. [cité 13 nov 2016]. Disponible sur: <https://www.institutpasteur.nc/la-dengue-4-virus-lhomme-et-le-moustique/>
19. Dengue - Symptômes, traitement et recherche dengue - Institut Pasteur [Internet]. [cité 29 janv 2016]. Disponible sur: <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/dengue>
20. Simmons CP, Farrar JJ, Nguyen van VC, Wills B. Dengue. *N Engl J Med.* 12 avr 2012;366(15):1423-32.
21. WHO. Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020 [Internet]. 2012. Disponible sur: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75303/1/9789241504034_eng.pdf
22. OMS | 29 juillet 2016, vol. 91, 30 (pp. 349–364) [Internet]. WHO. [cité 4 avr 2017]. Disponible sur: <http://www.who.int/wer/2016/wer9130/fr/>
23. InVS. Bilan épidémiologique et grandes tendances [Internet]. 2011. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Dengue/Donnees-epidemiologiques>
24. Roth A, Mercier A, Lepers C, Hoy D, Duituturaga S, Benyon E, et al. Concurrent outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections – an unprecedented epidemic wave of mosquito-borne viruses in the Pacific 2012–2014. *Eurosurveillance.* 16 oct 2014;19(41):20929.
25. Giron S, Rizzi J, Leparc-Goffart I, et al. Nouvelles apparitions de cas autochtones de dengue en région Provence-Alpes-Côte d'Azur, France, août-septembre 2014. *Bull Epidemiol Hebd* [Internet]. avril 2015 [cité 7 août 2016];(13-14). Disponible sur: http://www.invs.sante.fr/beh/2015/13-14/pdf/2015_13-14.pdf
26. Dispositifs de surveillance et partenaires / Dengue / Maladies à transmission vectorielle / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil [Internet]. [cité 18 sept 2016]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle/Dengue/Dispositifs-de-surveillance-et-partenaires>

27. Les contextes épidémiologiques / Dengue / Maladies à déclaration obligatoire / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil [Internet]. [cité 26 sept 2016]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Dengue/Les-contextes-epidemiologiques>
28. Vega-Rua A, Zouache K, Caro V, Diancourt L, Delaunay P, Grandadam M, et al. High efficiency of temperate *Aedes albopictus* to transmit chikungunya and dengue viruses in the Southeast of France. *PLoS One*. 2013;8(3):e59716.
29. Données épidémiologiques / Dengue / Maladies à déclaration obligatoire / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil [Internet]. [cité 16 sept 2016]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Dengue/Donnees-epidemiologiques>
30. Succo T, Leparc-Goffart I, Ferré J-B, Roiz D, Broche B, Maquart M, et al. Autochthonous dengue outbreak in Nîmes, South of France, July to September 2015. *Eurosurveillance* [Internet]. 26 mai 2016 [cité 8 août 2016];21(21). Disponible sur: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=22485>
31. Singla M, Kar M, Sethi T, Kabra SK, Lodha R, Chandele A, et al. Immune Response to Dengue Virus Infection in Pediatric Patients in New Delhi, India—Association of Viremia, Inflammatory Mediators and Monocytes with Disease Severity. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. mars 2016 [cité 1 août 2017];10(3). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sdocadis.ups-tlse.fr/pmc/articles/PMC4794248/>
32. Test ELISA [Internet]. [cité 30 sept 2016]. Disponible sur: http://bioutils.unige.ch/experiences/exp_elisa.php
33. Acharya T. Hemagglutination Inhibition Test (HAI): Principle, procedure, result and interpretations [Internet]. *microbeonline*. 2014 [cité 16 sept 2016]. Disponible sur: <http://microbeonline.com/hemagglutination-inhibition-test-hai-principle-procedure-result-interpretations/>
34. Najjioullah F, Viron F, Paturel L, Césaire R. Diagnostic biologique de la dengue. *Virologie*. 1 janv 2012;16(1):18-31.
35. InVS. Recommandations sanitaires pour les voyageurs, 2017 [Internet]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/BEH-Bulletin-epidemiologique-hebdomadaire/Archives/2017/BEH-hors-serie-Recommandations-sanitaires-pour-les-voyageurs-2017>
36. Guzman MG, Harris E. Dengue. *Lancet Lond Engl*. 31 janv 2015;385(9966):453-65.
37. Martina BEE, Koraka P, Osterhaus ADME. Dengue Virus Pathogenesis: an Integrated View. *Clin Microbiol Rev*. oct 2009;22(4):564-81.
38. Rothman AL, Medin CL, Friberg H, Currier JR. Immunopathogenesis Versus Protection in Dengue Virus Infections. *Curr Trop Med Rep*. 1 mars 2014;1(1):13-20.
39. Palmer DR, Sun P, Celluzzi C, Bisbing J, Pang S, Sun W, et al. Differential effects of dengue virus on infected and bystander dendritic cells. *J Virol*. févr 2005;79(4):2432-9.

40. Nielsen DG. The relationship of interacting immunological components in dengue pathogenesis. *Virol J.* 27 nov 2009;6:211.
41. Kwan W-H, Navarro-Sanchez E, Dumortier H, Decossas M, Vachon H, Santos FB dos, et al. Dermal-Type Macrophages Expressing CD209/DC-SIGN Show Inherent Resistance to Dengue Virus Growth. *PLOS Negl Trop Dis.* 1 oct 2008;2(10):e311.
42. Screaton G, Mongkolsapaya J, Yacoub S, Roberts C. New insights into the immunopathology and control of dengue virus infection. *Nat Rev Immunol.* déc 2015;15(12):745-59.
43. Tian Y, Sette A, Weiskopf D. Cytotoxic CD4 T Cells: Differentiation, Function, and Application to Dengue Virus Infection. *Front Immunol.* 2016;7:531.
44. Flipse J, Smit JM. The Complexity of a Dengue Vaccine: A Review of the Human Antibody Response. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9(6):e0003749.
45. Ngono AE, Chen H-W, Tang WW, Joo Y, King K, Weiskopf D, et al. Protective Role of Cross-Reactive CD8 T Cells Against Dengue Virus Infection. *EBioMedicine* [Internet]. 7 oct 2016 [cité 24 oct 2016];0(0). Disponible sur: [http://www.ebiomedicine.com/article/S2352-3964\(16\)30461-3/abstract](http://www.ebiomedicine.com/article/S2352-3964(16)30461-3/abstract)
46. Halstead SB. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. VI. Hypotheses and discussion. *Yale J Biol Med.* avr 1970;42(5):350-62.
47. Goncalvez AP, Engle RE, St. Claire M, Purcell RH, Lai C-J. Monoclonal antibody-mediated enhancement of dengue virus infection in vitro and in vivo and strategies for prevention. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 29 mai 2007;104(22):9422-7.
48. Olkowski S, Forshey BM, Morrison AC, Rocha C, Vilcarromero S, Halsey ES, et al. Reduced risk of disease during postsecondary dengue virus infections. *J Infect Dis.* sept 2013;208(6):1026-33.
49. Webster DP, Farrar J, Rowland-Jones S. Progress towards a dengue vaccine. *Lancet Infect Dis.* nov 2009;9(11):678-87.
50. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Dengue Viremia Titer, Antibody Response Pattern, and Virus Serotype Correlate with Disease Severity. *J Infect Dis.* 1 janv 2000;181(1):2-9.
51. Fried JR, Gibbons RV, Kalayanarooj S, Thomas SJ, Srikiatkhachorn A, Yoon I-K, et al. Serotype-Specific Differences in the Risk of Dengue Hemorrhagic Fever: An Analysis of Data Collected in Bangkok, Thailand from 1994 to 2006. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2 mars 2010 [cité 9 janv 2017];4(3). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2830471/>
52. Balmaseda A, Hammond SN, Pérez L, Tellez Y, Saborío SI, Mercado JC, et al. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. *Am J Trop Med Hyg.* mars 2006;74(3):449-56.

53. Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, Salas R, Villalobos I, Chacon D, et al. Dengue Virus Structural Differences That Correlate with Pathogenesis. *J Virol.* 6 janv 1999;73(6):4738-47.
54. Alera MT, Srikiatkachorn A, Velasco JM, Tac-An IA, Lago CB, Clapham HE, et al. Incidence of Dengue Virus Infection in Adults and Children in a Prospective Longitudinal Cohort in the Philippines. *PLoS Negl Trop Dis.* févr 2016;10(2):e0004337.
55. Guzmán MG, Kouri G, Bravo J, Valdes L, Vazquez S, Halstead SB. Effect of age on outcome of secondary dengue 2 infections. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis.* juin 2002;6(2):118-24.
56. Gamble J, Bethell D, Day NP, Loc PP, Phu NH, Gartside IB, et al. Age-related changes in microvascular permeability: a significant factor in the susceptibility of children to shock? *Clin Sci Lond Engl* 1979. févr 2000;98(2):211-6.
57. Innis BL, Eckels KH. Progress in development of a live-attenuated, tetravalent dengue virus vaccine by the United States Army Medical Research and Materiel Command. *Am J Trop Med Hyg.* déc 2003;69(6 Suppl):1-4.
58. Carcelain G, Labalette M, Radosavljevic M. Immunité adaptative : la mémoire immunitaire [Internet]. Disponible sur: http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02_files/page82-14.-memoire-immunitaire.pdf
59. Direction général de la santé, Comité technique des vaccinations. Guide des vaccinations - Edition 2012 [Internet]. Disponible sur: http://inpes.santepubliquefrance.fr/10000/themes/vaccination/guide-vaccination-2012/pdf/GuideVaccinations2012_Principes_et_bases_immunologiques_de_la_vaccination.pdf
60. Vaccins et vaccination [Internet]. 2015 [cité 3 avr 2017]. Disponible sur: <http://www.inserm.fr/layout/set/print/thematiques/immunologie-inflammation-infectiologie-et-microbiologie/dossiers-d-information/vaccins-et-vaccination>
61. Sanofi Pasteur. Le premier vaccin contre la dengue. [Internet]. 2016. Disponible sur: http://www.sanofipasteur.com/fr/Documents/PDF/A4_Brochure_Dengue_FR_WEB.pdf
62. WHO. Guidelines for plaque reduction neutralization testing of human antibodies to dengue viruses [Internet]. 2007. Disponible sur: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69687/1/who_ivb_07.07_eng.pdf
63. Guy B, Barban V, Mantel N, Aguirre M, Gulia S, Pontvianne J, et al. Evaluation of interferences between dengue vaccine serotypes in a monkey model. *Am J Trop Med Hyg.* févr 2009;80(2):302-11.
64. World Health Organisation. Guidelines for the clinical evaluation of dengue vaccines in endemic areas [Internet]. 2008. Disponible sur: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69850/1/WHO_IVB_08.12_eng.pdf

65. Khetarpal N, Khanna I. Dengue Fever: Causes, Complications, and Vaccine Strategies. *J Immunol Res* [Internet]. 2016 [cité 14 avr 2017];2016. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4971387/>
66. ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 3 avr 2017]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00842530>
67. Guy B, Barrere B, Malinowski C, Saville M, Teyssou R, Lang J. From research to phase III: preclinical, industrial and clinical development of the Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine. *Vaccine*. 23 sept 2011;29(42):7229-41.
68. Guirakhoo F, Pugachev K, Zhang Z, Myers G, Levenbook I, Draper K, et al. Safety and efficacy of chimeric yellow Fever-dengue virus tetravalent vaccine formulations in nonhuman primates. *J Virol*. mai 2004;78(9):4761-75.
69. Morrison D, Legg TJ, Billings CW, Forrat R, Yoksan S, Lang J. A novel tetravalent dengue vaccine is well tolerated and immunogenic against all 4 serotypes in flavivirus-naïve adults. *J Infect Dis*. 1 févr 2010;201(3):370-7.
70. Halstead SB. Identifying protective dengue vaccines: guide to mastering an empirical process. *Vaccine*. 23 sept 2013;31(41):4501-7.
71. Guirakhoo F, Kitchener S, Morrison D, Forrat R, McCarthy K, Nichols R, et al. Live attenuated chimeric yellow fever dengue type 2 (ChimeriVax-DEN2) vaccine: Phase I clinical trial for safety and immunogenicity: effect of yellow fever pre-immunity in induction of cross neutralizing antibody responses to all 4 dengue serotypes. *Hum Vaccin*. avr 2006;2(2):60-7.
72. Capeding RZ, Luna IA, Bomasang E, Lupisan S, Lang J, Forrat R, et al. Live-attenuated, tetravalent dengue vaccine in children, adolescents and adults in a dengue endemic country: randomized controlled phase I trial in the Philippines. *Vaccine*. 17 mai 2011;29(22):3863-72.
73. Dayan GH, Thakur M, Boaz M, Johnson C. Safety and immunogenicity of three tetravalent dengue vaccine formulations in healthy adults in the USA. *Vaccine*. 17 oct 2013;31(44):5047-54.
74. Sabchareon A, Wallace D, Sirivichayakul C, Limkittikul K, Chanthavanich P, Suvannadabba S, et al. Protective efficacy of the recombinant, live-attenuated, CYD tetravalent dengue vaccine in Thai schoolchildren: a randomised, controlled phase 2b trial. *The Lancet*. 3 nov 2012;380(9853):1559-67.
75. Villar LÁ, Rivera-Medina DM, Arredondo-García JL, Boaz M, Starr-Spires L, Thakur M, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant tetravalent dengue vaccine in 9-16 year olds: a randomized, controlled, phase II trial in Latin America. *Pediatr Infect Dis J*. oct 2013;32(10):1102-9.
76. Capeding MR, Tran NH, Hadinegoro SRS, Ismail HIHM, Chotpitayasunondh T, Chua MN, et al. Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3, randomised, observer-masked, placebo-controlled trial. *The Lancet*. oct 2014;384(9951):1358-65.

77. Villar L, Dayan GH, Arredondo-García JL, Rivera DM, Cunha R, Deseda C, et al. Efficacy of a tetravalent dengue vaccine in children in Latin America. *N Engl J Med*. 8 janv 2015;372(2):113-23.
78. Hadinegoro SR, Arredondo-García JL, Capeding MR, Deseda C, Chotpitayasunondh T, Dietze R, et al. Efficacy and Long-Term Safety of a Dengue Vaccine in Regions of Endemic Disease. *N Engl J Med*. 24 sept 2015;373(13):1195-206.
79. Watanabe S, Chan KWK, Wang J, Rivino L, Lok S-M, Vasudevan SG. Dengue Virus Infection with Highly Neutralizing Levels of Cross-Reactive Antibodies Causes Acute Lethal Small Intestinal Pathology without a High Level of Viremia in Mice. *J Virol*. juin 2015;89(11):5847-61.
80. HCSP. Recommandations sanitaires pour les voyageurs, 2015 [Internet]. Paris: Haut Conseil de la Santé Publique; 2015 avr [cité 26 août 2016]. Disponible sur: <http://www.hcsp.fr/Explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=505>

Author : Mélanie Védrunes

Title : A new vaccine against dengue fever.

Summary :

Dengue virus poses a major threat to global public health: two-thirds of the world's population is now at risk from infection by this mosquito-borne virus. The four serotypes of the virus can cause severe dengue fever. This severe form of the disease is a potentially life-threatening complication due to plasma leakage, fluid accumulation with respiratory distress, severe haemorrhage or organ impairment. Many factors can lead to the development of severe dengue fever including dysregulation of the immune response. Dengvaxia® is the first dengue vaccine approved in more than 10 countries. However, the results of the clinical studies are rather disappointing. Indeed, its effectiveness depends on the serotypes, the age of the patient during the first injection of vaccine and the serological status at the beginning.

Auteur : Mélanie Védrunes

Titre : Un nouveau vaccin contre la dengue

RESUME en français

Le virus de la dengue constitue une menace majeure pour la santé publique mondiale : les deux tiers de la population mondiale sont actuellement à risque d'être infectés par ce virus transmis par les moustiques. Les quatre sérotypes du virus peuvent être à l'origine d'une dengue sévère. Cette forme grave de la maladie est une complication potentiellement mortelle due à une fuite plasmatique, une accumulation de liquide entraînant une détresse respiratoire, des hémorragies profuses ou une insuffisance organique. De nombreux facteurs peuvent conduire au développement d'une dengue sévère dont une dérégulation de la réponse immunitaire. Dengvaxia® est le seul vaccin contre la dengue à avoir été commercialisé dans plus de 10 pays. Cependant, les résultats des études cliniques sont plutôt décevants. En effet, son efficacité varie en fonction des sérotypes, de l'âge du patient lors de la première injection du vaccin et du statut sérologique de départ.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLES : dengue, vaccin, Dengvaxia®, pathogénèse, vaccination

Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Toulouse III

35 Chemin des Maraîchers

31062 TOULOUSE Cedex

Directeur de thèse : COSTE Agnès