



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

TEXTE COURT DU RAPPORT D'ÉVALUATION TECHNOLOGIQUE

Diagnostic biologique direct précoce de la dengue par détection génomique du virus avec RT-PCR

(transcription inverse et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne)

Janvier 2013

Ce texte court est téléchargeable sur
www.has-sante.fr

Haute Autorité de santé

Service documentation – Information des publics
2, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine Cedex
Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

Sommaire

Introduction	4
Contexte	5
Méthodes d'évaluation	7
Résultats de l'évaluation	8
Conclusion et perspectives	11
Participants	12
Fiche descriptive	13

Introduction

La dengue est une arbovirose transmise par des moustiques diurnes du genre *Aedes* essentiellement *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'il y aurait 50 millions de cas de dengue dans le monde chaque année. Depuis plusieurs décennies, la dengue est en progression constante dans le monde. Avant 1970, seuls neuf pays avaient connu des épidémies de dengue sévère. Le test de RT-PCR est un des tests qui permettraient le diagnostic direct dès la phase précoce de la maladie.

La Direction générale de la santé a demandé à la HAS d'évaluer l'intérêt de ce test et d'en préciser le cas échéant ses indications, en vue de sa prise en charge par l'Assurance maladie.

Contexte

► La dengue

Le virus de la dengue appartient au genre *Flavivirus* de la famille des *Flaviviridae*. Il existe quatre sérotypes du virus de la dengue : DEN-1, DEN-2, DEN-3 et DEN-4.

L'immunité contre un sérotype donné est définitive avec une réponse anticorps neutralisante. L'infection due à un sérotype n'offre qu'une protection immunitaire croisée transitoire contre les autres sérotypes.

La dengue est une maladie systémique qui comprend une grande variété de formes cliniques souvent pauci-symptomatiques ou asymptomatiques. Après une incubation de 3 à 10 jours, la maladie débute brutalement et évolue en trois phases : fébrile, critique et de guérison. La plupart des sujets infectés guérissent spontanément. Dans certains cas, l'infection peut évoluer après 2 à 7 jours et la défervescence vers une forme grave engageant le pronostic vital.

Se distinguent :

- la dengue avec ou sans signe d'alarme. Les signes d'alarme sont : douleurs abdominales ou sensibilité abdominale à la palpation lors de l'examen, vomissements persistants, épanchement pleural, saignement muqueux, léthargie ou agitation, hépatomégalie, augmentation de l'hématocrite et baisse rapide des plaquettes ;
- la dengue grave caractérisée par une fuite plasmatique sévère pouvant entraîner un choc et une détresse respiratoire ; des hémorragies sévères ; une atteinte viscérale grave (foie, système nerveux central, cœur ...).

Après la période d'incubation (3 à 10 jours), les premiers signes cliniques apparaissent suite à la réplication du virus dans l'organisme. La période de virémie s'étend d'environ 2 jours avant le début des signes cliniques jusqu'à environ 7 jours après. Cette période correspond à la phase fébrile. Le virus peut alors être détecté pendant environ 5 à 7 jours. Ensuite, les particules virales disparaissent.

En France, la circulation autochtone de la dengue est estimée forte dans les départements français d'Amérique, faible à modérée dans l'Océan Indien, la Réunion et Mayotte, et faible à inexistante en France métropolitaine. Toutefois, le moustique vecteur *Aedes albopictus* s'est implanté durablement dans le sud-est de la France métropolitaine depuis 2004.

La dengue génère une dégradation marquée de la qualité de vie. Celle-ci atteint son paroxysme entre le 3^{ème} et le 7^{ème} jour, qui correspond à la période fébrile, puis la qualité de vie s'améliore progressivement pour retrouver son niveau initial après 10 à 15 jours. La qualité de vie est plus fortement dégradée chez les patients hospitalisés, souffrant de formes plus sévères de la maladie.

En l'absence de traitement antiviral spécifique, la prise en charge est centrée sur la surveillance et les traitements symptomatiques (antalgiques, antipyrétiques, maintien des fonctions vitales). Les salicylés sont contre-indiqués à cause du risque de saignement.

La prévention de la dengue est difficile et repose sur plusieurs axes :

- surveillance constante des foyers d'endémie et suivi des épidémies ;
- lutte antivectorielle avec contrôle des populations de vecteurs domestiques responsables de la transmission à l'homme ;
- sécurisation des produits de santé d'origine humaine.

► Stratégie diagnostique actuelle

Un diagnostic rapide et précis est essentiel pour écarter les autres pathologies qui pourraient entraîner les mêmes symptômes ou des symptômes proches.

L'isolement viral par culture cellulaire est fait à partir de sérums obtenus entre le 1^{er} et le 5^{ème} jour de la maladie, la détection du virus peut être effectuée par isolement sur lignées continues de cellules de moustiques.

Les tests utilisés pour la détection de l'antigène NS1, rapides et réalisables dans la plupart des laboratoires, permettent la mise en évidence de l'antigène NS1 dans le sérum des patients du 1^{er} au 5^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques.

La détection du génome du virus se fait par RT-PCR classique (*Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction*) et RT-PCR en temps réel.

Le diagnostic sérologique de la dengue repose sur la détection d'IgM et d'IgG en fonction de leur cinétique d'apparition au cours du temps.

Méthodes d'évaluation

La méthode d'évaluation utilisée dans ce rapport par la HAS est fondée sur :

- l'analyse critique des données identifiées de la littérature scientifique ;
- la position argumentée de professionnels de santé intégrés dans un groupe de travail multidisciplinaire interrogé à distance par questionnaire (Cf. participants). Les réponses des membres du groupe au questionnaire ont été analysées et synthétisées par la HAS ; cette synthèse a ensuite été validée par le groupe.

Littérature scientifique analysée :

- 4 recommandations ;
- 3 documents officiels de référence ;
- études originales :
 - performance de la RT-PCR : 16 études,
 - comparaison entre différentes méthodes de RT-PCR : 7 études,
 - stratégie diagnostique : 2 études.

Résultats de l'évaluation

► Littérature

Performances diagnostiques de la RT-PCR dans le diagnostic précoce de la dengue

D'après les recommandations et les études originales identifiées et analysées, la sensibilité et la spécificité de la RT-PCR (toutes techniques confondues) seraient respectivement de 89,5 à 99 % et de 100 % par rapport aux tests de référence.

La RT-PCR conventionnelle reste la méthode la plus efficace pour le diagnostic précoce de la dengue dans les laboratoires spécialisés à condition que la procédure incluant les étapes pré-analytiques soit rigoureusement respectée.

Dans les cas où la RT-PCR n'est pas disponible, les tests de détection de l'antigène NS1 peuvent être utiles au diagnostic de proximité sur les lieux de soins (étant donné leur valeur prédictive positive élevée).

Place dans la stratégie diagnostique

Compte-tenu de ses performances inférieures au test par RT-PCR, le test NS1 ne devrait être utilisé qu'en cas de contexte épidémique et si le test de RT-PCR ne peut être réalisé. Dans ces cas où la RT-PCR n'est pas disponible, les tests de détection de l'antigène NS1 peuvent alors être utiles au diagnostic de routine sur les lieux de soins (étant donné leur valeur prédictive positive élevée). Par contre, les tests NS1 ELISA, et *a fortiori* les tests NS1 ICT, ont une valeur prédictive négative limitée. Un test de détection de l'antigène NS1 négatif n'écarte pas une infection par la dengue et requiert des investigations complémentaires, en particulier dans les cas de symptomatologie grave et nécessite que la recherche diagnostique soit poursuivie du fait du risque élevé de faux-négatif.

Impact sur la stratégie thérapeutique et sanitaire

L'analyse du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole montre que :

- le diagnostic par RT-PCR ou par isolement viral (réalisé lorsque la RT-PCR est positive pour des arguments épidémiologiques) est actuellement prévu dans le plan ;
- le plan prévoit la mise en œuvre de mesures strictes (enquête épidémiologique, mesures antivectorielles) suite à l'identification d'un cas dans les seuls départements à risque *albopictus* 1 ou plus.

L'analyse des plans de prévention Outre-Mer montre que dans les départements français d'Amérique, le test par RT-PCR est essentiellement réalisé avec un objectif de surveillance épidémique afin d'identifier les premiers cas suspects et intensifier la lutte antivectorielle.

Aucune étude évaluant l'impact de la RT-PCR sur la stratégie thérapeutique et sanitaire dans la stratégie diagnostique de la dengue n'a été identifiée.

Epidémiologie et population cible

Le nombre de cas importés en France est dépendant de la situation épidémiologique mondiale, notamment dans les zones géographiques avec des échanges importants avec la France métropolitaine. En 2008 et 2009, 312 et 381 cas de dengue ont été recensés en France métropolitaine, dont une minorité dans les zones d'activité du vecteur (43 cas en 2008-2009). Respectivement 5 % et 12 % des diagnostics ont été faits par RT-PCR en 2008 et 2009. Le nombre de cas importés de dengue a été particulièrement élevé en 2010, avec 2 300 cas, en lien avec l'épidémie très importante qui sévissait alors aux Antilles.

La zone d'implantation d'*Aedes albopictus* est en croissance constante, de nouveaux départements du sud de la France étant touchés chaque année : départements des Alpes-Maritimes (depuis 2004), de Haute-Corse (depuis 2006), de Corse-du-Sud et du Var (depuis 2007), des Alpes-de-Haute-Provence et des Bouches-du-Rhône (depuis 2010), du Vaucluse, du Gard et de l'Hérault (depuis 2011) et très récemment du Lot-et-Garonne (depuis 2012).

Compte-tenu de la non-spécificité des signes cliniques faisant suspecter un cas de dengue, le nombre de tests est potentiellement très élevé, sans pouvoir être estimé précisément. De plus, dans un certain nombre de cas, les patients consulteront vraisemblablement leur médecin au-delà des 5-7 premiers jours suivant l'apparition des signes cliniques, à un stade où le diagnostic précoce par RT-PCR n'est plus possible.

Conditions de réalisation

D'après l'OMS, la RT-PCR doit être réalisée dans des laboratoires équipés en biologie moléculaire en respectant des procédures de contrôle qualité strictes par des techniciens formés et expérimentés afin d'éviter tout problème de contamination.

Enjeux économiques

Le diagnostic par RT-PCR ou par isolement viral (réalisé lorsque la RT-PCR est positive pour des arguments épidémiologiques) est actuellement prévu dans le plan. Celui-ci prévoit la mise en œuvre de mesures strictes (enquête épidémiologique, mesures antivectorielles) suite à l'identification d'un cas dans les seuls départements à risque (cf. rapport d'évaluation). Dans ces départements, les mesures doivent être mises en œuvre dès la suspicion du cas importé, sans attendre la confirmation diagnostique biologique. En dehors des zones à risque, aucune mesure particulière n'est mise en œuvre rapidement en cas de diagnostic biologiquement confirmé.

Dans les départements français d'Amérique, le test par RT-PCR est essentiellement réalisé avec un objectif de surveillance épidémique afin d'identifier les premiers cas suspects et intensifier la lutte antivectorielle.

Dès lors, il n'est pas attendu d'impact direct du remboursement du test par RT-PCR sur la mise en œuvre du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole. Néanmoins, dans les zones à risque, le plan prévoit la réalisation du test par RT-PCR selon une procédure accélérée pour les cas suspects dans ces zones. Dès lors, il est nécessaire d'assurer le financement de ce test, par son remboursement ou par le financement spécifique du centre national de référence (situation actuelle), afin de ne pas pénaliser l'exécution du plan.

La zone d'implantation d'*Aedes albopictus* est en croissance constante, de nouveaux départements du sud de la France étant touchés chaque année. Compte-tenu de la non-spécificité des signes cliniques faisant suspecter un cas de dengue, le nombre de tests est potentiellement élevé, sans pouvoir être estimé précisément.

Le nombre de tests réalisés par le CNR et son laboratoire associé dans le cadre du plan de surveillance dengue-chikungunya a été respectivement pour les années de 2008, 2009, 2010 et 2011 de 129, 63, 651 et 410.

L'absence d'information sur le coût de production du test et sur le volume attendu ne permet pas de préciser l'impact budgétaire attendu du remboursement du test par RT-PCR.

► Position de groupe de travail

Performances diagnostiques de la RT-PCR dans le diagnostic précoce de la dengue

La majorité des membres du groupe de travail considère que la recherche du génome viral de la dengue par RT-PCR est indiquée chez les patients suspectés de dengue jusqu'à 7 jours après l'apparition des signes cliniques. Entre le 5^{ème} et le 7^{ème} jour, la RT-PCR est associée à un test sérologique (recherche d'IgM / IgG).

Place dans la stratégie diagnostique

La majorité des membres du groupe de travail considère que *quelle que soit la situation épidémique, la RT-PCR est le test de première intention jusqu'au 7^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques.*

Cependant, la recherche de l'antigène NS1 peut être une alternative lorsque la RT-PCR n'est pas disponible. C'est le cas lors d'une épidémie avérée où une demande trop importante de RT-PCR pourrait engorger les laboratoires. Ainsi, en cas d'épidémie avérée, pour les formes simples, la recherche de l'antigène NS1 peut alors être réalisée en première intention jusqu'au 5^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques. Un résultat négatif de la recherche de l'antigène NS1 n'excluant pas le diagnostic de la dengue, la stratégie diagnostique doit être poursuivie par :

- RT-PCR jusqu'au 7^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques ;
- sérologie (IgM / IgG) à partir du 5^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques.

Impact sur la stratégie thérapeutique et sanitaire

Le diagnostic précoce de la dengue permet :

- l'arrêt du bilan diagnostique de la dengue (avec prudence dans les zones endémiques où sévissent plusieurs infections en même temps) ;
- une meilleure prise en charge thérapeutique : traitement et surveillance des patients ;
- la mise en place de mesures sanitaires adaptées.

Conditions de réalisation

Les cinq experts interrogés pratiquant la RT-PCR considèrent qu'elle est applicable dans les conditions de leur exercice (réactifs, équipement, aménagement, personnel, éloignement du laboratoire, etc.).

Enjeux économiques

Certains experts ont mentionné qu'un diagnostic plus rapide pouvait éviter des coûts d'examen complémentaires, bien qu'aucune donnée ne documente ces éléments.

La capacité des laboratoires à effectuer les tests devrait être davantage détaillée.

Certains experts ont regretté l'estimation limitée de la population cible et des données d'activité et de coûts liées à l'infection.

Des experts ont reconnu que l'estimation de la population cible et de l'activité des laboratoires était difficile compte-tenu de l'évolution très rapide des zones d'activité du vecteur.

L'estimation des enjeux économiques liés au remboursement est limitée par l'absence de données sous-jacentes.

Conclusion et perspectives

A la demande de la Direction générale de la santé qui souhaitait que ce test soit inscrit à la Nomenclature des actes de biologie médicale, la HAS a évalué la technique de recherche du génome du virus de la dengue par biologie moléculaire.

En l'absence de données suffisantes et compte-tenu des délais de l'évaluation, une évaluation économique n'a pas pu être réalisée. Les conclusions ne reposent donc pas sur une analyse de l'efficacité du test. Les enjeux économiques du remboursement du test sont partiellement documentés dans le rapport d'évaluation.

Sur la base de l'analyse critique de la littérature et de la position d'un groupe de travail multidisciplinaire, la HAS conclut que la recherche du génome viral de la dengue par RT-PCR est indiquée chez les patients pour lesquels un diagnostic de dengue est suspecté, jusqu'à 7 jours après l'apparition des signes cliniques (associée à la sérologie - recherche d'IgM / IgG - à partir du 5^{ème} jour).

La suspicion de dengue se rencontre habituellement dans deux situations cliniques :

- symptomatologie évocatrice chez un patient revenant d'une zone touchée par la dengue ;
- symptomatologie évocatrice chez un patient se trouvant dans une des zones d'activité du vecteur pendant la période d'activité du vecteur telles que définies chaque année dans le plan national anti-dissémination.

Quelle que soit la situation épidémique, la RT-PCR est le test de première intention jusqu'au 7^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques. Cependant, compte-tenu de l'offre actuelle (nombre de laboratoires maîtrisant le test), il est encore à ce jour possible de recourir à la recherche de l'antigène NS1 lorsque la RT-PCR n'est pas disponible. Ceci pourrait être le cas lors d'une épidémie avérée au cours de laquelle une prescription trop importante de RT-PCR pourrait engorger les laboratoires. Ainsi, en cas d'épidémie avérée, et pour les formes simples, la recherche de l'antigène NS1 peut être réalisée jusqu'au 5^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques. Un résultat négatif de la recherche de l'antigène NS1 n'excluant pas le diagnostic de la dengue, la stratégie diagnostique devra dans ce cas être poursuivie par :

- RT-PCR jusqu'au 7^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques ;
- sérologie (IgM / IgG) à partir du 5^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques.

La recherche du génome du virus de la dengue par biologie moléculaire doit respecter des conditions strictes de réalisation afin d'assurer la qualité de l'examen. Ainsi, la RT-PCR doit être réalisée dans des laboratoires équipés en biologie moléculaire en respectant des procédures de contrôle qualité strictes et par des techniciens formés expérimentés afin d'éviter tout problème de contamination. Le compte rendu doit préciser notamment la date probable d'apparition des symptômes et la date du prélèvement.

Participants

► Les sociétés savantes et associations professionnelles suivantes ont été sollicitées pour l'élaboration de ces recommandations

- Centre national de référence des arbovirus
- Collège de la médecine générale
- Collège français des anesthésistes réanimateurs
- Conseil national professionnel des internistes
- Fédération française d'infectiologie
- Haut conseil de santé publique
- Institut de veille sanitaire
- Société française d'immunologie
- Société française de biologie clinique
- Société française de microbiologie
- Société française de santé publique
- Société française de pédiatrie
- Société française de médecine des armées
- Collège des bonnes pratiques de réanimation
- Communauté du Pacifique sud

► Groupe de travail

Le groupe de travail a été consulté en juillet 2012 à distance et sa position a été recueillie par questionnaire. Les réponses au questionnaire ont été analysées et synthétisées par la HAS ; cette synthèse a ensuite été validée par le groupe.

Docteur Emmanuelle BOSDURE	Pédiatre, Marseille, France
Docteur André CABIE	Infectiologue, Fort-de-France, Martinique
Professeur Raymond CESAIRE	Virologue, Fort-de-France, Martinique
Docteur Alain EL SAWY	Médecin généraliste, Saint-Martin-d'Hères, France
Docteur Ann-Claire GOURINAT	Pharmacien biologiste, Nouméa, Nouvelle-Calédonie
Madame Nathalie HAYES	Economiste, Bordeaux, France
Docteur Cécile HERRMANN	Médecin biologiste, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe
Docteur Marie-Christine JAFFAR-BANDJEE	Médecin biologiste, Saint-Denis, La Réunion
Docteur Christine KOWALCZYK	Médecin généraliste, Saint-André, La Réunion
Docteur Isabelle LEPARC-GOFFART	Docteur es science, Marseille, France
Professeur Sophie MATHERON	Infectiologue, Paris, France
Docteur Alain MICHAULT	Médecin biologiste, Saint-Pierre, La Réunion
Docteur Marie-Claire PATY	Médecin en santé publique, Saint-Maurice, France
Docteur Patrice POUBEAU	Infectiologue, Saint-Pierre, La Réunion

Fiche descriptive

Intitulé	TITRE
Méthode de travail	Rapport d'évaluation technologique
Date de mise en ligne	Février 2013
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur www.has-sante.fr
Objectif(s)	Evaluer la performance diagnostique du test RT-PCR (<i>Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction</i>) dans le diagnostic direct précoce de la dengue, en vue de sa prise en charge par l'Assurance maladie
Professionnel(s) concerné(s)	Cf. chapitre Participants
Demandeur	Direction générale de la santé
Promoteur	Haute Autorité de Santé (HAS), service évaluation des actes professionnels (SEAP) et service évaluation économique et santé publique (SEESP)
Pilotage du projet	Mme Aurélie PACULL, chef de projet, SEAP et Mme Fabienne QUENTIN, chef de projet, SEAP (Chef de service : Mme Michèle MORIN-SURROCA, adjoint au chef de service : M Denis-Jean DAVID) Evaluation médico-économique : Mme Véronique RAIMOND, chef de projet, SEESP (Chef de service : Mme Catherine RUMEAU PICHON, adjoint au chef de service : M Olivier SCEMAMA. Secrétariat : Mme Suzie DALOUR et Mme Esther PENSADO, Assistantes, SEAP
Participants	Expertise externe à la HAS (experts interrogés par questionnaire) : Dr Emmanuelle BOSDURE, Dr André CABIE, Pr Raymond CESAIRE, Dr Alain EL SAWY, Dr Ann-Claire GOURINAT, Mme Nathalie HAYES, D Cécile HERRMANN, Dr Marie-Christine JAFFAR-BANDJEE, Dr Christine KOWALCZYK, Dr Isabelle LEPARC-GOFFART, Pr Sophie MATHERON, Dr Alain MICHAULT, Dr Marie-Claire PATY, Dr Patrice POUBEAU Cf. Chapitre Participants
Recherche documentaire	Janvier 2007 à janvier 2012 (stratégie de recherche documentaire décrite en annexe 2 du rapport d'évaluation technologique) Réalisée par Mme Virginie HENRY, documentaliste, avec l'aide de Mme Maud LEFEVRE, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Mme Frédérique PAGES, chef du service documentation - information des publics, et Mme Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Mme Aurélie PACULL, chef de projet, SEAP et Mme Fabienne QUENTIN, chef de projet, SEAP (Chef de service : Mme Michèle MORIN-SURROCA, adjoint au chef de service : M Denis-Jean DAVID) Evaluation médico-économique : Mme Véronique RAIMOND, chef de projet, SEESP (Chef de service : Mme Catherine RUMEAU PICHON, adjoint au chef de service : M Olivier SCEMAMA.
Validation	Examen par la Commission d'évaluation économique et santé publique (CEESP) : décembre 2012 Examen par la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé (CNEDiMETS) : décembre 2012 Collège de la HAS : janvier 2013
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr
Documents d'accompagnement	Rapport d'évaluation technologique, décision HAS (janvier 2013) disponibles sur www.has-sante.fr



Toutes les publications de l'HAS sont téléchargeables sur
www.has-sante.fr