



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

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 rapport d'évaluation technologique 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

Abréviations et acronymes	4
Introduction	5
1. Contexte	6
1.1 Sources d'information.....	6
1.2 Objectifs.....	6
1.3 La dengue.....	6
1.4 Stratégie diagnostique actuelle	11
1.5 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie	13
1.6 Identification dans les nomenclatures étrangères.....	14
2. Méthode d'évaluation	15
2.1 Champ de l'évaluation.....	15
2.2 Recherche documentaire	16
2.3 Sélection des documents identifiés.....	16
2.4 Groupe de travail	27
3. Résultats de l'évaluation	30
3.1 Littérature.....	30
3.2 Position du groupe de travail.....	53
Conclusion et perspectives	64
Annexe 1. Méthode générale d'élaboration d'un rapport d'évaluation d'une technologie de santé	65
Annexe 2. Recherche documentaire.....	67
Annexe 3. Méthodologie des études de mesure de la qualité de vie	72
Annexe 4. Caractéristiques méthodologiques et résultats des études de qualité de vie associée à la dengue	73
Annexe 5. Limites des études analysées concernant les performances de la RT-PCR en comparaison à l'isolement viral et/ou à la séroconversion.....	75
Annexe 6. Limites des études analysées concernant les performances du test NS1 en comparaison à la RT-PCR.....	79
Annexe 7. Limites des études analysées comparant les performances des différentes méthodes de RT-PCR	83
Annexe 8. Limites des études analysées pour la stratégie diagnostique	87
Annexe 9. Modalités du diagnostic biologique selon le plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole.....	89
Annexe 10. Extrait de l'avis du HCSP relatif à la stratégie de diagnostic biologique de la dengue du 21 janvier 2011.....	90
Annexe 11. Caractéristiques et résultats des études de prévention de la dengue avec composante économique.....	92
Annexe 12. Niveaux de risque du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue.....	95
Annexe 13. Questionnaire envoyé au groupe de travail à distance	96
Annexe 14. Listes des tableaux et figures	123
Annexe 15. Glossaire	124
Références	125
Fiche descriptive	130

Abréviations et acronymes

ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé ¹
ARS	Agence régionale de santé
CIRE	Cellule de l'institut de veille sanitaire en région
CMVI	Comité des maladies liées aux voyages et des maladies d'importation
CNR	Centre national de référence
DENV	Virus de la dengue
DGS	Direction générale de la santé
DOM	Département d'outre-mer
EIA	<i>Enzyme Immuno Assays</i> (dosage immunoenzymatique)
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i> (dosage immunoenzymatique en phase solide)
EMC	<i>Encyclopédie médico chirurgicale</i>
HAS	Haute autorité de santé
HCSP	Haut conseil de la santé publique
HIA	Technique d'inhibition de l'hémagglutination (<i>HIA - Hemmagglutination-Inhibition Assay</i>)
ICT	Immunochromatographie
IFA	Immunofluorescence
IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
InVS	Institut de veille sanitaire
MAC-ELISA	<i>IgM Antibody-Capture Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay</i> (dosage immunoenzymatique des IgM spécifiques)
NABM	Nomenclature des actes de biologie médicale
NS1	Protéine non structurale 1 (<i>Non structural 1</i>)
OMS	Organisation mondiale de la santé (<i>WHO : World Health Organisation</i>)
RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction</i> (transcription inverse - amplification génique par polymérisation en chaîne)

¹ Suite à la loi n°2011-2012 du 29 décembre 2011, l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS) est devenue l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM).

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 (1). Ce virus serait responsable de 20 à 30 000 décès par an survenant principalement chez des enfants.

Depuis plusieurs décennies, la dengue est en progression constante dans le monde. Avant 1970, seuls neuf pays avaient connu des épidémies de dengue sévère. Désormais, la maladie est endémique dans plus de 100 pays en Afrique, dans les Amériques, en Méditerranée orientale, en Asie du Sud-Est et dans le Pacifique occidental, ces deux dernières régions étant les plus touchées (1). Cette progression concerne aussi les trois départements français d'Amérique (DFA), qui connaissent des poussées épidémiques répétées et une augmentation significative du nombre de cas. Le nombre de cas importés en France métropolitaine est étroitement lié à la situation mondiale, plus particulièrement dans les zones avec lesquelles elle a de nombreux échanges, notamment les DFA. *Aedes albopictus*, vecteur de la dengue et du chikungunya, s'est implanté depuis 2004 en France métropolitaine, dans le Sud-Est du pays. Son aire d'installation s'étend progressivement.

La plupart des sujets infectés guérissent spontanément, mais dans certains cas, l'infection peut évoluer vers une forme grave aboutissant parfois au décès. En l'absence de traitement antiviral spécifique, la prise en charge est centrée sur la surveillance et les traitements symptomatiques.

Le diagnostic précis de la maladie est d'une grande importance pour la prise en charge clinique, les mesures de surveillance, de contrôle des épidémies, et à des fins de recherche. La RT-PCR est un des tests qui permettrait 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 les indications, en vue de sa prise en charge par l'Assurance maladie.

Une note de cadrage de cette évaluation a été réalisée en mai 2012, elle est disponible sur le site de la HAS.

1. Contexte

1.1 Sources d'information

Ce chapitre de contexte a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus :

- des revues générales, revues systématiques, rapports d'évaluation, recommandations, ouvrages didactiques, EMC ;
- des études originales pour l'évaluation de la qualité de vie et du coût de la maladie ;
- des données de l'Assurance maladie (NABM, BioIAM), de l'InVS, et de l'IRDES.

Ont été exclues :

- pour les études de qualité de vie, les études pour lesquelles aucun outil de mesure de la qualité de vie n'est mentionné ;
- pour les études économiques, les études de coût de la maladie faites à l'étranger, les études sur le coût des traitements sans prise en compte des mesures de prévention et les études ne portant que sur les vaccins.

1.2 Objectifs

La Direction générale de la santé a saisi la HAS en juillet 2011 pour l'intégration au programme de travail de la HAS de 2012 de l'évaluation de la « *Place du diagnostic génomique (RT PCR) dans le diagnostic biologique de la dengue adapté aux différentes situations épidémiologiques rencontrées dans les DOM et en métropole* ».

L'objectif du demandeur est l'évaluation de la performance diagnostique du test RT-PCR (*Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction*) dans le diagnostic direct précoce de la dengue, en vue d'une potentielle inscription à la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) afin d'en permettre le remboursement.

La méthode de RT-PCR a été recommandée en janvier 2011 par le Haut conseil de santé publique (HCSP) (2) et le test de détection de l'antigène NS1 (protéine non structurale 1) a été recommandé en juin 2009 par la HAS (3). La HAS a donc été saisie afin de clarifier la place de la RT-PCR dans le diagnostic biologique précoce de la dengue, en particulier par rapport à la détection de l'antigène NS1.

1.3 La dengue

1.3.1 Les virus et la transmission de la dengue

La dengue est une arbovirose transmise par des moustiques diurnes du genre *Aedes* (3,4).

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. (2,4). Le virus est une particule sphérique enveloppée comportant à sa surface des protéines M et E associées à des lipides, et en interne une nucléocapside C enchâssant le génome viral. Le génome du virus de la dengue est une simple molécule d'ARN monocaténaire. Il code les trois protéines structurales (C, E et le pré-curseur de M) et des protéines non structurales dont NS1. Les protéines non structurales s'associent entre elles pour former un complexe de réplication virale qui assure la synthèse *de novo* de molécules d'ARN viral intracellulaire. Elles participent aussi au contrôle de la réponse immunitaire antivirale de l'hôte. La forme soluble excrétée de la glycoprotéine NS1 est en effet capable de contrôler la voie du complément pour faciliter l'échappement du virus à la réponse immunitaire innée antivirale (5).

1.3.2 Dengue primaire et secondaire

L'immunité contre un sérotype donné est définitive avec une réponse anticorps neutralisante. L'infection due à un sérotype n'induit cependant qu'une protection immunitaire croisée transitoire contre les autres sérotypes. Au contraire, une nouvelle infection avec un autre sérotype (dengue secondaire) pourrait être la cause d'une pathologie plus grave en raison d'un détournement des réponses immunitaires. On évoque un mécanisme de facilitation immunologique lié aux anticorps mais également à des réponses T inappropriées (3). Lors d'une infection secondaire caractérisée par un contact avec un virus hétérologue, les IgG apparaissent plus précocement et leur taux croît progressivement durant environ deux semaines. Les IgM sont détectées à des taux plus faibles et dans certains cas peuvent être fugaces voire même absentes. D'une manière générale, le titre global en anticorps augmente très rapidement dès la phase aiguë de l'infection et ces anticorps présentent une réactivité croisée significative vis-à-vis d'autres antigènes de *Flavivirus*.

L'émergence ou la réémergence d'un sérotype n'ayant pas circulé depuis plusieurs années peut être à l'origine d'une épidémie (3). Un individu peut en théorie contracter quatre fois la dengue, avec chacun des quatre sérotypes identifiés (2).

1.3.3 Tableau clinique

La dengue est une maladie systémique qui comprend une grande variété de formes cliniques (2) souvent pauci-symptomatiques ou asymptomatiques (6).

Les quatre sérotypes du virus de la dengue étant étroitement apparentés, ils entraînent les mêmes signes cliniques.

Après une incubation de 3 à 10 jours, la maladie débute brutalement et évolue en trois phases : fébrile, critique et de guérison (2,4,6).

La phase fébrile dure 2 à 7 jours et associe une fièvre élevée et des symptômes peu spécifiques : céphalées, syndrome algique diffus, en particulier douleurs rétro-orbitaires, douleurs musculo-articulaires, asthénie et de façon inconstante éruption maculo-papuleuse. Les signes digestifs (anorexie, nausées et vomissements) sont fréquents. Des signes hémorragiques localisés sont également possibles à type de pétéchies, purpura, gingivorragies, épistaxis ou saignement digestif. Un test du « *signe du lacet* » positif à cette phase augmente la probabilité diagnostique (2,3,6).

La phase critique survient entre le 3^{ème} et le 7^{ème} jour de la maladie, au moment de la défervescence. Un syndrome de fuite plasmatique, de gravité variable, survient chez 2 à 4 % des patients, compliqué ou non de manifestations hémorragiques, et pouvant dans de rares cas aboutir à un état de choc (2).

L'évolution clinique est variable et souvent imprévisible (2,6). La plupart des sujets infectés guérissent spontanément. Dans certains cas, l'infection peut évoluer après 2 à 7 jours et la phase de défervescence vers une forme grave engageant le pronostic vital (2,3,6).

1.3.4 Diagnostic différentiel

La dengue peut facilement être confondue avec d'autres maladies, en particulier dans des situations non épidémiques. Les nombreuses autres étiologies évoquées devant des symptômes de la dengue sont : fièvre jaune, encéphalite japonaise, encéphalite de Saint Louis, infection à virus Zika, infection à virus West Nile, infections à alphavirus comme le chikungunya et le Sinbis, paludisme, leptospirose, typhoïde, rickettsioses, rougeole, infections à entérovirus, grippe et autres syndromes grippaux, fièvres hémorragiques et infection aiguë par le VIH (7).

1.3.5 Classification

Une nouvelle classification des niveaux de gravité de la dengue est actuellement proposée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (2,7).

Se distinguent (2,5,7) :

- 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 ...).

1.3.6 Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection par le virus de la dengue

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 (7). Ensuite, les particules virales disparaissent.

Lors d'une infection primaire (Figure 1), les IgM anti-dengue spécifiques apparaissent aux alentours du 5^{ème} jour après les premiers signes cliniques (2). Les anticorps seraient détectables chez 50 % des patients après 3 à 5 jours, chez environ 80 % au 5^{ème} jour et 99 % au 10^{ème} jour (7). Le titre des anticorps atteint son pic en deux semaines environ puis diminue pour devenir indétectable au bout de trois mois (2,7). Ce délai est parfois beaucoup plus long, ce qui peut, à l'échelle individuelle, compliquer l'interprétation d'un seul prélèvement. Les IgG apparaissent vers le 10^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques puis diminuent progressivement tout en restant détectables pendant plusieurs années (7).

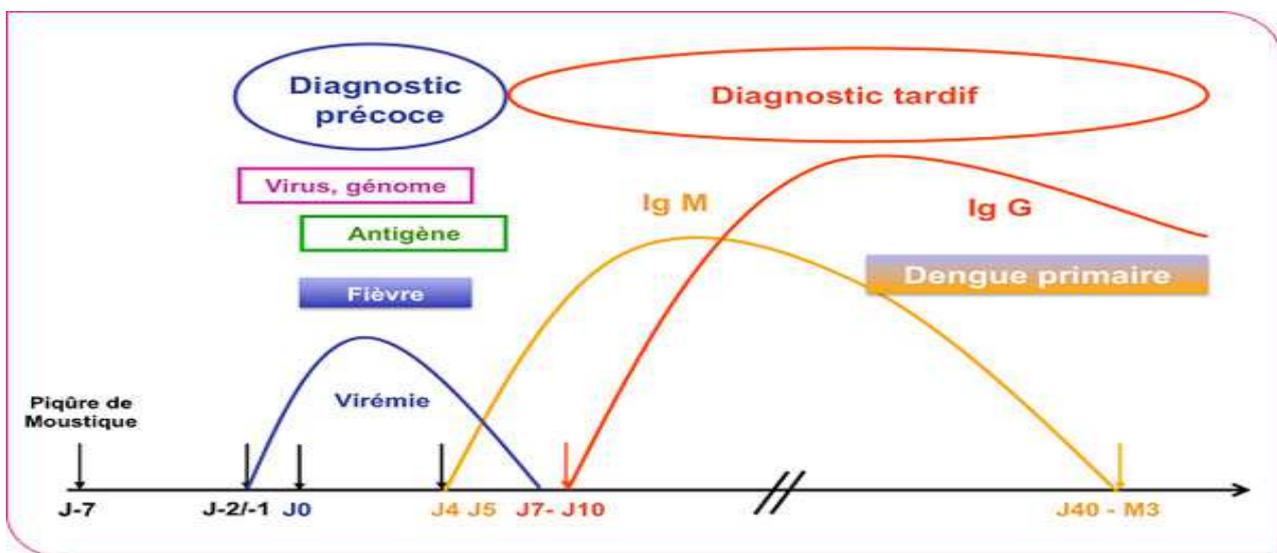


Figure 1. Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection par le virus de la dengue. Cas d'une infection primaire (le virus peut être détecté jusqu'à 7 jours) (2,8)

Au cours d'une infection secondaire (Figure 2), la réponse des IgG est plus rapide dès la phase aiguë (1 à 2 jours après le début des signes cliniques). Leur titre est plus élevé que lors d'une infection primaire et elles persisteront plus longtemps (2). Les taux d'IgM sont plus faibles qu'en cas d'infection primaire (voire indétectables dans certains cas) (2,7). La détermination du ratio IgM/IgG peut être utilisée pour distinguer une dengue secondaire d'une dengue primaire (7).

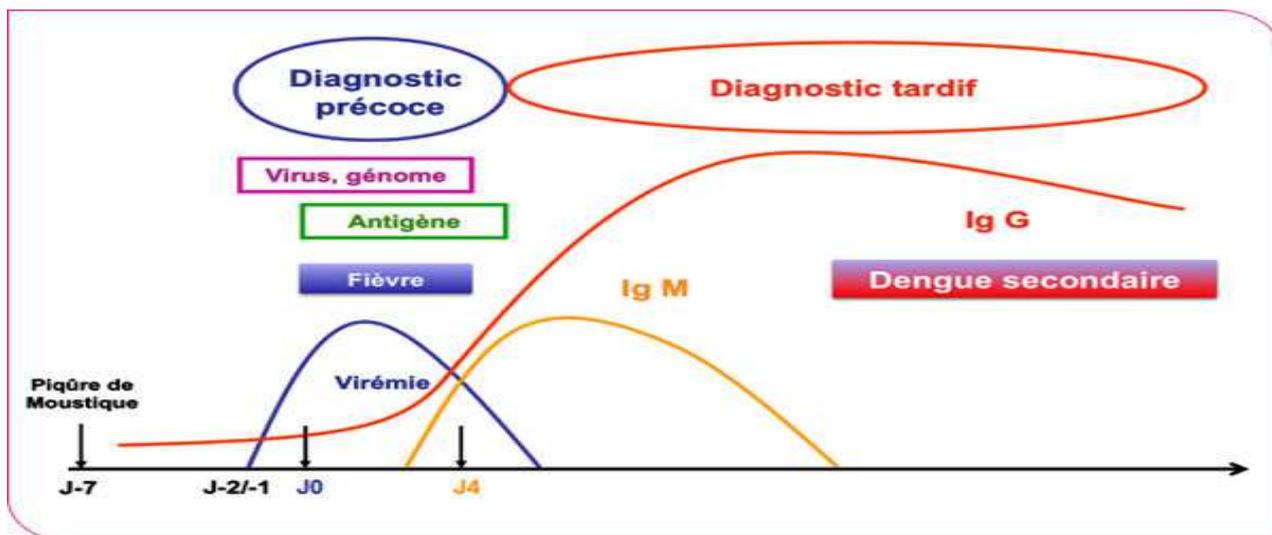


Figure 2. Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection par le virus de la dengue. Cas d'une infection secondaire (le virus peut être détecté jusqu'à 7 jours) (2,8)

1.3.7 Épidémiologie

L'OMS estime qu'il y aurait 50 millions de cas de dengue dans le monde chaque année (7). Ce virus serait responsable de 20 à 30 000 décès par an dans le monde survenant principalement chez des enfants (7). Le taux de mortalité le plus élevé est observé chez les moins de cinq ans (5).

La dengue est présente dans la plupart des régions tropicales et subtropicales (3). Depuis une trentaine d'années, on observe une extension importante de la répartition géographique et du nombre de cas annuels de dengue (3). Tous les continents sont actuellement concernés et plus particulièrement l'Amérique latine et l'Asie. En 2010, des cas autochtones ont été notifiés dans des zones non-endémiques en Amérique comme en Floride (districts de Key West et Broward) et à Buenos Aires, mais également en Europe : à Nice, en France (2 cas) et en Croatie (2 cas) (9).

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 (2,3). Toutefois, le moustique vecteur *Aedes albopictus* s'est implanté durablement dans le Sud-Est de la France métropolitaine depuis 2004. Son aire d'implantation progresse régulièrement et les départements où il est présent sont en 2012 les départements des Alpes-Maritimes (depuis 2004), de Haute-Corse (2006), de Corse-du-Sud et du Var (2007), des Alpes-de-Haute-Provence et des Bouches-du-Rhône (2010), du Vaucluse, du Gard et de l'Hérault (2011) et très récemment du Lot-et-Garonne (2012). *Aedes albopictus* a également été observé ponctuellement et éliminé en région Rhône-Alpes (10). En 2010, deux cas de dengue autochtones ont été détectés dans le sud de la France (Nice) (5,10). Le risque d'installation d'un cycle de transmission autochtone et le risque épidémique ne peuvent être écartés en France métropolitaine (10).

1.3.8 Qualité de vie

Des informations relatives à la qualité de vie et au coût de la maladie ont été intégrées afin de documenter la dengue dans toutes ses dimensions.

La recherche documentaire a été menée de façon à identifier les publications évaluant la qualité de vie associée à l'infection par la dengue. Seules les études au cours desquelles la qualité de vie a été évaluée à l'aide d'outils validés ont été sélectionnées. Un encadré méthodologique sur la mesure de la qualité de vie dans les études retenues est présenté en annexe (cf. Annexe 3).

► Présentation des études

Deux études ont été identifiées et sélectionnées (11,12).

Une étude a été menée au Brésil dans le cadre d'un projet international soutenu par la *Pediatric Vaccine Dengue Initiative* dont l'objectif est d'évaluer l'impact économique et en termes de qualité de vie de la dengue (11).

Une étude a été menée dans la vallée du Klang en Malaisie avec l'objectif d'évaluer la qualité de vie au cours de l'infection par la dengue (12).

Les caractéristiques méthodologiques et les principaux résultats des études sont présentés en Annexe 4.

► Synthèse des études de qualité de vie

Il ressort des études analysées que 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, ce qui correspond à la période fébrile, puis la qualité de vie s'améliore progressivement pour retrouver son niveau initial après 10 à 15 jours. Dans les deux études identifiées, la qualité de vie était plus fortement dégradée chez les patients hospitalisés, souffrant de formes plus sévères de la maladie.

1.3.9 Coût de la maladie

Aucune publication portant sur le coût de la dengue en France (métropole et Outre-mer) n'a été identifiée.

1.3.10 Stratégie de prise en charge

► Stratégie de prise en charge médicale

La stratégie de prise en charge repose sur la confirmation du diagnostic (essentiellement biologique).

Il n'existe ni traitement préventif, ni traitement spécifique, ni vaccin commercialisé (en phase de recherche) (13,14).

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 (13,14). La surveillance du patient est essentielle (14). L'hospitalisation est en théorie nécessaire si le patient présente des facteurs de risque, des signes d'alarme ou une forme sévère (2,14). En cas de dengue grave, le maintien de la volémie en service de réanimation est essentiel (3,14).

► Stratégie de surveillance et de contrôle

La prévention de la dengue est difficile et repose sur plusieurs axes (3,6,14) :

- surveillance constante des foyers d'endémie et suivi des épidémies : surveillance des populations de vecteurs, isolement et identification des virus en cause, typage moléculaire du virus des cas confirmés en début d'épidémie. L'introduction d'un nouveau sérotype est souvent associée au déclenchement d'épidémies sévères et la sévérité de l'infection serait liée en partie à l'existence de déterminants viraux de virulence parmi les quatre sérotypes (5) ;
- lutte antivectorielle avec contrôle des populations de vecteurs domestiques responsables de la transmission à l'homme : démoustication ponctuelle, suppression des gîtes larvaires à proximité des habitations (tout récipient d'eau stagnante), démoustication des avions ;
- protection de la population humaine :
 - ▶ par lutte contre la transmission : moustiquaires, répulsifs,

- ▶ par éducation sanitaire des populations locales pour éviter la création des gîtes larvaires, et des voyageurs pour éviter les cas d'importation et la dissémination épidémique dans d'autres régions du monde.
- sécurisation des produits de santé d'origine humaine.

1.4 Stratégie diagnostique actuelle

1.4.1 Intérêt du diagnostic biologique

Un diagnostic rapide et précis est essentiel pour écarter les autres pathologies qui pourraient entraîner les mêmes symptômes ou des symptômes proches (dont le chikungunya mais également la fièvre jaune, l'encéphalite japonaise, l'encéphalite de Saint Louis, l'infection à virus Zika, à virus West Nile, le Sinbis, le paludisme, la leptospirose, la typhoïde, les rickettsioses, la rougeole, les infections à entérovirus, la grippe et les maladies grippales, et les fièvres hémorragiques) et orienter les modalités de prise en charge.

La confirmation du diagnostic permet d'arrêter les investigations diagnostiques et de mettre en place et/ou poursuivre un traitement adapté. Elle permet ainsi d'informer les populations sur les signes d'alerte, de proposer un traitement adapté sans salicylés et de mettre en place un suivi adapté (en particulier pendant la phase critique), avec une mise en place rapide de maintien de la volémie si nécessaire.

La symptomatologie clinique étant peu spécifique, le diagnostic biologique est nécessaire à la confirmation du diagnostic (3,6).

Selon le stade de la maladie, le diagnostic sera basé sur des techniques différentes. La virémie dure en moyenne 7 jours après le début des signes cliniques, le diagnostic direct est réservé aux stades précoces de la maladie (en pratique la première semaine après le début des symptômes) avec pour méthodes la détection du virus, de son génome ou d'antigènes viraux. Le diagnostic tardif (à partir du 5^{ème} jour) est un diagnostic indirect basé sur la détection d'anticorps IgM et/ou IgG. Entre J5 et J7, les tests directs et indirects doivent être pratiqués de concert (6).

1.4.2 Diagnostic direct

▶ Détection du virus : isolement viral par culture cellulaire

A 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 (2,7). Cette méthode ne permet de poser un diagnostic que dans un délai de 3 à 10 jours et n'est donc pas adaptée aux situations d'urgence (2). De plus, cette technique est réservée aux centres nationaux de référence ou aux laboratoires de recherche ou hospitaliers équipés d'un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (LSB 3) du fait de la classification des virus de la dengue (DENV) comme agents biologiques de classe 3 (2).

▶ Détection antigénique de la protéine NS1

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 (3). La sensibilité de ces tests est variable (58 à 93 % selon les études), et un résultat négatif ne permet pas d'exclure un diagnostic de dengue (2,3). Il existe plusieurs techniques de détection antigénique de NS1 : la méthode immunoenzymatique ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) fondée sur la détection de l'antigène NS1 par immunocapture et une méthode rapide d'immunochromatographie avec lecture visuelle (ICT) rendant encore plus accessible le diagnostic précoce de la dengue. Mais d'après le Haut conseil de santé publique, les performances des tests ICT seraient inférieures à celles des tests immunoenzymatiques (2).

► Détection du génome du virus : RT-PCR (*Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction*) et RT-PCR en temps réel

Description technique

- Transcription inverse (*Reverse Transcription*) (RT)

La détection du génome du virus nécessite l'extraction et l'amplification spécifique et l'identification des acides nucléiques viraux (7). La PCR est une technique d'amplification des fragments d'ADN. Par conséquent, pour évaluer l'ARN viral par PCR, il faut passer par une étape intermédiaire, la transcription inverse, qui transforme l'ARN en son ADN complémentaire (ADNc). Le brin d'ADNc est ensuite amplifié au cours de la PCR. L'ensemble des deux réactions est appelé RT-PCR (15).

- PCR classique

La PCR est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser un nouveau brin d'ADN à partir de la matrice de l'ADNc (15).

Le protocole standard nécessite deux amorces oligonucléotidiques pour les deux extrémités de la région d'ADN ciblée que l'on souhaite amplifier. Le milieu réactionnel comprend l'ADNc matrice, les deux amorces, l'ADN-polymérase, les 4 désoxyribonucléotides et le cation Mg²⁺ (15).

La PCR se déroule en trois étapes :

- 1) dénaturation thermique : l'ADNc double brin est séparé par la chaleur (95°C) ;
- 2) hybridation des amorces : après abaissement de la température (50 à 65°C), les amorces se fixent à chaque brin séparé d'ADN et déterminent les bornes de la séquence à amplifier ;
- 3) extension des amorces : après élévation de la température (72°C), l'ADN polymérase allonge les amorces en y incorporant les désoxyribonucléotides complémentaires de la séquence de la matrice. A la fin du cycle, deux copies de l'ADN cible sont obtenues.

En PCR classique, environ 30 cycles sont effectués. En quelques heures, 230 copies sont théoriquement générées, le rendement de chaque cible n'atteignant cependant jamais 100 % (15).

L'analyse des produits amplifiés peut être effectuée par plusieurs méthodes : électrophorèse sur gel d'agarose ou d'acrylamide, chromatographie, hybridation en microplaque ou en tube (15).

Les méthodes moléculaires basées sur la RT-PCR permettent également d'identifier le sérotype du virus de la dengue responsable de l'infection, ce qui est intéressant dans un but de surveillance épidémiologique plus qu'à des fins diagnostiques (2).

La PCR nichée est une méthode d'amplification au cours de laquelle le produit issu d'une première PCR est de nouveau amplifié à l'aide d'un second couple d'amorces. Ce couple d'amorces s'hybride à une partie interne (nichée) de la séquence amplifiée. Théoriquement, la sensibilité de la méthode est augmentée puisque deux PCR successives différentes sont réalisées. La spécificité est également augmentée puisque deux couples d'amorces sont utilisés (15).

La PCR semi-nichée est une variante où le produit issu de la première PCR est amplifié à l'aide d'un couple d'amorces dont l'une s'hybride à une partie interne de l'ADN, l'autre étant l'une des deux amorces utilisées au cours de la première PCR (15).

- RT-PCR en temps réel

A l'inverse des techniques de RT-PCR classique dont les étapes d'amplification et d'analyse du produit amplifié sont séparées, la RT-PCR en temps réel est une technique en une seule étape, utilisée pour quantifier l'ARN viral (7,15).

L'utilisation de sondes fluorescentes permet la détection de la réaction en temps réel, avec un équipement spécialisé, sans nécessité de recourir à une électrophorèse (7). Son principe est fondé, pendant la réaction spécifique d'amplification, sur la détection et la quantification d'un signal

fluorescent émis par un fluorophore dont l'intensité d'émission est proportionnelle à la quantité de produit amplifié (15). Elle permet donc une analyse qualitative et quantitative de l'amplification du génome présent. Sa réalisation en tube fermé permet de réduire les risques de contamination (15). Ce point est fondamental en particulier dans les laboratoires réalisant un grand nombre d'analyses. Un des avantages de la PCR en temps réel est sa rapidité (environ 60 minutes pour 30 cycles).

Enfin, elle permet également le multiplexage (un ou plusieurs agents pathogènes peuvent être recherchés et mis en évidence simultanément dans le même tube) (15). La PCR multiplex est l'amplification simultanée de plusieurs séquences cibles dans un même tube d'amplification. Chaque amplification doit être indépendante des autres dans un même tube, le résultat devant être identique à celui obtenu isolément dans un tube avec un seul couple d'amorces (15).

D'autres méthodes sont en cours de développement pour le diagnostic de la dengue comme par exemple la méthode NASBA (*Nucleic Acid Sequence Based Amplification*) (7).

1.4.3 Diagnostic indirect - sérologie

Tests immunoenzymatiques ELISA (IgM et IgG)

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. La détection de ces anticorps se fait par une technique d'inhibition de l'hémagglutination (*HIA - Hemmagglutination-Inhibition Assay*), accessible à certains laboratoires, ou par une méthode ELISA, accessible à tous les laboratoires. On peut ainsi caractériser une infection récente par l'augmentation du titre des IgG au cours du temps. Un taux augmenté d'au moins quatre fois dans un échantillon prélevé à deux semaines d'intervalle du premier est pathognomonique (2,7).

Les tests immunoenzymatiques MAC-ELISA (*IgM Antibody-Capture Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay*) permettent de détecter les IgM et donc de poser un diagnostic plus tardif que la PCR puisqu'elles apparaissent en moyenne au 5^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques de dengue et persistent 2 à 3 mois (3).

Les tests immunoenzymatiques ELISA détectent les IgG et permettent le diagnostic tardif d'une infection en cours ou passée car elles apparaissent vers le 10^{ème} jour (Figure 1) (3).

L'interprétation de ces tests indirects pourrait être compliquée par l'existence de réactions croisées (manque de spécificité) vis-à-vis d'autres pathogènes (en premier lieu les autres flaviviroses : dengue antérieure, paludisme, leptospirose ...) (2,3,7).

La cinétique d'apparition des IgM et des IgG étant différente en cas d'infection secondaire et d'infection primaire (Figure 2), le ratio IgM/IgG peut être utilisé pour différencier une dengue primaire d'une dengue secondaire (7).

Seules une séroconversion sur une paire de sérums IgM ou IgG ou une augmentation de quatre fois le titre d'IgG permettent une confirmation du diagnostic, la positivité sur un seul sérum n'étant que hautement suggestive (7).

Tests immunochromatographiques rapides (ICT) (IgM)

D'après des données de l'OMS, ces tests ICT ne montreraient pas de performance acceptable (2,14).

1.5 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie

Les actes d'isolement et de caractérisation virale et la détection des IgM/IgG spécifiques sont inscrits à la NABM et pris en charge par l'Assurance maladie. Les libellés de ces actes sont variables pour tous les arbovirus et ne sont pas uniquement relatifs à la dengue (Tableau 1). Le faible

nombre d'acte relatifs aux cultures orientées et à l'identification confirme que ce test est peu utilisé en pratique pour le diagnostic.

L'acte de détection de l'antigène NS1 de la dengue par dosage immunoenzymatique (*EIA - Enzyme Immuno Assays*) ou immunochromatographie (ICT) est inscrit à la NABM et pris en charge par l'Assurance maladie (cf. Tableau 1). Le libellé de cet acte est spécifique de la dengue. L'indication est le diagnostic précoce de la dengue du premier au 5^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques.

Tableau 1. Prise en charge par l'Assurance maladie

Code de l'acte	Libellé de l'acte	Nb 2008	Nb 2009	Nb 2010	PCAP 2009-2010 (%)
1707	Arboviroses : recherche d'IgM spécifiques par EIA	3 976	3 316	8 516	+ 156,8 %
1708	Arboviroses : recherche d'IgG spécifiques par EIA	3 656	2 943	7 363	+150,2 %
4211	Arbovirus : cultures orientées et identification	1	3	1	-66,7 %
4273	NS1 dengue par EIA et ICT *	NA	NA	NA	NA

(Source : BiolAM 2008/2009/2010)

* inscrit à la NABM en 2010 (JO du 27/08/2010)

L'augmentation importante en 2010 est à mettre au compte de l'épidémie majeure de dengue qui a sévi dans les DFA.

1.6 Identification dans les nomenclatures étrangères

Les nomenclatures australienne, belge et québécoise ont été consultées.

Les actes de détection de l'antigène, d'isolement et caractérisation virale, de détection des IgM/IgG spécifiques et de RT-PCR n'ont pas été identifiés dans les nomenclatures australienne et québécoise.

Dans la nomenclature belge, ont été identifiés :

- dosage des IgM par méthode immunologique (Maximum 1) (codes 541251 et 541262) ;
- recherche d'anticorps contre des virus tropicaux (fièvre jaune, dengue, West-Nile, chikungunya, virus de fièvres hémorragiques) (Maximum 5) (Règle de cumul 328) (codes 551250 et 551261).

2. Méthode d'évaluation

La méthode d'évaluation utilisée dans ce rapport par la HAS (cf. Annexe 1) 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.

2.1 Champ de l'évaluation

Une note de cadrage de l'évaluation a été réalisée en mai 2012. A cette occasion, le Collège de la HAS a émis un avis sur le champ de l'évaluation (médical et économique) :

Le champ médical était ainsi défini :

Les aspects suivants seront évalués :

- performance diagnostique (sensibilité, spécificité) ;
- place dans la stratégie diagnostique et éventuel impact sur la réalisation des autres tests ;
- impact sur la prise en charge médicale ;
- conditions de réalisation.

L'intérêt épidémiologique du test sera exclu de l'évaluation.

Le champ économique était ainsi défini :

La demande d'inscription du test RT-PCR pour le virus de la dengue soulève de nombreuses questions économiques et de santé publique telles que, par exemple, la qualité de vie des personnes infectées, la définition et la taille de la population potentiellement concernée ou les conditions d'offre et d'accès au test et à la prise en charge des personnes infectées. Plus largement, il conviendrait de comparer ce test à d'autres mesures, notamment prophylactiques, existantes ou envisageables à moyen terme et ce, dans une perspective de prévention ou de maîtrise de la dynamique de l'épidémie.

Dans cette situation, la réalisation d'une évaluation économique de type coût-utilité serait pertinente. Elle permettrait notamment d'évaluer l'efficacité du test dans une démarche de prévention de la dengue et de prise en charge des personnes infectées. Elle permettrait également de différencier, si nécessaire, les situations selon le niveau d'endémicité, sachant que ce niveau varie dans le temps, et dans l'espace.

Néanmoins, une telle évaluation nécessiterait la mise en œuvre d'une modélisation complexe, incompatible avec les attentes du demandeur de l'évaluation.

En conséquence, la HAS ne préconise pas la réalisation d'une évaluation économique de type coût-utilité à ce stade. Les questions économiques et de santé publique seront identifiées et documentées le plus complètement possible dans le cadre de ce travail.

2.2 Recherche documentaire

2.2.1 Bases de données bibliographiques

► Liste des bases interrogées

Les bases bibliographiques suivantes ont été interrogées :

- pour la littérature internationale : la base de données *Medline* ;
- pour la littérature francophone : la base de données Pascal et la Banque de données en santé publique (BDSP).

► Stratégie d'interrogation des bases et résultats

La recherche a porté sur les sujets et les types d'études définis en accord avec les chefs de projet et a été limitée aux publications en langue anglaise et française.

Elle a porté sur la période de janvier 2007 à janvier 2012. Une veille a été réalisée jusqu'en juillet 2012.

La stratégie de recherche dans les bases de données est détaillée dans le Tableau 17 en Annexe 2.

Le nombre total de références obtenues par la recherche dans les bases de données est de 366.

2.2.2 Sites internet

► Liste des sites consultés

La liste des sites consultés est présentée en Annexe 2.

► Recherche et résultats

Sont recherchés ici les revues systématiques, les méta-analyses, les rapports d'évaluation de technologie de santé ou les recommandations de bonnes pratiques publiées par différents organismes (agences d'évaluation, sociétés savantes, institutions sanitaires, ministère de la santé ...).

Les sites internet ont été interrogés en fonction des modalités de recherche propres à chacun : consultation de la liste des publications et/ou requête dans le moteur de recherche avec les mots-clés suivants : dengue, NS1.

Cette recherche a été réalisée en janvier 2012. Une veille documentaire a été réalisée jusqu'en juillet 2012.

Le nombre total de références obtenues par la recherche sur les sites est de 53.

2.3 Sélection des documents identifiés

2.3.1 Première sélection des documents identifiés par la recherche bibliographique par lecture des titres et des résumés

La recherche bibliographique présentée ci-dessus a permis d'identifier 419 documents.

Une analyse des titres et résumés de ces documents a permis la réalisation d'une première sélection sur les critères suivants (un des trois critères devait être présent pour que le document soit sélectionné) :

- critère n°1 : études cliniques évaluant la détection de la méthode RT-PCR : performance diagnostique (sensibilité/spécificité), place dans la stratégie diagnostique, impact sur la prise en charge thérapeutique et sanitaire ;

- critère n°2 : recommandations de bonne pratique et autre littérature synthétique (rapports d'évaluation, méta-analyses, revues systématiques) sur le diagnostic et/ou la prise en charge sur la dengue ;
- critère n°3 : documents généraux sur la dengue (histoire naturelle, diagnostic, prise en charge) et documents de référence officiels sur la dengue.

A l'issue de cette première sélection après la lecture des titres et résumés, 282 documents ont été retenus et inclus dans la base d'étude. Après la lecture des 282 articles, à l'issue de cette seconde sélection, 86 documents ont été retenus pour le critère 1, six pour le critère 2.

2.3.2 Sélection des documents analysés dans ce rapport par lecture complète

Cette sélection a été réalisée après avoir analysé les documents en lecture complète.

► Littérature synthétique

Critères d'exclusion

Ont été exclus de l'analyse de la littérature, tous documents généraux synthétiques correspondant à au moins un critère d'exclusion suivant :

- critère n°1 : tout document autre que recommandations, rapports d'évaluation, méta-analyses et revues systématiques ;
- critère n°2 : tout document sans méthode explicitée (au sein du même document ou dans un document différent) ;
- critère n°3 : versions anciennes dont une mise à jour a été faite ou documents repris dans une publication plus récente ;
- critère n°4 : documents hors sujet ou sans précisions suffisantes lorsqu'il n'a pas été possible de les éliminer avec la sélection sur titre et résumé.

Résultats

Quatre textes de recommandations ont été ainsi sélectionnés.

- Recommandations de l'OMS de 2009 « *Dengue. Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control* » (7).

L'édition 2009 est la troisième édition des recommandations de l'OMS (la précédente datant de 1997).

La rédaction de chaque chapitre a été allouée à un coordinateur membre de l'OMS ainsi qu'à au moins un expert rédacteur non membre de l'OMS. Une fois rédigé sur la base de la littérature, chaque chapitre a été envoyé en relecture. Pour le chapitre 4 relatif au diagnostic biologique, dix experts ont participé à la relecture et échangé leurs commentaires électroniquement. Les intérêts éventuels ont été déclarés et indiqués au sein des recommandations. Chaque chapitre est basé sur des preuves référencées en particulier lorsqu'il s'agit de données nouvelles, de données qui peuvent modifier la pratique courante, qui décrivent des recherches en cours ou qui reflètent des développements clés dans la connaissance du sujet. Priorité a été donnée aux revues systématiques lorsqu'elles étaient disponibles.

- Recommandations du Ministère de la santé de Malaisie de 2010 « *Management of dengue infection in adults* » (16).

Les recommandations du Ministère de la santé de Malaisie sont basées sur une analyse systématique de la littérature. Le groupe de travail (18 experts) a été réuni 15 fois au cours de l'élaboration de ses recommandations. Les données de littérature ont été extraites en tableau d'évidence par au moins deux membres du groupe, puis discutées par le groupe entier au cours des réunions de travail. Les données d'évidence ont été gradées suivant la méthode de l'agence d'évaluation de Catalogne (CAHTAR - *Catalonia Agency for Health Technology Assessment and Research*) et les

recommandations selon la méthode du *Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN)*. Toutes les recommandations élaborées ont été validées par consensus à la fois par le groupe de travail puis par le groupe de lecture. Une version préliminaire des recommandations a été publiée sur le site du Ministère de la santé de Malaisie pour commentaires. Ces recommandations ont également été soumises à deux commissions du Ministère de la santé pour relecture et validation (*Technical Advisory Committee for Clinical Practice Guidelines*, et le *Health Technology Assessment and Clinical Practice Guidelines Council*).

- Rapport du Haut conseil de santé publique de 2011 « Stratégie de diagnostic biologique de la dengue » (17).

Le rapport du HCSP est basé sur une analyse de la littérature ainsi que sur l'avis d'un groupe de travail. La méthode de sélection des articles et d'élaboration des stratégies diagnostiques n'est pas précisée.

- Rapport d'évaluation de la Haute autorité de santé de 2009 sur la détection antigène NS1 (3).

La méthode utilisée pour ce rapport d'évaluation est la méthode habituelle de la HAS identique à la méthode employée dans le présent rapport et s'est appuyée sur l'analyse critique des données de la littérature scientifique après une recherche bibliographique systématique et sur la position d'un groupe de travail multidisciplinaire interrogé à distance, composé de professionnels de santé concernés par la pathologie (3). Ce rapport est en ligne sur le site de la HAS.

► Documents officiels de référence

Critères d'exclusion

Ont été exclus de l'analyse de la littérature, tous documents correspondant à au moins un critère d'exclusion ci-dessous :

- critère n° 1 : tout document autre qu'un document officiel émanant d'une instance française (y compris en Outre-mer) ;
- critère n° 2 : versions anciennes dont une mise à jour a été faite ou documents repris dans une publication plus récente ;
- critère n° 3 : documents hors sujet ou sans précisions suffisantes.

Résultats

Trois documents officiels de référence ont été ainsi sélectionnés.

- Plan anti-dissémination de la Direction générale de la santé (10,18).
- Les programmes de surveillance d'alerte et de gestion des épidémies de dengue (PSAGE) de Martinique et de Guadeloupe, 2007 (19,20)

Le plan anti-dissémination a été élaboré par la sous-direction « Prévention des risques infectieux » du département des urgences sanitaires de la Direction générale de la santé.

Ce plan, actualisé chaque année, est diffusé par circulaire. Il précise les modalités concrètes de mise en œuvre du plan et décrit les mesures de prévention, de surveillance et de gestion applicables en France métropolitaine. Les mesures de gestion ont pour objectif la mise en œuvre rapide et coordonnée d'actions de contrôle du vecteur quand il est présent et de protection des personnes, de façon graduelle et proportionnée au risque. La méthode d'élaboration n'est pas précisée.

Les PSAGE précisent les modalités applicables en Martinique et en Guadeloupe.

► Etudes originales

Critères d'exclusion

Ont été exclus de l'analyse de la littérature, tous documents correspondant à au moins un des critères d'exclusion suivants :

- Critère n°1 : la technique étudiée est spécifique d'un seul sérotype du virus de la dengue (car les résultats ne sont pas extrapolables à la population générale qui peut être atteinte par tous les sérotypes du virus) ;
- Critère n°2 : le test de référence n'est pas pertinent (sont considérés comme pertinent les tests de confirmation de la dengue listés par l'OMS (isolement viral, antigène NS1, sérodiagnostic) ; et/ou la stratégie diagnostique de référence n'est pas citée ;
- Critère n°3 : les valeurs de sensibilité et de spécificité pour la RT-PCR ne sont pas précisées et calculées chez des patients présentant des symptômes de la dengue aiguë ;
- Critère n°4 : le nombre d'échantillons testés est inférieur à 30.

Résultats concernant la performance de la RT-PCR

Répondant à ces critères, 16 études ont été analysées dans ce rapport (cf. Tableaux ci-après).

Ces 16 études évaluent l'efficacité de la PCR en termes de sensibilité et de spécificité.

Deux types de comparaison ont été identifiés :

- le test RT-PCR est comparé à un test de référence variable selon les études (l'isolement viral, sérodiagnostic, algorithme conjuguant les deux méthodes...) : 7 études ;
- le test NS1 est comparé par rapport à la RT-PCR qui devient le test de référence : 6 études.

Ces études comportent des limites méthodologiques importantes (qui sont détaillées en Annexe 5 et Annexe 6) :

- la plupart de ces études sont des séries de cas² majoritairement rétrospectives ;
- peu ou pas d'informations sur le caractère consécutif ou non des patients ;
- certaines études incluent des sujets sains mais pas de patients atteints d'autres pathologies virales ;
- la période de virémie n'est pas caractérisée de façon homogène entre les études ;
- certaines analyses ne précisent pas les critères de suspicion clinique de la dengue utilisés ;
- certaines études n'incluent que des patients infectés par un seul sérotype et/ou uniquement des infections secondaires ;
- de plus, certaines analyses statistiques manquent, la significativité statistique n'est en particulier pas toujours renseignée.

² Série de cas : description d'une série de cas présentant globalement les mêmes caractéristiques cliniques, sans comparaison avec un groupe témoin ou un autre groupe de cas.

Tableau 2. Etudes analysées concernant les performances de la RT-PCR en comparaison à l'isolement viral et/ou au sérodiagnostic (séroconversion)

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Test évalué	Comparateur
Callahan <i>et al.</i> , 2001 (21)	Etude rétrospective (USA)	67 sérums positifs par isolement viral et 21 sérums de donneurs sains	RT-PCR (TaqMan)	isolement viral
Kong <i>et al.</i> , 2006 (22) Yong 2007 (23)	Etude rétrospective (Malaisie)	376 échantillons de cas de dengue confirmée et 70 échantillons de patients atteints d'autres infections virales	RT-PCR en temps réel (TaqMan) RT-PCR (multiplex et SybGreen)	isolement viral, serologie (séroconversion)
Pok <i>et al.</i> , 2010 (24)	Etude rétrospective (Singapour)	2 sérums consécutifs (J1 à J3 et J3 à J8) de 112 patients avec suspicion clinique de dengue (set A) 100 échantillons négatifs pour la dengue (J1 à J8) (set B)	RT-PCR (Lai et al) NS1 (BioRad Platelia Dengue) NS1 (Ag Strip) NS1 (Panbio Dengue Early) NS1+IgM (Panbio Dengue Duo Cassette) IgM (Panbio Dengue Capture) IgG (Panbio Dengue Capture)	RT-PCR ou IgM séroconversion ou titre élevé d'IgG
Lai <i>et al.</i> , 2007 (25)	Etude rétrospective (Singapour)	set A : 110 patients suspectés de dengue avec 3 échantillons, le premier à J3, le second à J6 et le dernier à J21 set B : 149 patients suspectés de dengue	RT-PCR en temps réel (SYB Green)	set A : sérologie (séroconversion) set B : isolement viral et IFA
Saxena <i>et al.</i> , 2008 (26)	Etude rétrospective (Inde)	620 sérums (J0 à J4) provenant de patients fébriles suspectés cliniquement de dengue et 40 échantillons de volontaires sains	RT-PCR semi-nichée RT-PCR multiplex	isolement viral
Wu <i>et al.</i> , 2008 (27)	Etude rétrospective (USA)	81 sérums de patients suspectés cliniquement de dengue et 25 échantillons de volontaires sains	RT-PCR (multiplex et SYBGreen)	Isolement viral + IFA

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Test évalué	Comparateur
Watthanaworawit <i>et al.</i> , 2011 (28)	Etude prospective (Thaïlande)	162 patients inclus (J0 à J7) avec fièvre et signes cliniques de la maladie (saignements anormaux, maux de tête, myalgies, rash, rougeur oculaire) en excluant les patients ayant un diagnostic alternatif clair (malaria, infection urinaire, pneumonie) puis revus 10 à 14 jours après dont 72 patients avec une dengue confirmée par la séroconversion (dont 71 sérotypes 3)	RT-PCR en temps réel (SYB Green) NS1 ELISA (Panbio Dengue early ELISA) IgM ELISA (Panbio)	Sérodiagnostic : IgM ou IgG séroconversion

Tableau 3. Etudes analysées concernant les performances du test NS1 en comparaison à la RT-PCR

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Test évalué	Comparateur
Fry <i>et al.</i> , 2011 (29)	Etude rétrospective (Vietnam, Malaisie et Australie)	site Vietnamien : 198 patients (J1 à J4) positifs à la RT-PCR et/ou séroconversion (dont 159 positifs à la RT-PCR seule) et 100 patients avec des signes cliniques de dengue sans confirmation biologique site Malaisien : 263 échantillons (J1 à J15) positifs par RT-PCR et 10 échantillons présentant une autre pathologie	site Vietnamien : NS1 ICT (Panbio dengue Early rapid test) site Malaisien : NS1 ICT (Panbio dengue Early rapid test +Panbio duo cassette)	RT-PCR
Guzman <i>et al.</i> , 2010 (30)	Etude prospective (Thaïlande, Philippines, Vietnam, Malaisie, Nicaragua, Vénézuéla)	2 échantillons (J1 à J7 puis J4 à J14) de 2259 patients avec suspicion clinique de dengue dont 1821 testés pour NS1	NS1 ELISA (Paltelia BioRad ou PanE Panbio)	RT-PCR
Najioullah <i>et al.</i> , 2011 (31)	Etude prospective (Martinique)	537 échantillons (J1 à J8) de patients avec une fièvre aiguë dont 264 positifs, tous DENV2	NS1 ELISA (Bio-Rad) NS1 ICT (Bio-Rad)	RT-PCR (Lanciotti modifiée)
Tontulawat <i>et al.</i> , 2011 (32)	Etude rétrospective (Thaïlande)	237 échantillons simples (J1 à J7) et 50 paires d'échantillons de patients présentant des signes cliniques de dengue (fièvre, maux de tête, rash, myalgies, arthralgies)	NS1 ICT (SD Dengue Duo Rapid Test - Standard Diagnostics) (NS1, IgM et IgG)	RT-PCR semi-nichée
Tricou <i>et al.</i> , 2010 (33)	Etude prospective descriptive multicentrique (Vietnam)	deux échantillons de plasma (J0 à J7 puis J4 à J14) de 292 patients inclus avec des signes cliniques de dengue dont 245 RT-PCR positifs	NS1 ICT (Ag Strip BioRad) NS1 ICT (SD Dengue Duo Rapid Test Standard Diagnostics) (NS1, IgM et IgG)	RT-PCR (Hang et al)
Zainah <i>et al.</i> , 2009 (34)	Etude rétrospective (Malaisie)	314 patients avec un diagnostic clinique de dengue précoce et 219 patients avec d'autres pathologies	NS1 ICT (Ag STRIP, BioRad)	RT-PCR (sous groupe)

Résultats concernant la comparaison entre différentes méthodes de RT-PCR

Sept études répondants à ces critères ont été identifiées et analysées :

- trois études comparent différentes méthodes de RT-PCR à une méthode de référence (isolement viral ou séroconversion) ;
- quatre études comparent des méthodes de RT-PCR en temps réel ou multiplex par rapport à la RT-PCR conventionnelle.

Le Tableau 4 et le Tableau 5 ci-après détaillent les méthodes utilisées.

Ces études comportent des limites méthodologiques (détaillées en Annexe 7) :

- toutes ces études sont des séries de cas rétrospectives ;
- certaines analyses statistiques manquent, la significativité statistique n'est en particulier pas toujours renseignée.

Tableau 4. Méthodes des études comparants plusieurs techniques de RT-PCR à un test de référence (isolement viral, séroconversion, ou les deux)

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Test évalué	Comparateur
Raengsakulrach <i>et al.</i> , 2002 (35)	Etude rétrospective (Thaïlande)	2 échantillons par patient : phase précoce (n= 98 et convalescence n= 143)	RT-PCR Henschal et al RT-PCR Morita et al RT-PCR Lanciotti et al RT-PCR Yenchitsomanus et al	Isolement viral ou sérologie
Saxena <i>et al.</i> , 2008 (26)	Etude rétrospective (Inde)	620 échantillons de sérums provenant de patients fébriles suspectés cliniquement de dengue collectés entre J0 et J4, ainsi que 40 volontaires sains	RT-PCR semi-nichée RT-PCR multiplex	Isolement viral
Yong <i>et al.</i> , 2007 (23)	Etude rétrospective (Malaisie)	280 échantillons dont 95 positifs à l'isolement viral, 15 négatifs à l'isolement viral mais positif à la séroconversion, 100 positifs par IgM et 70 positifs pour d'autres pathologies infectieuses que la dengue	RT-PCR multiplex RT-PCR SYBR Green	Isolement viral ou séroconversion

Tableau 5. Méthodes des études comparants plusieurs protocoles de RT-PCR

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Test évalué	Comparateur
Dash <i>et al.</i> , 2008 (36)	Etude rétrospective (Inde)	360 échantillons en phase précoce de patients avec des infections de dengue et de chikungunya confirmées ou suspectées 20 échantillons provenant de volontaires sains	DCmRT-PCR	RT-PCR
Mishra <i>et al.</i> , 2011 (37)	Etude rétrospective (Inde)	97 patients avec des signes cliniques de dengue ou de chikungunya et 10 patients volontaires sains	DCmRT-PCR	RT-PCR
Paudel <i>et al.</i> , 2011 (38)	Etude rétrospective (Thaïlande)	193 échantillons provenant de patients ayant de la fièvre	RT-PCR SYBR Green RT-PCR Taqman	RT-PCR
Pongsiri <i>et al.</i> , 2012 (39)	Etude rétrospective en aveugle (Thaïlande)	290 cas suspectés de dengue ou de chikungunya entre J0 et J7 et 28 cas atteints d'autres pathologies infectieuses	DCmRT-PCR	RT-PCR

Résultats relatifs à la stratégie diagnostique

Deux études ont été identifiées et analysées (cf. Tableau 6 ci-après).

Les limites méthodologiques sont présentées en Annexe 8. Il s'agit d'une série rétrospective de cas non consécutifs sans témoins et d'une série prospective de cas consécutifs. Certaines analyses statistiques manquent, la significativité statistique n'est en particulier pas toujours renseignée.

Tableau 6. Présentation des études relatives à la stratégie diagnostique

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Test évalué	Comparateur
Duong <i>et al.</i> , 2011 (40)	Etude rétrospective (Cambodge)	336 patients suspectés de dengue ayant de la fièvre dont 243 avec une dengue précoce, 62 ayant une infection autre que la dengue et 17 sans maladie infectieuse	NS1 ELISA (Platelia BioRad)	IgM ou HI et NS1 et/ou isolement viral et/ou RT-PCR ou RT-PCR en temps réel
Watthanaworawit <i>et al.</i> , 2011 (28)	Etude Prospective (Thaïlande)	162 patients inclus âgés de 15 ans ou plus présentant une fièvre de plus de 38°C en phase aiguë de la maladie de J0 à J7 (durée moyenne de la fièvre de 2 jours) avec des signes cliniques de la maladie (saignements anormaux, maux de tête, myalgies, rash...)	RT-PCR en temps réel (SYB Green) NS1 ELISA (Panbio Dengue early ELISA) IgM ELISA (Panbio)	IgM ou IgG séroconversion

2.4 Groupe de travail

2.4.1 Constitution

Les disciplines suivantes ont été sollicitées pour participer à cette évaluation :

- pathologie infectieuse et tropicale, clinique et biologique ;
- biologie médicale ;
- médecine générale ;
- pédiatrie ;
- médecine interne ;
- réanimation médicale ;
- médecine de santé publique ;
- économie.

Ont également été sollicités :

- un représentant du centre national de référence (CNR) des arboviroses ;
- un représentant du Haut conseil de santé publique (HCSP) et du Comité des maladies liées aux voyages et des maladies d'importation ;
- un représentant de l'Institut national de veille sanitaire (InVS).

Le groupe de travail a été constitué par des professionnels de santé indiqués par les organismes professionnels suivants :

- Fédération française d'infectiologie ;
- Société française de biologie clinique ;
- Société française d'immunologie ;
- Société française de microbiologie ;
- Collège de la médecine générale ;
- Société française de pédiatrie ;
- Conseil national des internistes ;
- Société française de médecine des armées ;
- Collège des économistes de la santé.

Le Collège de bonnes pratiques en réanimation et la Société française de santé publique avaient également été sollicités mais n'ont pas indiqué de noms.

Des professionnels non indiqués par les sociétés savantes mais identifiés par la HAS grâce à leur activité dans le domaine ont été contactés mais n'ont pas répondu positivement principalement pour des raisons de calendrier.

2.4.2 Composition

Tableau 7. Composition du groupe de travail

Prénom, NOM	Spécialité	Lieu d'exercice
Emmanuelle BOSDURE	Pédiatrie	Hôpital de la Timone Unité de Médecine Infantile MARSEILLE Cedex 05
André CABIE	Infectiologie	Centre Hospitalier Universitaire de Fort-de-France Service de Maladies Infectieuses et Tropicales FORT-DE-FRANCE Cedex

Raymond CESAIRE	Virologie	Centre Hospitalier Universitaire de Fort-de-France Laboratoire de Virologie et EA4537 FORT-DE-FRANCE Cedex
Alain EL SAWY	Médecine générale	Cabinet libéral, SAINT MARTIN D'HERES SAINT MARTIN D'HERES
Anne-Claire GOURINAT	Pharmacien Biologiste	Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie NOUMEA Cedex NOUVELLE-CALEDONIE
Nathalie HAYES	Economiste	Centre Hospitalier Universitaire BORDEAUX
Cécile HERRMANN	Médecin Biologiste	Centre Hospitalier Universitaire de Pointe-à-Pitre Laboratoire de Microbiologie POINT-A-PITRE Cedex, GUADELOUPE
Marie-Christine JAFFAR-BANDJEE	Médecin Biologiste	Centre Hospitalier Félix Guyon Laboratoire d'Hémato-microbiologie SAINT-DENIS, REUNION
Christine KOWALCZYK	Médecine générale	Cabinet libéral, SAINT ANDRE, REUNION SAINT ANDRE, REUNION
Isabelle LEPARC-GOFFART	Docteur es science, Responsable du CNR	Institut de Recherche Biomédicale des Armées GSBdD Marseille Aubagne MARSEILLE Cedex 02
Sophie MATHERON	Infectiologie	Hôpital Bichat-Claude Bernard Service de Maladies Infectieuses et Tropicales PARIS Cedex 18
Alain MICHAULT	Médecin Biologiste	Centre Hospitalier Régional de la Réunion Pôle de Biologie SAINT-PIERRE, REUNION Cedex
Marie-Claire PATY	Santé Publique	Institut de Veille Sanitaire Département des Maladies Infectieuses SAINT MAURICE Cedex
Patrice POUBEAU	Infectiologie	Centre Hospitalier Régional de la Réunion Unité de Maladies Infectieuses SAINT-PIERRE, REUNION Cedex

En plus des professionnels listés ci-dessus, deux généralistes, quatre infectiologues et un médecin de santé publique ont accepté de participer au GT mais n'ont pas répondu au questionnaire.

2.4.3 Déclaration d'intérêts

Les déclarations publiques d'intérêts (DPI) des membres du groupe de travail ont toutes été analysées selon le « Guide des déclarations d'intérêts et de gestion des conflits d'intérêts » de la HAS de mars 2010.

Aucun des membres du groupe de travail n'a déclaré d'intérêt majeur en relation avec le sujet de cette évaluation.

Ces DPI sont consultables sur le site de la HAS (www.has-sante.fr).

2.4.4 Recueil de la position argumentée du groupe de travail

Le groupe de travail étant en partie (8/14) composé de membres exerçant hors de la métropole, le groupe de travail n'a pas été réuni physiquement à la HAS mais a été consulté en juillet 2012 à distance et sa position a été recueillie par questionnaire (cf. Annexe 13).

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 ; elle est présentée dans la partie « résultats de l'évaluation ».

3. Résultats de l'évaluation

3.1 Littérature

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

► Recommandations et rapports analysés

La méthode RT-PCR est préconisée par l'OMS dans ses recommandations de 2009 (7) et par le Ministère de la santé de Malaisie dans ses recommandations de 2010 (Grade B)³ (16)⁴, ainsi que par le Haut conseil de santé publique en 2011 (2). Les principaux arguments soutenant cette conclusion sont de meilleures performances diagnostiques par rapport au test NS1, une faisabilité facilitée par rapport à l'isolement viral, un résultat plus précoce par rapport aux méthodes de diagnostic indirect. Un avantage de la RT-PCR également mis en avant, est la possibilité de déterminer le sérotype viral à des fins principalement épidémiologiques (2,16).

D'après l'OMS, la sensibilité de la RT-PCR comparée à l'isolement viral varie de 80 à 100 %. Les recommandations du Ministère de la santé de Malaisie précisent que la sensibilité est de 100 % durant les cinq premiers jours de la maladie, puis chute à 70 % au 6^{ème} jour (16).

► Sensibilité et spécificité : études analysées

Sensibilité et spécificité par rapport aux tests de référence : isolement viral (test direct) et séroconversion (test indirect)

D'après les données de la littérature analysées et présentées dans le tableau ci-après, la sensibilité de la RT-PCR (toutes techniques confondues) varie de 92,5 à 100 % par rapport à l'isolement viral. La spécificité est de 100 %.

Tableau 8. Sensibilité (Se) et spécificité (Spé) en % de la technique RT-PCR par rapport à l'isolement viral dans le diagnostic de la dengue.

Premier auteur, année	Type d'étude	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Callahan <i>et al.</i> , 2001 (21)	Etude rétrospective randomisée en aveugle (USA)	RT-PCR en temps réel (TaqMan)	isolement viral	92,5 et 98,5 selon la méthode employée	100
Lai <i>et al.</i> , 2007 (25)	Etude rétrospective (Singapour)	RT-PCR en temps réel (SYB Green)	isolement viral (+ IFA) (set B)	52 RT-PCR positives, vs 46 isolements viraux (+IFA) positifs (set B)	100
Lai <i>et al.</i> , 2007 (25)	Etude rétrospective (Singapour)	RT-PCR en temps réel (SYB Green)	isolement viral (+ IFA) (set B)	52 RT-PCR positives, vs 46 isolements viraux (+IFA) positifs (set B)	100

³ Le grade indiqué correspond au système de gradation des recommandations du SIGN. Le grade de la recommandation est relatif à la solidité des données mais ne reflète pas l'importance clinique de la recommandation. Le grade B du SIGN indique que la recommandation est basée sur des données de bonne qualité issue de revue systématique de haute qualité de cas contrôlés ou d'études de cohorte avec un faible risque de biais et une forte probabilité de causalité (41).

⁴ Le Ministère de la santé de Malaisie note toutefois une disponibilité limitée de ce test et un coût élevé (grade C) (16).

Premier auteur, année	Type d'étude	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Wu <i>et al.</i> , 2008 (27)	Etude rétrospective (USA)	RT-PCR en temps réel (multiplex et SYBGreen)	isolement viral (+ IFA)	98,77	100

D'après les données de la littérature analysées et présentées dans le tableau ci-après, la sensibilité de la RT-PCR (toutes techniques confondues) varie de 88,9 à 100 % par rapport au sérodiagnostic (séroconversion). La spécificité varie de 95,6 à 100 % dans ces mêmes études.

Après J5, la sensibilité de la RT-PCR diminue et tombe aux alentours de 45 % puis à 8 % après J7. D'où l'importance de prélever l'échantillon de sérum entre J0 et J5 pendant la phase de virémie.

Tableau 9. Sensibilité (Se) et spécificité (Spé) en % de la technique RT-PCR par rapport au sérodiagnostic (séroconversion (ou titre élevé d'IgG)) dans le diagnostic de la dengue.

Premier auteur, année	Type d'étude	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Pok <i>et al.</i> , 2010 (24)	Etude rétrospective (Singapour)	RT-PCR (Lai <i>et al.</i>) NS1 (BioRad Platelia Dengue) NS1 (Ag Strip) NS1 (Panbio Dengue Early) NS1+IgM (Panbio Dengue Duo Cassette) IgM (Panbio Dengue Capture) IgG (Panbio Dengue Capture)	séroconversion ou titre élevé d'IgG	RT-PCR : J0 à J3 : 100 J3 à J4 : 93,8 J5 à J6 : 45,8 J7 à J8 : 8,3 NS1 : J0 à J3 : 71,2 à 82,7 J3 à J4 : 50 à 75 J5 à J6 : 66,7 à 79,2 J7 à J8 : 33,3 IgM : J0 à J3 : 17,3 à 21,2 J3 à J4 : 12,5 à 31,3 J5 à J6 : 95,8 J7 à J8 : 83,3 à 100 IgG : J0 à J3 : 11,5 J3 à J4 : 25 J5 à J6 : 33,3 J7 à J8 : 66,7	RT-PCR : 100 NS1 : 100
Lai <i>et al.</i> , 2007 (25)	Etude rétrospective (Singapour)	RT-PCR en temps réel (SYB Green)	set A : séroconversion	set A : 100 % lorsque la RT-PCR est réalisée avant J3	100

Premier auteur, année	Type d'étude	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Watthanaworawit <i>et al.</i> , 2011 (28)	Etude prospective (Thaïlande)	RT-PCR en temps réel (SYB Green) NS1 ELISA (Panbio Dengue early ELISA) IgM ELISA (Panbio)	IgM ou IgG séroconversion	RT-PCR : 88,9 (79,3 - 95,1)	RT-PCR : 95,6 (89,0 - 98,8)
				NS1 : 54,2 (42,0 - 66,0)	NS1 : 100 (96,0 - 100,0)
				IgM : 16,7 (8,9 - 27,3)	IgM : 87,8 (79,2 - 93,7)
				RT-PCR+NS1 : 93,1 (84,5 - 97,7)	RT-PCR+NS1 : 95,6 (89,0 - 98,8)
				RT-PCR+NS1+IgM : 93,1 (84,5 - 97,7)	RT-PCR+NS1+IgM : 83,3 (74,0 - 90,4)
				RT-PCR+IgM : 91,7 (82,7 - 96,9)	RT-PCR+IgM : 83,3 (74,0 - 90,4)
				NS1+IgM : 59,7 (47,5 - 71,1)	NS1+IgM : 87,8 (79,2 - 93,7)

D'après les données de la littérature analysées et présentées dans le tableau ci-après, la sensibilité de la RT-PCR (toutes techniques confondues) varie de 89,5 à 99 % selon un algorithme défini par rapport aux méthodes validées de confirmation de la dengue (isolement viral et/ou séroconversion).

La spécificité est de 100 % dans ces mêmes études.

Tableau 10. Sensibilité (Se) et spécificité (Spé) en % de la technique RT-PCR par rapport au sérodiagnostic (séroconversion) ou à l'isolement viral dans le diagnostic de la dengue.

Premier auteur, année	Type d'étude	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Kong <i>et al.</i> , 2006 (22)	Etude rétrospective (Malaisie)	RT-PCR en temps réel (TaqMan)	isolement viral ou séroconversion	89,54	100
Yong <i>et al.</i> , 2007 (23)	Etude rétrospective (Malaisie)	RT-PCR (multiplex et SybGreen)	Isolement viral ou séroconversion	98,18 à 99,09	100

Au total, d'après les données de la littérature analysées, la sensibilité de la RT-PCR (toutes techniques confondues) varie de 92,5 à 100 % par rapport à l'isolement viral, de 88,9 à 100 % par rapport à la séroconversion, et de 89,5 à 99 % selon un algorithme défini selon les méthodes de confirmation de la dengue (isolement viral et séroconversion). De même, la spécificité varie de 95,6 à 100 % dans ces mêmes études. La sensibilité diminue dans les quelques études où le prélèvement est réalisé à partir de J5 et chute drastiquement à partir de J7, date de fin de la période de virémie.

Sensibilité et spécificité par rapport aux tests de détection de l'antigène NS1 (test direct) et séroconversion (test indirect)

Les différents tests NS1 sont ici comparés au test RT-PCR qui devient la référence.

Dans les études analysées et présentées dans le Tableau 11 ci-après, la sensibilité des tests de détection de l'antigène NS1 (toutes méthodes confondues) varie de 49 à 87 % par rapport à la RT-PCR et la spécificité de 73,4 à 100 %.

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) (31). 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 (3,31).

Au total, les tests de détection de l'antigène NS1 montrent une sensibilité inférieure à la RT-PCR.

Tableau 11. Sensibilité (Se) et spécificité (Spé) en % de la technique de détection de l'antigène NS1 par rapport à la RT-PCR dans le diagnostic de la dengue.

Premier auteur, année	Type d'étude	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Fry <i>et al.</i> , 2011 (29)	Etude rétrospective (Vietnam Malaisie et Australie)	site Vietnamien : NS1 ICT (Panbio dengue Early rapid test) site Malaisien : NS1 ICT (Panbio dengue Early rapid test +Panbio duo cassette)	RT-PCR (sous groupe)	site Vietnamien : NS1 : 71,1 (64,0 - 78,1) comparé à la RT-PCR uniquement site Malaisien : NS1 : 68,9 (61,8 - 76,1) comparé à la RT-PCR uniquement	site Vietnamien : NS1 : 96 (92,2 - 99,8) site Malaisien : NS1 96,7 (82,8 - 99,9)

Premier auteur, année	Type d'étude	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Guzman <i>et al.</i> , 2010 (30)	Etude prospective observationnelle multicentrique (Thaïlande, Philippines, Vietnam, Malaisie, Nicaragua, Vénézuéla)	NS1 ELISA (Paltelia BioRad ou PanE Panbio)	RT-PCR (sous groupe)	NS1 PanE : 67 (63 - 71) vs RT-PCR NS1 Platelia : 77 (74 - 79) vs RT-PCR	NS1 : 100 (vs diagnostic de référence)
Najioullah <i>et al.</i> , 2011 (31)	Etude prospective (Martinique)	NS1 ELISA (Bio-Rad) NS1 ICT (Bio-Rad)	RT-PCR (Lanciotti modifiée)	NS1 ELISA : 61,2 (55,2 - 67,2) (VNP : 73,2 (68,7 - 77,8)) NS1 ICT : 49,4 (43,2 - 55,6) (VNP : 68,0 (63,4 - 72,6))	NS1 ELISA (Bio-Rad) : 100 NS1 ICT (Bio-Rad) : 100
Tontulawat <i>et al.</i> , 2011 (32)	Etude rétrospective (Thaïlande)	NS1 ICT (SD Dengue Duo Rapid Test - Standard Diagnostics) (NS1, IgM et IgG)	RT-PCR semi-nichée	70,6	73,4
Tricou <i>et al.</i> , 2010 (33)	Etude prospective descriptive multicentrique (Vietnam)	NS1 ICT (Ag Strip BioRad) NS1 ICT (SD Dengue Duo Rapid Test Standard Diagnostics) (NS1, IgM et IgG)	RT-PCR (Hang et al)	NS1 Ag Strip : 61,6 (55,2 - 67,8) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 seul) : 62,4 (56,1 - 68,5) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 ou IgM) : 75,5 (69,6 - 80,8) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 ou IgM ou IgG) : 83,7 (78,4 - 88,1)	NS1 Ag Strip : 100 (93,8 - 100) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 seul) : 100 (93,8 - 100) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 ou IgM) : 100 (93,8 - 100) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 ou IgM ou IgG) : 97,9 (88,7 - 99,9)
Zainah <i>et al.</i> , 2009 (34)	Etude rétrospective (Malaisie)	NS1 ICT (Ag STRIP, BioRad)	RT-PCR (sous groupe)	NS1 : 87	NS1 : 99,5

► Différentes méthodes de RT-PCR

Il existe différents protocoles de RT-PCR conventionnelle. La procédure décrite par Lanciotti *et al.* (42) est la plus sensible dans une étude de 2002 (35) et est considérée comme le protocole de référence par un auteur (31).

Plus récemment, différents protocoles de RT-PCR en temps réel ont été développés (21,43-47).

Ces techniques de RT-PCR en temps réel permettraient de s'affranchir des contraintes imposées par la RT-PCR conventionnelle liées principalement au risque de contamination (2).

La plupart des méthodes de PCR en temps réel ont été développées à partir des technologies TaqMan ou SYBR Green (7). La PCR en temps réel TaqMan serait très spécifique grâce à sa séquence d'hybridation spécifique de la sonde. Néanmoins, les amorces et les sondes rapportées dans les publications ne seraient pas capables de détecter toutes les souches de dengue : la sensibilité des amorces et des sondes dépendraient de leur homologie avec la séquence du gène cible du virus analysé (7). La PCR SYBR Green aurait l'avantage de la simplicité du design de l'amorce et pourrait être utilisée dans des protocoles universels de PCR mais serait en théorie moins spécifique (7).

Il est possible en utilisant une RT-PCR multiplex de tester en même temps la dengue et le chikungunya (36,37,39), mais les tests multiplex seraient moins sensibles que les tests classiques semi-nichés (7).

Toutefois, d'après le Haut conseil de santé publique, les techniques de RT-PCR en temps réel ne présenteraient pas toujours une sensibilité suffisante pour supplanter complètement les techniques conventionnelles (2).

Enfin, d'après les études identifiées analysées (cf. Tableau 6), la méthode de référence reste la RT-PCR conventionnelle (42). Toutefois, étant donné la faible qualité méthodologique des études et peu de résultats probants, il est difficile de tirer des conclusions solides sur les performances relatives de ces différentes méthodes de RT-PCR entre elles.

Tableau 12. Comparaison de différentes méthodes de RT-PCR avec un comparateur de référence (isolement viral et/ou séroconversion)

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Raengsakulach <i>et al.</i> , 2002 (35)	Etude rétrospective (Thaïlande)	Deux échantillons par patient (précoce et convalescent) panel A : 98 échantillons en phase précoce panel B : 143 échantillons en phase précoce	RT-PCR Henchal et al RT-PCR Morita et al RT-PCR Lanciotti et al RT-PCR Yenchitsomanus et al	Isolement viral ou séroconversion	Panel A : RT-PCR Henchal et al : 52 RT-PCR Morita et al : 60 RT-PCR Lanciotti et al : 79 RT-PCR Yenchitsomanus et al : 80 Isolement viral : 54 Panel B: RT-PCR Henchal et al : 84 RT-PCR Morita et al : 90 RT-PCR Lanciotti et al : 100 RT-PCR Yenchitsomanus et al RT-PCR (différentes méthodes) : 97 Isolement viral : 87	Panel 1 et 2 : RT-PCR Henchal et al : 100 RT-PCR Morita et al : 96 RT-PCR Lanciotti et al : 96 RT-PCR Yenchitsomanus et al : 98
Saxena <i>et al.</i> , 2008 (26)	Etude rétrospective (Inde)	620 échantillons de sérums provenant de patients fébriles suspectés cliniquement de dengue collectés entre J0 et J4, ainsi que 40 volontaires sains	RT-PCR semi-nichée RT-PCR multiplex	isolement viral	RT-PCR semi-nichée : 96+par RTPCR vs 57 par IV RT-PCR multiplex : 96+par RTPCR vs 57 par IV	RT-PCR semi-nichée : 100 RT-PCR multiplex : 100
Yong <i>et al.</i> , 2007 (23)	Etude rétrospective (Malaisie)	280 échantillons dont 95 positifs à l'isolement viral, 15 négatifs à l'isolement viral mais positifs à la séroconversion, 100 positifs par IgM et 70 positifs pour d'autres pathologies infectieuses que la dengue	RT-PCR multiplex RT-PCR SYBR Green	Isolement viral ou séroconversion	RT-PCR multiplex : 98,18 RT-PCR SYBR Green : 99,09	RT-PCR multiplex : 100 RT-PCR SYBR Green : 100

Tableau 13. Comparaison des différentes méthodes de RT-PCR

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Dash <i>et al.</i> , 2008 (36)	Etude rétrospective (Inde)	360 échantillons en phase précoce de patients avec des infections par la dengue ou le chikungunya confirmées ou suspectées 20 échantillons provenant de volontaires sains	DCmRT-PCR	RT-PCR	100	100
Mishra <i>et al.</i> , 2011 (37)	Etude rétrospective (Inde)	97 patients avec des signes cliniques de dengue ou de chikungunya et 10 patients volontaires sains	DCmRT-PCR	RT-PCR	100	100
Paudel <i>et al.</i> , 2011 (38)	Etude rétrospective (Thaïlande)	193 échantillons provenant de patients ayant de la fièvre	RT-PCR SYBR Green RT-PCR Taqman	RT-PCR	RT-PCR SYBR Green : 84 RT-PCR Taqman : 65	RT-PCR SYBR Green : 81 RT-PCR Taqman : 74
Pongsiri <i>et al.</i> , 2012 (39)	Etude rétrospective en aveugle (Thaïlande)	290 cas suspectés de dengue ou de chikungunya entre J0 et J7 et 28 cas atteint d'autres pathologies infectieuses	DCmRT-PCR	RT-PCR	97,65	92,59

► Limites de la RT-PCR

Les procédures pré-analytiques et analytiques doivent être respectées rigoureusement (cf. chapitre suivant sur les conditions de réalisation) (16). Le non-respect de ces procédures peut entraîner des variations dans les performances du test.

Conclusion :

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 (31).

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) (17).

3.1.2 Place dans la stratégie diagnostique

► Considérations dans le choix du test

Considérations cliniques

L'infection par le virus de la dengue induit un large spectre de symptômes, la plupart d'entre eux étant non spécifiques. Un diagnostic basé uniquement sur des symptômes cliniques n'est pas fiable. Une confirmation diagnostique précoce peut être importante car certains patients progressent rapidement d'une forme modérée vers une forme sévère de la maladie pouvant entraîner le décès. Une intervention précoce peut leur sauver la vie (7).

Considérations épidémiologiques

Une des priorités lorsqu'une épidémie est suspectée est d'identifier l'agent en cause afin de mettre en place les mesures de santé publique appropriées et d'encourager les médecins à utiliser les moyens optimaux dans la prise en charge de la maladie. Dans ce cas, la rapidité et la spécificité du test diagnostique sont cruciales (7).

► Place du test NS1

La détection de l'antigène NS1 est une technique réalisable par la plupart des laboratoires d'analyse médicale. L'accès à cette technique peut être effectif dans tous les laboratoires de terrain (en particulier pour les techniques ICT à lecture rapide) (3).

Un résultat positif permet de poser un diagnostic plus précoce de la dengue (par rapport à la détection des anticorps anti-dengue) lorsqu'il est réalisé avant le 5^{ème} jour après l'apparition de la fièvre (3,16), et ainsi d'assurer une meilleure prise en charge médicale en évitant le traitement inapproprié d'autres maladies (3).

En effet, la spécificité est très bonne, mais la sensibilité est variable (de 58 à 93 % selon les études analysées et les techniques) (3). De plus, le taux de détection est meilleur lors d'une infection primaire (75 % - 97,3 %) que secondaire (60 % - 70 %) (16).

En cas de résultat négatif, le risque de « faux négatif » n'est pas négligeable en raison des variabilités de sensibilité (de 58 à 93 % selon les études analysées et les techniques). Un résultat négatif doit donc conduire à poursuivre la confirmation ou l'infirmité d'un diagnostic de dengue par la recherche de l'ARN viral par RT-PCR jusqu'au 5-7^{ème} jour ou la recherche d'anticorps anti-dengue après le 5^{ème} jour suivant l'apparition des signes cliniques (3). En même temps que la poursuite du

diagnostic de la dengue, il conviendra de rechercher les autres pathologies possibles en fonction du tableau clinique du patient et du contexte épidémiologique (3).

► **Efficienc e du test diagnostique**

La recherche de la littérature a été réalisée afin d'identifier les publications ayant évalué le coût ou l'efficienc e des mesures de prévention, et en particulier l'efficienc e de la mise en œuvre d'un test par RT-PCR pour accélérer le diagnostic des premiers cas épidémiques de dengue.

Quatre études ont été identifiées (48-51). Les principales caractéristiques méthodologiques et les résultats sont présentés en annexe. Les conclusions suivantes, susceptibles de s'appliquer en France, peuvent être tirées des études analysées :

- les programmes de prévention de la dengue sont coûteux avant tout en raison du temps consacré aux mesures à prendre localement (suppression des gîtes larvaires, destruction des insectes) avant l'épidémie et de façon plus nette encore lors du déclenchement de celle-ci ;
- le second poste de coût est lié à l'épidémie elle-même et correspond au suivi des individus (consultations et surveillance), en particulier en début d'épisode. Le coût du diagnostic semble marginal en cas d'épidémie ;
- aucune étude n'a évalué spécifiquement l'efficienc e du diagnostic précoce.

► Stratégie diagnostique

Caractéristiques des différents tests Tableau 14. Synthèse des caractéristiques des différents tests.

Méthode diagnostique	Diagnostic de l'infection en cours	Type de diagnostic - Période de prélèvement	Accessibilité
Isolement viral	Confirmé	Diagnostic direct Prélèvement jusqu'à J5	Technique contraignante nécessitant le recours à un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 ; délai de résultat de 7 à 10 jours
RT-PCR	Confirmé	Diagnostic direct Prélèvement jusqu'à J7	Technique spécialisée nécessitant un matériel adapté et un personnel qualifié, ainsi qu'un système qualité afin d'éviter des contaminations ; délai de résultat de 24 à 48 heures
Détection de l'antigène NS1 (ELISA, ICT)	Confirmé	Diagnostic direct Prélèvement jusqu'à J5	Technique accessible à la plupart des laboratoires avec un délai de résultat de quelques heures seulement mais moins sensible que la RT-PCR
Détection d'IgM sur un seul sérum (ELISA, ICT)	A déterminer/Confirmé*	Diagnostic indirect Prélèvement après J5	Technique accessible à tous les laboratoires, voire sur le terrain pour l'ICT, informatif si positif mais ne concluant pas à un diagnostic de certitude
Séroconversion d'IgM ou IgG (ELISA, HI)	Confirmé	Diagnostic indirect Un prélèvement avant J5 et un second prélèvement 15 jours après	Technique accessible à la plupart des laboratoires mais nécessitant de tester 2 sérums successifs par patient

*Les recommandations de 2009 de l'OMS (7) indiquent un statut de confirmation de l'infection en cours à déterminer. Le rapport HAS de 2009 (3) a indiqué que le test de détection NS1 est indiqué dans le diagnostic précoce de la dengue avant J5 avec une confirmation du diagnostic en cas de positivité du test.

- Stratégie

Les études identifiées et analysées montrent qu'aucun test n'est efficace à 100 % et que les associations de tests peuvent faire gagner en sensibilité, mais en perdant légèrement en spécificité (cf. Tableau 15).

Tableau 15. Etudes associant plusieurs tests

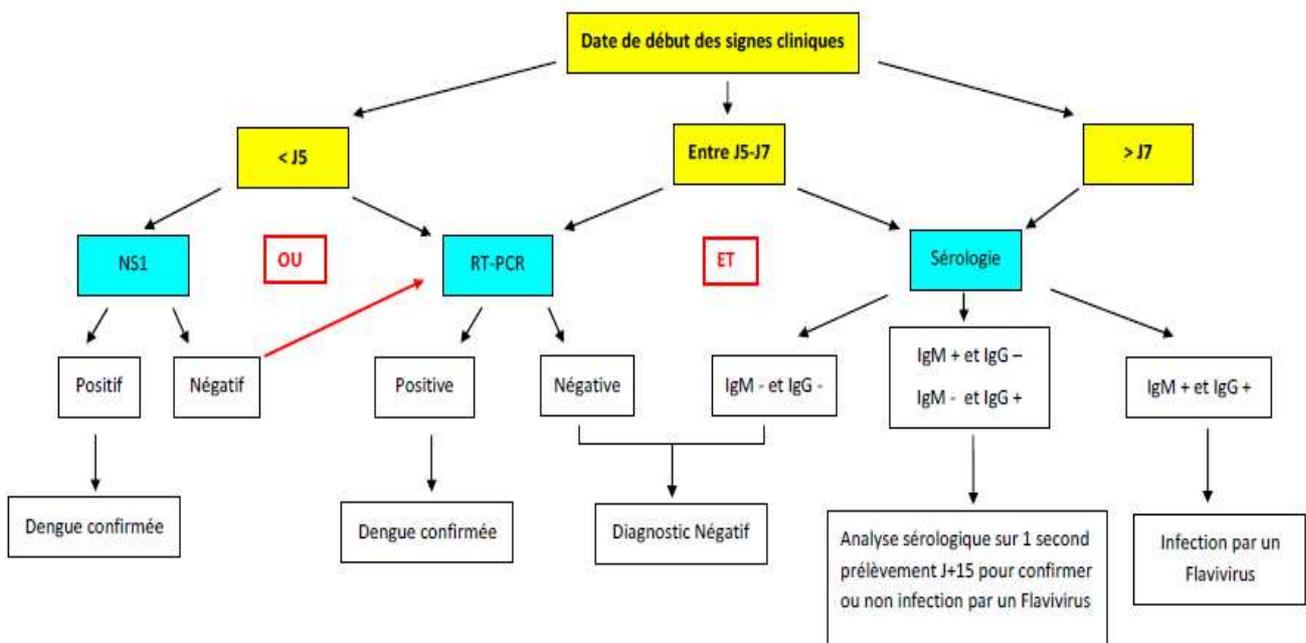
Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Duong <i>et al.</i> , 2011 (40)	Etude rétrospective (Cambodge)	336 patients suspectés de dengue ayant de la fièvre dont 243 avec une dengue précoce, 62 ayant une infection autre que la dengue et 17 sans maladie infectieuse	NS1 ELISA (Platelia BioRad)	IgM ou HI et NS1 et/ou isolement viral et/ou RT-PCR ou RT-PCR en temps réel	RT-PCR : 77,0 (71,7 - 81,2) RT-PCR + IgM ELISA : 95,4 (92,1 - 97,6) NS1 : 57,7 (51,4 - 63,8) NS1+ IgM ELISA : 85,7 (80,9 - 89,8)	NS1 : 100
Watthanawo rawit <i>et al.</i> , 2011 (28)	Etude prospective (Thaïlande)	162 patients inclus âgés de 15 ans ou plus présentant une fièvre de plus de 38°C en phase aiguë de la maladie de J0 à J7 (durée moyenne de la fièvre de 2 jours) avec des signes cliniques de la maladie (saignements anormaux, maux de tête, myalgies, rash)	RT-PCR en temps réel (SYB Green) NS1 ELISA (Panbio Dengue early ELISA) IgM ELISA (Panbio)	IgM ou IgG séroconversion	RT-PCR : 88,9 (79,3 - 95,1) NS1 : 54,2 (42,0 - 66,0) IgM : 16,7 (8,9 - 27,3) RT-PCR+NS1 : 93,1 (84,5 - 97,7) RT-PCR+NS1+IgM : 93,1 (84,5 - 97,7) RT-PCR+IgM : 91,7 (82,7 - 96,9) NS1+IgM : 59,7 (47,5 - 71,1)	RT-PCR : 95,6 (89,0 - 98,8) NS1 : 100 (96,0 - 100,0) IgM : 87,8 (79,2 - 93,7) RT-PCR+NS1 : 95,6 (89,0 - 98,8) RT-PCR+NS1+IgM : 83,3 (74,0 - 90,4) RT-PCR+IgM : 83,3 (74,0 - 90,4) NS1+IgM : 87,8 (79,2 - 93,7)

D'après les recommandations du HCSP (présentées en Annexe 10) (17) et de la HAS (3) et d'après le plan anti-dissémination de la dengue et du chikungunya mis en place par le Ministère de la santé (10) (présenté en Annexe 9), l'indication de ces tests diagnostiques dépend du moment où le prélèvement est réalisé par rapport à la date de début des signes cliniques :

- jusqu'à 5 jours après le début des signes cliniques (J5) : test direct RT-PCR en première intention. Dans les cinq premiers jours de la maladie, le diagnostic direct de la dengue peut être réalisé dans le cas d'une primo-infection par la mise en évidence de l'antigène NS1 pour assurer les diagnostics dans les zones d'épidémie avérée. Dans tous les cas, les résultats négatifs devront continuer à être investigués par un test d'amplification génique (RT-PCR en temps réel). Dans tous les cas, un test anti-NS1 négatif isolé ne peut exclure le diagnostic et doit être complété par une sérologie et/ou PCR ;
- entre J5 et J7 : test direct RT-PCR et sérologie ;
- après J7 : sérodiagnostic uniquement (IgG et IgM). Il est impératif de rappeler aux prescripteurs (cliniciens et biologistes) la nécessité de réaliser une 2^{ème} sérologie de confirmation au plus tôt 10 jours après le premier prélèvement. Le test par RT-PCR ne doit être réalisé que dans les 7 jours suivant les premiers signes cliniques pour établir le diagnostic ; au-delà, seules les sérologies par IgM ou IgG peuvent être réalisées (6).

L'algorithme diagnostique proposé est présenté par la Figure 3 ci-après.

Figure 3. Place des différents tests de diagnostic biologique de la dengue



Source : Haut Conseil de la santé publique - Stratégie de diagnostic biologique de la dengue 2010 (2)

De plus, la stratégie thérapeutique doit être adaptée à la disponibilité des tests (2,7).

Pour le territoire français, le Haut conseil de santé publique précise donc la stratégie la plus adaptée suivant les situations épidémiques (2) :

- En France métropolitaine ;
 - En zone d'implantation d'*Aedes albopictus*,

Le diagnostic biologique direct de la dengue chez un cas suspect importé ou autochtone repose sur la pratique d'emblée de la RT-PCR, pour assurer une confirmation diagnostique et effectuer un sérotypage à des fins épidémiologiques.

Le test de recherche de l'Ag NS1 est recommandé dans le cas d'une épidémie avérée, dans le but de soulager les capacités diagnostiques des structures réalisant le diagnostic direct par RT-PCR.

- ▶ En dehors de la zone d'implantation d'*Aedes albopictus*,

La RT-PCR reste le test diagnostique direct de première intention dans un objectif diagnostique. Le test de recherche de l'Ag NS1 est recommandé dans les cas cliniquement suspects importés d'une zone d'épidémie avérée.

- Dans les départements français d'Amérique et dans la région Pacifique Sud ;
 - ▶ En Martinique et en Guadeloupe,

La RT-PCR est le test diagnostique direct de première intention du fait de la forte probabilité de survenue d'infections récentes secondaires.

En période épidémique, le test de recherche de l'Ag NS1 est recommandé pour le diagnostic des formes simples. Pour les patients hospitalisés à cause de signes d'alarme, de formes sévères, ou de comorbidités, la RT-PCR reste le test de référence.

- ▶ En Guyane,

L'absence de laboratoire en mesure d'effectuer un diagnostic direct par RT-PCR, en dehors du centre national de référence de l'Institut Pasteur de Cayenne, amène à utiliser largement le test de recherche de l'Ag NS1 qui est réalisable en routine.

- Dans l'Océan indien ;

La RT-PCR est le test diagnostique direct de première intention (à cause de la très faible incidence de la maladie).

L'utilisation du test de recherche de l'Ag NS1 est recommandé uniquement pour les cas importés d'une zone d'épidémie avérée, ou au cours d'une épidémie avérée dans ce territoire, dans le but de soulager les capacités diagnostiques des structures réalisant le diagnostic direct par RT-PCR (2).

Conclusion :

La RT-PCR 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 (31).

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 (2). 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) (31). 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 nécessite 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 (3,31).

3.1.3 Impact sur la stratégie thérapeutique et sanitaire

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.

Le rapport d'évaluation de la HAS de 2009 (3) indique que le diagnostic précoce de la dengue permet :

- l'arrêt du bilan diagnostique de la dengue ;
- une meilleure prise en charge thérapeutique : traitement et surveillance des patients ;
- la mise en place de mesures sanitaires adaptées.

La Direction générale de la santé a mis en place un plan anti-dissémination basé sur la détection précoce des patients virémiques (10).

Un diagnostic fiable et efficace de la dengue est important tout d'abord pour les soins cliniques : détection précoce des cas sévères, confirmation des cas et diagnostic différentiel avec d'autres maladies infectieuses. Le diagnostic est également important pour les activités de surveillance et de contrôle des épidémies (7).

La surveillance des cas humains est basée sur la déclaration obligatoire. Les données épidémiologiques, notamment celles concernant le niveau de circulation des virus de la dengue et du chikungunya, sont suivies chaque année afin d'évaluer les risques d'importation en métropole et d'ajuster le cas échéant les mesures, notamment en ce qui concerne la communication (10).

Pour limiter le risque d'importation et d'implantation des maladies vectorielles en métropole, le ministère chargé de la santé a élaboré un plan national anti-dissémination du chikungunya et de la dengue dès mars 2006. Ce plan prévoit de (i) renforcer la surveillance entomologique et épidémiologique pour prévenir et évaluer les risques de dissémination, (ii) renforcer la lutte contre les moustiques vecteurs, (iii) informer et mobiliser la population et les professionnels de santé et (iv) développer la recherche et les connaissances. Pour empêcher toute dissémination, il est donc essentiel de pouvoir détecter précocement la présence du vecteur *Aedes albopictus* et de patients potentiellement virémiques (52).

► Analyse des plans de prévention pour la France métropolitaine

Un des arguments mis en avant pour justifier la mise à disposition d'un test de diagnostic précoce est l'accélération de la mise en œuvre des mesures prophylactiques dès les premiers diagnostics.

La lecture du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole (10,18) a été faite de façon à distinguer les mesures mises en œuvre indépendamment du contexte épidémique et les mesures mises en œuvre en fonction de la découverte de cas. Les mesures mises en œuvre dépendent du niveau de risque, de 0 à 5, lié à la présence et à l'activité du moustique vecteur. Les niveaux 0 et 1 ne concernent que la présence de moustiques ; le niveau 2 correspond à l'apparition de cas autochtones. Les niveaux de risque sont détaillés en annexe (Annexe 12).

Mesures mises en œuvre indépendamment de cas identifiés

Il s'agit principalement de la surveillance entomologique (10).

Mesures mises en œuvre en fonction de cas identifiés

La cellule départementale de gestion est mise en alerte dès le niveau 1 (présence et activité d'*Aedes albopictus*), et activée dès le niveau 2 (1^{er} cas autochtone) ; la communication auprès des professionnels et du public est graduellement intensifiée au fur et à mesure de l'augmentation du niveau de risque (10).

La surveillance humaine

Elle se décline en trois situations (18) et repose sur la déclaration obligatoire des cas de dengue et de chikungunya⁵, mais aussi sur le diagnostic biologique et sur une coordination entre le CNR et les autorités de santé publique. Cette déclaration poursuit trois objectifs :

- identifier les cas importés ;
- repérer l'apparition de cas autochtones et orienter les mesures antivectorielles ;

⁵ Les zones géographiques concernées par le Plan sont mises à jour chaque année.

- suivre les tendances épidémiologiques.

Le diagnostic est défini par les signes cliniques évocateurs de l'infection et par confirmation biologique (IgM positives, RT-PCR positive ou isolement viral). Les cas sont immédiatement déclarés par les médecins et les biologistes au médecin inspecteur de santé publique de l'Agence régionale de santé (ARS). L'ARS valide les notifications, élimine les doublons et transmet les données anonymisées à l'Institut de veille sanitaire qui effectue des analyses périodiques :

- dans l'ensemble du territoire (sauf ci-dessous), la surveillance repose sur le signalement et la déclaration obligatoire des cas confirmés biologiquement ;
- dans les zones avec un potentiel d'installation d'*Aedes albopictus* : Provence-Alpes-Côte-d'Azur, Languedoc-Roussillon, Corse, Rhône-Alpes, Aquitaine, Midi-Pyrénées, (sauf ci-dessous), la surveillance repose sur la déclaration obligatoire avec renforcement de l'information des déclarants par l'Agence régionale de santé⁶ ;
- dans les zones de présence avérée d'*Aedes albopictus* (niveau *albopictus* 1 ou plus) : Hérault, Gard, Vaucluse, Alpes-Maritimes, Alpes-de-Haute-Provence, Var, Haute-Corse, Corse-du-Sud et Bouches-du-Rhône et Lot-et-Garonne (depuis août 2012), du 1^{er} mai au 30 novembre, tous les cas suspects doivent être signalés 1) au centre national de référence des arbovirus accompagnés d'une demande de confirmation biologique par procédure accélérée, 2) à l'ARS qui vérifie la réalisation du test biologique et procède à l'investigation épidémiologique initiale du cas suspect. L'ARS, le cas échéant, prend contact avec les responsables de la lutte antivectorielle afin de mettre en place les mesures nécessaires autour du cas. A partir du niveau *albopictus* 2 (1^{er} cas autochtone par transmission vectorielle), les cas autour du 1^{er} cas sont recherchés auprès des laboratoires et des médecins généralistes.

La mise en œuvre de mesures de lutte antivectorielle

Ces mesures ne concernent que les zones dans lesquelles la présence et l'activité d'*Aedes albopictus* sont avérées (niveaux *albopictus* 1 à 5). Dès l'identification de cas suspects importés validés par l'ARS (avant la confirmation biologique), une enquête entomologique de proximité est réalisée et, le cas échéant, des mesures de contrôle sont entreprises autour des cas suspects (recherche et élimination ou traitement des gîtes larvaires, traitement adulticide) (10).

L'ARS veille à la circulation des informations entre les acteurs concernés.

Synthèse de l'analyse du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole

- 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 ;
- dans ces départements, les mesures doivent être mises en œuvre dès la suspicion du cas importé, sans attendre la confirmation diagnostique biologique ;
- seuls le centre national de référence pour les arbovirus (Institut de recherche biomédicale des armées, Marseille) et les laboratoires associés sont compétents selon le plan pour réaliser ce test dans le cadre du plan.

Selon le document édité par la Direction générale de la santé en 2011 (6), « *il n'est pas licite d'attendre la confirmation biologique pour recommander les mesures préventives de protection individuelle. Ces dernières seront levées en cas de négativité* » (6).

⁶ En 2012, les départements classés en zone 0b (présence contrôlée d'*Aedes albopictus*) sont la Gironde, le Lot-et-Garonne, l'Aude, les Pyrénées Orientales, La Haute-Loire, la Drôme, les Hautes-Alpes, l'Isère, la Savoie, le Rhône, l'Ain et la Saône-et-Loire.

En dehors des zones à risque, aucune mesure particulière n'est mise en œuvre rapidement en cas de diagnostic biologiquement confirmé. La confirmation biologique peut s'appuyer indifféremment sur des IgM positives ou une RT-PCR positive.

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, le diagnostic biologique d'un cas autochtone détermine le passage en niveau 2 de risque, ce qui peut être un effet indirect du test par RT-PCR.

Bien que les mesures de protection soient mises en œuvre avant confirmation biologique du diagnostic dans les zones à risque *albopictus* 1 et plus, 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.

Dans les zones sans implantation avérée d'*Aedes albopictus*, le plan ne prévoit pas la mise en place de mesures particulières après confirmation biologique du diagnostic.

► Analyse des plans de prévention Outre-mer

Les départements français d'Amérique

Les départements français d'Amérique se caractérisent par une présence endémique de la dengue. Selon le Ministère en charge de la santé⁷, « Dans les départements français d'Amérique, les programmes de surveillance d'alerte et de gestion des épidémies de dengue (PSAGE dengue), définissent des stratégies de surveillance et de contrôle de la dengue graduées selon le risque épidémique, adaptée à la situation de chaque département. Ils poursuivent un double objectif :

- 1) Contractualiser le rôle et les missions que chacun des partenaires impliqués dans la lutte contre la dengue (Préfecture, Conseil général, Municipalités, ARH, Hôpitaux, Médecins et Laboratoires de ville, Forces Armées, Cire-InVS) s'engagent à tenir.
- 2) Fournir les outils nécessaires pour la conduite des différentes actions du programme dans les domaines de la surveillance épidémiologique et entomologique, de la démoustication, de la communication et de la prise en charge des malades (Protocoles de surveillance épidémiologiques et entomologiques, fiches actions, plan de communication selon les phases, plans hospitaliers, supports de communication...). »

Les PSAGE identifiés (Martinique et Guadeloupe, 2007) (19,20), ont été analysés pour identifier les éléments liés à la confirmation diagnostique.

Les PSAGE Guadeloupe et Martinique (19,20) décrivent quatre phases d'intervention :

- la phase inter-épidémique de transmission sporadique (cas isolés, absence de vecteur compétent) : identification et investigation des cas confirmés et des cas suspects groupés ;
- les phases inter-épidémiques de foyers épidémiques et recrudescence saisonnière : confirmation de la circulation d'un des virus de la dengue et évaluation de l'importance et des caractéristiques du foyer épidémique et mise en place des actions de lutte antivectorielle péri-focale précoces (foyers épidémiques) ; investigation épidémiologique systématique des foyers limitée aux zones dans laquelle la circulation du virus n'est pas établie (recrudescence saisonnière) ;
- la phase de pré-alerte épidémique (dépassement du nombre de cas hebdomadaire par rapport à la phase inter-épidémique) : identification du sérotype, renforcement de la prévention, préparation du système de soins ;
- les phases épidémiques : déclenchement des plans de prévention, adaptation des capacités hospitalières ;
- la phase de fin d'épidémie : information et bilan.

⁷ <http://www.sante.gouv.fr/la-dengue-documents-de-references.html>, page consultée le 16 juillet 2012.

La recherche de cas n'est réalisée que dans l'entourage d'un cas confirmé isolé ou pour des cas suspects groupés, pendant les phases inter-épidémiques ou pré-épidémiques, dans les 5 jours suivant l'apparition des symptômes (au-delà, seule la sérologie est recherchée). Les investigations épidémiologiques sont stoppées dès l'épidémie confirmée et le(s) sérotype(s) identifié(s).

Le PSAGE de Guadeloupe (19) précise que « *la prescription de sérums précoces pour le sérotypage a comme objectif exclusif de surveiller les sérotypes et, du fait des délais (le résultat pouvant être obtenu plus d'un mois après la consultation), ne peut avoir en aucun cas de retombées en terme de diagnostic individuel ou en terme d'intervention du service de démoustication autour du cas. Les médecins de ville ne peuvent donc pas prescrire un sérotypage (RT-PCR) à visée diagnostique.* ». Le programme précise également que « *les prélèvements seront stockés à - 80°C au laboratoire de biologie du CHU de Pointe-à-Pitre et seront analysés en première intention avec le test biologique développé par la société BIORAD (Test Antigénique NS1). Seuls les prélèvements positifs, réalisés entre J0 et J4 (en tenant compte de la date de début des signes cliniques) seront envoyés au CNR de Guyane pour y être sérotypés. Tous les sérums prélevés à J5 seront envoyés au CNR de Guyane, quelque soit le résultat du test NS1.* ».

Pour les patients hospitalisés, « *les services hospitaliers envoient directement les prélèvements au laboratoire de biologie du CHU qui réalisera un test NS1 sur tous les sérums précoces (J0-J4). Ces prélèvements doivent être accompagnés de la feuille de renseignement hospitalière (...). Seuls les prélèvements positifs en NS1 seront transmis au CNR de Guyane pour réalisation de la RT-PCR. En ce qui concerne les sérums prélevés à J+5, ils seront directement analysés par RT-PCR, sans réalisation de test NS1 préalable.* ».

Enfin, « *en phase épidémique, la surveillance en routine, déjà assurée en médecine de ville et par les services hospitaliers sera maintenue. Toutefois le comité d'experts pourra prendre la décision, en fonction de la capacité d'analyse du laboratoire de biologie du CHU et du CNR de Guyane et de la situation épidémiologique (bonne connaissance des sérotypes circulants), de demander aux médecins de diminuer le nombre de prescription sérotypage.* ».

Selon un membre du groupe de travail, le PSAGE de Martinique (20) est en cours de réactualisation. D'ores et déjà, le laboratoire de virologie réalise la surveillance. Le dispositif de surveillance des sérotypes de dengue se décompose en quatre étapes :

- 1) le médecin sentinelle (et uniquement lui) prescrit une demande de recherche du virus de la dengue par RT-PCR, à l'aide d'une prescription type ;
- 2) le patient se rend dans le laboratoire d'analyses et de biologie médicale de son choix pour se faire prélever ;
- 3) les prélèvements sont récupérés au laboratoire de ville par un prestataire spécialisé (Inter-Bio) qui les achemine au laboratoire de virologie du CHU de Fort-de-France ;
- 4) le laboratoire de virologie du CHU de Fort-de-France réalise les analyses (RT-PCR) et fait le rendu des résultats directement au laboratoire de ville où le patient a été prélevé.

NB : ce dispositif de surveillance, n'empêche pas, bien sûr, le médecin sentinelle de prescrire le ou les examens biologiques complémentaires utiles à la confirmation de son diagnostic (Sérologie / Test NS1)

La Réunion

La Réunion se caractérise par la présence d'un vecteur potentiel (*Aedes albopictus*), susceptible de transmettre la dengue à partir d'un cas importé. La déclaration des cas est obligatoire, selon des modalités comparables aux modalités définies en métropole, afin de limiter la transmission (53).

La lutte contre *Aedes albopictus* à la Réunion passe par trois axes : la surveillance entomologique, la lutte antivectorielle et la mobilisation sociale (54). Les premières modalités d'intervention dès l'identification d'un cas suspect sont comparables au plan mis en œuvre en France métropolitaine (enquête épidémiologique, recherche de cas secondaires, destruction des larves et des adultes à

proximité). Une seconde phase du programme prévoit la mobilisation de toute la zone d'habitation du cas suspect en porte-à-porte : sensibilisation de la population à la protection contre les piqûres et destruction des gîtes larvaires domestiques (essentiellement des soucoupes de pots de fleurs ou de petits récipients), pulvérisation d'adulticide. Selon les résultats des deux premières phases, une troisième de pulvérisation nocturne d'adulticide peut être mise en œuvre. Pendant l'épidémie de chikungunya, les mesures ont été révisées pour faire face à l'accumulation de cas : le périmètre d'intervention autour des cas a été réduit (200 mètres) et les ravines, principal réservoir naturel de vecteurs, ont été traitées (55,56).

Synthèse de l'analyse des plans de prévention Outre-Mer

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.

3.1.4 Epidémiologie et population cible

Les données épidémiologiques se limitent aux données françaises et sont présentées de façon à estimer la population susceptible de faire l'objet d'un test diagnostique de la dengue par RT-PCR. Elles sont issues d'une publication synthétique de l'Institut de veille sanitaire mise à jour en mai 2011 (57).

Les Antilles françaises ont subi en 2010 l'épidémie la plus forte des dix dernières années, avec un démarrage dès la saison sèche. La Polynésie française a connu des épidémies en 2001, 2006-2007 et 2009 et une épidémie a été identifiée en 2002-2003 à Wallis et Futuna ; des cas sporadiques sont rapportés depuis ces épidémies. En France métropolitaine, deux cas autochtones ont été identifiés à Nice en 2010 (57).

La présence du moustique *Aedes albopictus*, vecteur connu du virus, est identifiée dans le sud de la France depuis 2004, ce qui rend possible l'installation d'un cycle de transmission local via un moustique implanté localement et contaminé par un cas importé (5). L'implantation du moustique progresse régulièrement et les départements où il est présent sont les départements des Alpes-Maritimes (depuis 2004), de Haute-Corse (2006), de Corse-du-Sud et du Var (2007), des Alpes-de-Haute-Provence et des Bouches-du-Rhône (2010), du Vaucluse, du Gard et de l'Hérault (2011) et très récemment du Lot-et-Garonne (2012).

En France, la dengue et le chikungunya sont surveillés tout au long de l'année à partir de deux sources complémentaires :

- la déclaration obligatoire des cas diagnostiqués biologiquement, depuis juillet 2006 ;
- un réseau des laboratoires réalisant le diagnostic de ces deux infections qui transmet ses résultats positifs à l'InVS, depuis le 1^{er} janvier 2006.

Les données de ce système sont analysées par année et publiées sur le site de l'InVS et dans le BEH. Elles montrent que le nombre de cas importés en France est dépendant de la situation épidémiologique mondiale, notamment dans les zones géographiques ayant 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.

D'après le rapport de la HAS de 2009 (3), la population cible du test de RT-PCR est évaluée entre 10 746 (nombre de cas suspects de dengue en Guyane entre janvier 2009 et mai 2009) et 27 800 (nombre de cas suspects de dengue en Martinique et en Guadeloupe entre septembre 2007 et janvier 2008).

Toutefois, cette évaluation reste approximative et ces chiffres sont à modérer car :

- les épidémies peuvent être d'ampleur variable ;
- tous les cas suspects de dengue ne font pas l'objet d'une détection par RT-PCR mais uniquement les patients présentant des signes cliniques depuis 5 jours maximum ;
- d'autres territoires français sont concernés par la dengue (Nouvelle Calédonie, Polynésie, Réunion et Mayotte, et les départements du sud de la France).

► Volumes d'activité constatés

Les rapports d'activité des centres nationaux de référence (Institut Pasteur à Paris) et de son laboratoire associé (Institut de recherche biomédicale des armées à Marseille) pour les années 2008 (58), 2009 (59), 2010 (60) et 2011 (61) ont été analysés.

Tableau 16. Volumes d'activité constatés, d'après les rapports d'activité du Centre national de référence pour les arbovirus.

Activité	2008	2009	2010	2011
Nombre de prélèvements reçus par le CNR Paris dont (hors laboratoires Biomnis et Pasteur-Cerba, de recrutement national)	1 353	1 682	3 239	3 836
Ile-de-France	27 %	25 %	22 %	34 %
Provence-Alpes-Côte-d'Azur	20 %	26 %	30 %	17 %
Outre-mer	14 %	6 %	13 %	4 %
« Surveillance renforcée Chikungunya - Dengue »	122	63	558	350
Tests par RT-PCR	890	1 202	3 322	722
Dont chikungunya (positifs)	126 (0)	143 (4)	662 (22)	405 (7)
Dont dengue (positifs)	211 (29)	329 (54)	1 360 (358)	537 (31)
Tests par RT-PCR réalisés dans le cadre du plan			593	274
Dont chikungunya (positifs)	-	-	245 (3)	142 (4)
Dont dengue (positifs)			348 (60)	132 (1)
Nombre de prélèvements reçus par le laboratoire associé de Marseille	1 287	527	796	1 306
Dont origine civile	449	270	-	-
« Surveillance renforcée Chikungunya - Dengue »	7	-	93	60
Tests par RT-PCR	788	1 090	1 926	1 435
Dont chikungunya (positifs)	166 (2)	138 (3)	316 (7)	290 (2)
Dont dengue (positifs)	554 (153)	149 (10)	331 (59)	289 (7)

► Volumes d'activité attendus

Selon les diverses recommandations (HCSP, plans anti-dissémination du chikungunya et de la dengue), il apparaît que le test par RT-PCR devrait être réalisé :

- en métropole, dans les zones sans implantation d'*Aedes albopictus*, pour tous les cas suspects importés (signes cliniques + retour d'une zone endémique) ;

- en métropole, dans les zones avec implantation d'*Aedes albopictus*, pour tous les cas suspects (signes cliniques) ;
- dans les départements de l'Océan indien, pour tous les cas suspects en début et fin d'épidémie, pour les cas graves au cours de l'épidémie ;
- dans les départements français d'Amérique, pour tous les cas suspects en début et fin d'épidémie, pour les cas graves au cours de l'épidémie.

► Synthèse sur les volumes d'activité attendus

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 défini 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.

► Coût attendu du remboursement du test

Coût unitaire

Test RT-PCR

La RT-PCR pour arbovirus est inscrite au catalogue du laboratoire Biomnis (Lyon), au coût de 115,00 €. La RT-PCR pour arbovirus n'est pas inscrite dans le catalogue en ligne du laboratoire CERBA (Cergy-Pontoise).

Aucune information sur le coût de production du test n'a pu être identifiée.

Test NS1

Le test est inscrit à la NABM (code 4273) et coté 50B soit 13,50 € en métropole, 15,50 € aux Antilles et 16,50 € en Guyane et à la Réunion, hors prélèvement.

► Prise en charge actuelle

Test RT-PCR

Selon le Centre national de référence pour les arbovirus (l'Institut Pasteur jusqu'au 31 décembre 2011⁸), « les activités des CNR contribuant à la santé publique, sont en partie financées par le Ministère en charge de la Santé ». Les « expertises » qui sont demandées aux CNR sont donc faites à titre gracieux lorsque les prélèvements ou les souches d'origine humaine leur parviennent dans les conditions requises et accompagnées de renseignements complémentaires contribuant à la connaissance épidémiologique. L'arrêté du 29 novembre 2004, définissant les missions des CNR, mentionne que les examens et « les diagnostics sérologiques qui constituent les activités habituelles de diagnostic des LABM ne devraient être confiés aux CNR que de façon exceptionnelle et dans ce cas pourraient donner lieu à facturation. ». Cela signifie que les CNR n'ont, en aucun cas, à se substituer aux laboratoires d'analyses de biologie médicale pour exécuter, gratuitement ou pas, des examens relevant de leurs compétences. Les diagnostics sérologiques ne sont donc effectués gratuitement par les CNR que :

- lorsque les réactifs ne sont pas disponibles ;

⁸<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-loms/generalites/modalites-de-fonctionnement>, page consultée le 13 juillet 2012 (62)

- *et/ou lorsque la fréquence de la demande en France est très faible (environ 200 par an) ;*
- *pour confirmation et aide à l'interprétation ;*
- *lors d'enquêtes épidémiologiques dans le cadre d'un protocole précis.*

La mention de la gratuité est indiquée sur la feuille de résultats. »

Test NS1

La table nationale de biologie précise : « *Détection de l'antigène NS1 de la dengue, par EIA ou par ICT. L'acte 4273 est indiqué dans la situation suivante : - Diagnostic précoce de la dengue du premier au cinquième jour après l'apparition des signes cliniques. Une seule cotation par patient. »*

► Fabrication des tests, enjeux industriels

Test RT-PCR

Dans le cadre du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole, seul le centre national de référence et ses laboratoires associés peuvent pratiquer le test de confirmation diagnostique ou de sérotypage par RT-PCR en phase virémique (10).

Néanmoins, le test peut être réalisé par d'autres laboratoires, en lien avec le centre national de référence (cf. ci-dessous).

A compter du 1^{er} janvier 2012 et jusqu'en 2016, le centre national de référence pour les arbovirus est l'Institut de recherche biomédicale des armées (Marseille) ; les laboratoires associés sont l'Institut Pasteur de Guyane et le centre hospitalier régional de Saint-Denis de la Réunion⁹.

Test NS1

Selon l'évaluation faite en 2009 par la Haute autorité de santé (3), deux techniques existent (ELISA ou ICT).

Pour la technique ELISA, deux tests sont commercialisés : « *le kit « Platelia® Dengue NS1 » commercialisé par Biorad (...) et le kit « pan E-Dengue Early ELISA® » commercialisé par Panbio (...). Le matériel requis est un laveur de microplaque, un incubateur et un spectrophotomètre lecteur de microplaque. Généralement, cette technique est utilisée pour tester plusieurs sérums en même temps ».*

Pour la technique ICT, « *l'échantillon à tester est déposé à l'extrémité d'une membrane de nitrocellulose fixée sur un support. Si l'antigène recherché est présent, il va se lier avec un anticorps marqué présent dans le test. Les complexes antigènes-anticorps migrent par capillarité et sont arrêtés par des anticorps de capture fixés sur la membrane. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une ligne colorée. Deux laboratoires ont commercialisé ces tests : Biorad (Dengue NS1 Ag Strip®) et Eurobio (Dengue Duo rapid test®). La technique ICT permet de tester un seul sérum à la fois. »*

► Offre de soins, accès effectif au test

Test RT-PCR

Le HCSP, dans le cadre d'un avis relatif à la stratégie de diagnostic biologique de la dengue rendu le 21 janvier 2012, a listé les laboratoires réalisant le test RT-PCR pour la dengue en routine ou ceux pour lesquels le test est en développement (17).

Les laboratoires réalisant le test en routine sont :

- en métropole :
 - le centre national de référence de l'Institut de recherche biomédicale des armées à Marseille,

⁹ <http://www.invs.sante.fr/Espace-professionnels/Centres-nationaux-de-referance/Liste-et-coordonnees-des-CNR>

- le CHU de la Timone à Marseille,
- le CHU de Bordeaux,
- le laboratoire Biomnis (Lyon),
- l'hôpital d'instruction des armées Begin à Paris,
- le laboratoire de virologie de l'hôpital de la Croix Rousse à Lyon, depuis le printemps 2012,
- le laboratoire de virologie de l'hôpital de Nîmes, depuis le printemps 2012.
- aux Antilles - Guyane :
 - l'Institut Pasteur de Guyane,
 - le CHU de Fort-de-France en Martinique,
 - le CHU de Pointe-à-Pitre en Guadeloupe.
- dans l'Océan Indien :
 - le CHR Félix Guyon à Saint-Denis, La Réunion,
 - le groupe hospitalier sud Réunion à Saint-Pierre, La Réunion.
- dans la région Pacifique sud :
 - l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie,
 - l'Institut Malardé à Tahiti.

Les laboratoires dont le test RT-PCR est en développement sont :

- en métropole :
 - le laboratoire Cerba (Cergy-Pontoise),
- dans la région Pacifique sud :
 - le centre hospitalier de Polynésie française.
- dans l'Océan Indien :
 - le laboratoire du Centre Hospitalier de Mayotte

Test NS1

Selon l'évaluation faite en 2009 par la Haute autorité de santé (3), le test NS1 est accessible à tout laboratoire de biologie médicale. La méthode ICT ne nécessite pas de matériel spécifique.

3.1.5 Impact sur la transfusion sanguine et greffe de tissu

Toute la documentation relative à la transfusion sanguine et à la greffe en relation avec la dengue a été recherchée, pour estimer quel pourrait être l'impact de la mise à disposition du test de RT-PCR sur le don du sang et la transfusion.

Le plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole (10) prévoit l'activation d'une cellule d'aide à la décision « *éléments et produits du corps humain* » après identification d'un cas autochtone de dengue ou de chikungunya en France métropolitaine, en cas d'épidémie de dengue ou d'un cas autochtone de chikungunya dans les Antilles, en cas de foyers groupés de dengue ou d'épidémie de chikungunya à la Réunion, ou en cas de suspicion de transmission par la greffe ou la transfusion. Cette cellule a pour objectif de décider des mesures à prendre concernant l'utilisation de produits d'origine humaine en cas de risque de transmission. Parmi les mesures envisagées figurent la sélection clinique des donateurs, la mise en quarantaine temporaire des produits, la qualification biologique des dons (par RT-PCR), les procédés d'inactivation virale, la suspension des collectes et le suivi du receveur.

Il n'est pas attendu d'impact particulier du remboursement du test sur la transfusion sanguine, au-delà des modalités de financement des structures concernées, difficiles à estimer.

3.1.6 Conditions de réalisation

Concernant les impératifs pré-analytiques, les échantillons doivent être prélevés pendant la phase de virémie, soit avant le 5^{ème} jour (7).

L'ARN étant thermolabile, les conditions de transport, de stockage et de réalisation doivent être strictes (7). Le transport doit être réalisé à des températures adaptées dans un réfrigérateur et la conservation doit être réalisée entre 4 et 8 degrés pendant au plus 24 heures. Après 24 heures, les échantillons doivent être conservés congelés à - 70 degrés ou en azote liquide (la conservation même pour de courtes période à - 20 degrés n'est pas recommandée) (7,63).

D'après l'OMS (7,63), 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 (3,7,24).

Concernant les circuits des prélèvements pour la confirmation biologique mis en place par le plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole (10) :

- « dans les départements en niveau 0 ou en dehors de la période d'activité du vecteur, le cas suspect peut être prélevé dans tout laboratoire de biologie médicale (LBM) ou laboratoire hospitalier pour la sérologie et la RT-PCR. Ces laboratoires s'assurent ensuite de l'acheminement des prélèvements vers différents laboratoires réalisant le diagnostic sérologique et vers le CNR pour la réalisation de la RT-PCR, dans les plus brefs délais (...). Certains laboratoires font la RT-PCR et envoient les prélèvements au CNR pour confirmer les cas positifs. Le CNR réalise également en seconde intention la confirmation des cas positifs de ces différents laboratoires ;
- dans les départements en niveau 1, le cas suspect peut être prélevé dans tout laboratoire de biologie médicale (LBM) ou laboratoire hospitalier pour la sérologie et la RT-PCR. Ces laboratoires s'assurent ensuite de l'acheminement des prélèvements au CNR dans les plus brefs délais (...). »

Par ailleurs, lors de la suspicion d'un cas autochtone en dehors d'une épidémie ou des cas groupés, l'interprétation du test biologique « doit toujours être réalisée en étroite concertation avec le CNR ainsi que les cliniciens, l'InVS et l'ARS (y compris la CIRE) », compte tenu du risque de faux positif (10).

En cas d'activité importante des CNR, il faut envisager de faire pratiquer ces tests au niveau des laboratoires de biologie des hôpitaux (CHU, CHR) en anticipant un transfert de technologie laboratoires de biologie médicale privés agréés (2).

3.2 Position du groupe de travail

3.2.1 Introduction

Les membres du groupe de travail ont été interrogés par questionnaires sur les thèmes suivants : performance diagnostique de la RT-PCR, comparaison des méthodes de RT-PCR, place de la RT-PCR dans la stratégie diagnostique de la dengue, impact de la RT-PCR sur les stratégies thérapeutiques et sanitaires, conditions de réalisation de la RT-PCR et population cible. Il a été demandé aux membres du groupe de travail de coter de 1 (désaccord total) à 9 (accord total) plusieurs affirmations. Une synthèse des réponses du groupe de travail et toutes les cotations sont rapportées dans ce document.

3.2.2 Commentaires généraux

Certains commentaires ont porté sur le contenu et l'organisation du document, et notamment la répétition de certains éléments (épidémiologie, présentation des plans de prévention)

La citation de données épidémiologiques et de rapports d'activité plus récents a été demandée ; ces données ont été partiellement transmises par des membres du groupe de travail.

Des précisions ont été apportées à l'analyse des plans de prévention et à la liste des laboratoires réalisant les tests.

Le groupe de travail a signalé que des kits commerciaux de diagnostic par RT-PCR étaient maintenant disponibles pour la dengue (Bioevolution et Realstar).

3.2.3 Test RT-PCR : performances diagnostiques (SE, SP)

► Performance

Les membres du groupe de travail ont été interrogés sur les affirmations suivantes :

« Le test de RT-PCR présente une sensibilité suffisante pour être utilisé en pratique clinique courante ».

Médiane : 9 ; Valeur minimale : 5 ; Valeur maximale : 9 (13 réponses)

« Le test de RT-PCR présente une spécificité suffisante pour être utilisé en pratique clinique courante ».

Médiane : 9 ; Valeur minimale : 5 ; Valeur maximale : 9 (13 réponses)

« Le test de RT-PCR présente une sensibilité et une spécificité suffisantes pour être utilisé en pratique clinique courante ».

Médiane : 9 ; Valeur minimale : 5 ; Valeur maximale : 9 (14 réponses)

Les membres du groupe de travail ont précisé que chez un patient présentant les signes cliniques de la dengue à un stade précoce (jusqu'à 5 jours après l'apparition des signes cliniques), la recherche du génome viral par RT-PCR est une technique fiable.

► Indication

Les membres du groupe de travail ont été interrogés sur les affirmations suivantes :

« Le test de RT-PCR est un test indiqué chez des patients suspectés de dengue et qui présentent de la fièvre depuis moins de 5 jours ».

Médiane : 8 ; Valeur minimale : 1 ; Valeur maximale : 9 (13 réponses)

« Le test de RT-PCR est un test indiqué chez des patients suspectés de dengue et qui présentent de la fièvre depuis moins de 7 jours ».

Médiane : 7 ; Valeur minimale : 2 ; Valeur maximale : 9 (14 réponses)

« Le test de RT-PCR est un test indiqué chez des patients suspectés de dengue et qui présentent de la fièvre depuis moins de 5 jours ; et associé à un test sérologique pour les patients ayant de la fièvre se présentant entre le 5^{ème} et le 7^{ème} jour ».

Médiane : 9 ; Valeur minimale : 5 ; Valeur maximale : 9 (13 réponses)

Les membres du groupe de travail ont précisé que la sensibilité de la RT-PCR est maximale jusqu'au 5^{ème} jour après l'apparition de la fièvre. Même si la sensibilité baisse après 5 jours, il est important que la recherche de génome viral par RT-PCR puisse être faite en première intention jusqu'au 7^{ème} jour après l'apparition des signes cliniques car :

- la virémie peut s'étendre au delà de 5 jours chez le jeune enfant, le patient immunodéprimé, en fonction du sérotype, de la charge virale, de la gravité et qu'il s'agisse d'une dengue primaire ou secondaire ;
- au 6^{ème} jour, le taux des IgM peut ne pas être significatif ;
- dans les cas de dengue secondaire, il y a souvent seulement des IgG : la détection du génome viral pendant les 7 premiers jours permet alors un diagnostic aisé ;
- les patients ont des difficultés à situer le début exact de la fièvre.

L'association RT-PCR et tests sérologiques entre le 5^{ème} et le 7^{ème} jour après l'apparition de la fièvre permet d'augmenter très fortement la sensibilité.

Un expert a proposé de réserver la RT-PCR en seconde intention aux formes graves après une recherche d'IgM ou d'antigène anti-NS1 négative ou en première intention aux formes graves nécessitant une urgence diagnostique.

En général, les patients arrivent à dater précisément le jour d'apparition de la fièvre. Cependant, il peut y avoir des imprécisions car c'est plutôt le début des symptômes qui est perçu. Chez les personnes âgées, le début est souvent moins brutal.

Deux experts ont souhaité préciser la façon de noter le premier jour de la maladie : J1 (pour un expert) ou J0 (pour l'autre expert).

3.2.4 Comparaison des différentes méthodes de RT-PCR

► Choix de la technique

Les membres du groupe de travail ont été interrogés sur l'affirmation suivante :

« *La méthode de RT-PCR conventionnelle basée sur la technique de Lanciotti est la méthode de référence (gold standard à utiliser en pratique courante) dans le diagnostic précoce de la dengue ?* ».

Médiane : 5 ; Valeur minimale : 1 ; Valeur maximale : 9 (9 réponses)

La méthode RT-PCR conventionnelle basée sur la technique de Lanciotti est la technique de référence. Cependant, elle est difficilement adaptable à de grandes séries. Sa réalisation est plus longue (6h) que la RT-PCR en temps réel. En période d'épidémie, la RT-PCR conventionnelle est difficile à mettre en œuvre car elle n'est pas adaptée aux grandes séries à forts taux de positifs en raison du risque de contamination des échantillons et du laboratoire.

Les techniques en temps réel sont facilement applicables en routine pour un laboratoire de diagnostic spécialisé en biologie moléculaire. Il convient de privilégier l'utilisation de la sonde type Taqman®.

Un expert propose d'utiliser à la fois une RT-PCR en temps réel et la sérologie à partir du 5^{ème} jour et de prendre en compte la forte charge virale : la performance serait alors proche de la RT-PCR conventionnelle de Lanciotti.

► Préconisations techniques

Il faut suivre les bonnes pratiques classiques de réalisation des PCR (limiter la contamination, réaliser un contrôle interne etc..). Le laboratoire doit disposer de techniciens expérimentés en biologie moléculaire.

► RT-PCR multiplex dengue et chikungunya

Une RT-PCR multiplex dengue et chikungunya peut être intéressante dans les zones où ces deux maladies sont endémiques. Cependant, elles ne sont pas suffisamment efficaces. Trop peu de techniques ont été évaluées et sur un faible effectif de patients. Il faut bien s'assurer que la RT-PCR puisse permettre la détection concomitante du génome viral de la dengue et du chikungunya. En effet, il se peut que l'amplification d'un génome viral épuise les réactifs communs et du coup baisse fortement la sensibilité pour la détection du génome viral du second virus.

► Sérotype du virus

Les membres du groupe de travail ont été interrogés sur les affirmations suivantes :

« *D'après votre expérience, existe-t-il un intérêt clinique à connaître le sérotype du virus de la dengue lors d'une infection primaire ?* ».

Médiane : 3 ; Valeur minimale : 1 ; Valeur maximale : 8 (9 réponses)

« *D'après votre expérience, existe-t-il un intérêt clinique à connaître le sérotype du virus de la dengue lors d'une infection secondaire ?* ».

Médiane : 3,5 ; Valeur minimale : 1 ; Valeur maximale : 8 (8 réponses)

La connaissance du sérotype du virus de la dengue lors d'une infection primaire ou secondaire n'a pas d'intérêt pour la prise en charge du patient.

► Remarques

Un expert a précisé qu'à l'heure actuelle, il est impossible d'envisager les techniques de RT-PCR comme un diagnostic rapide : la RT-PCR classique est une technique longue et la RT-PCR en temps réel est une technique coûteuse (ce qui incite à la réaliser pour un grand nombre d'échantillons, et donc à rallonger les délais).

3.2.5 Stratégie diagnostique

Les membres du groupe de travail ont été interrogés sur les affirmations suivantes :

« *Le test de RT-PCR est le test de première intention dans le diagnostic direct précoce de la dengue* ».

Médiane : 9 ; Valeur minimale : 3 ; Valeur maximale : 9 (12 réponses)

« *La RT-PCR présente des performances diagnostiques supérieures au test de détection de l'antigène NS1 dans le diagnostic précoce de la dengue* ».

Médiane : 9 ; Valeur minimale : 6 ; Valeur maximale : 9 (13 réponses)

« *Le test de détection de l'antigène NS1 peut avoir un intérêt dans certaines situations du fait de ses conditions de réalisation plus simples* ».

Médiane : 6,5 ; Valeur minimale : 2 ; Valeur maximale : 9 (13 réponses)

« Le test de détection de l'antigène NS1 peut avoir un intérêt dans certaines situations du fait de sa plus grande accessibilité par rapport à la RT-PCR ».

Médiane : 7 ; Valeur minimale : 1 ; Valeur maximale : 9 (12 réponses)

« Le test de détection de l'antigène NS1 est une alternative au test de RT-PCR lorsque celui-ci n'est pas disponible en pratique ».

Médiane : 7 ; Valeur minimale : 1 ; Valeur maximale : 9 (13 réponses)

« Un test de détection de l'antigène NS1 négatif doit toujours être confirmé par un autre test, la détection des IgG par exemple. L'autre test pourrait-il être une RT-PCR ? ».

Médiane : 7 ; Valeur minimale : 1 ; Valeur maximale : 9 (11 réponses)

La performance diagnostique de la RT-PCR est supérieure à celle du test de détection de l'antigène NS1, notamment pour les infections à DENV-4 et les infections secondaires.

Le test de RT-PCR est le test de première intention dans le diagnostic direct précoce de la dengue. Trois experts ont modulé cette affirmation :

- la RT-PCR est le test de première intention s'il est disponible (un expert) ;
- la RT-PCR est un des tests de première intention : NS1 peut aussi être utilisé en première intention selon les circonstances (deux experts).

En situation d'épidémie, la détection de l'antigène NS1 est plus accessible car les laboratoires réalisant la RT-PCR sont surchargés. C'est le cas en Guyane où il n'y a pas de laboratoire de virologie en dehors du CNR. Pour deux experts, il est plus pertinent de transférer la technique de RT-PCR aux laboratoires qui ne la pratiqueraient pas encore que de rechercher l'antigène NS1. Un expert a précisé que la technique de RT-PCR de Lanciotti présentant des risques de contamination en période épidémique et la recherche de l'antigène NS1 étant facile à réaliser, il est préférable de réaliser en première intention la détection de l'antigène NS1 et la sérologie.

Si le test de détection de l'antigène NS1 est négatif, le laboratoire doit pouvoir envoyer le prélèvement à un laboratoire effectuant la RT-PCR. Un expert considère que la recherche de l'antigène NS1 est à limiter aux formes peu graves ou quand il n'y a pas de nécessité d'avoir un diagnostic de certitude.

Le choix du test à réaliser en cas de test NS1 négatif dépend du délai entre le prélèvement et la date du début des signes. Si ce délai est inférieur à J7 : une RT-PCR peut être réalisée. Après J5, un test sérologique peut-être réalisé (IgG / IgM).

Un expert a précisé que l'antigène NS1 peut être détecté plus longtemps que l'ARN viral et peut, dans certains cas lorsque la PCR est négative et que les IgM sont positives, confirmer le diagnostic.

Cinq experts ont précisé qu'en cas de test NS1 négatif, il faut poursuivre l'exploration en présence chez le patient de signes d'alerte de gravité ou d'un facteur de comorbidité ou au début de l'épidémie. La RT-PCR est alors le meilleur test à pratiquer. Un expert a précisé qu'il est possible de réaliser deux prélèvements (un pour Ag NS1 et un pour la RT PCR). Le prélèvement pour la RT-PCR serait testé en cas de test Ag NS1 négatif et de forte suspicion de dengue.

► Quelle que soit la situation épidémique

« Quelle que soit la situation épidémique, au final, le test de RT-PCR reste le test de première intention lorsqu'il est disponible. Le test NS1 est une alternative lorsque le test RT-PCR n'est pas disponible ».

Médiane : 8,5 ; Valeur minimale : 1 ; Valeur maximale : 9 (14 réponses)

La sensibilité de la RT-PCR est supérieure à celle du test NS1. Donc si les laboratoires sont en capacité de réaliser cette technique, elle doit être utilisée en première intention. L'antigène NS1 négatif n'écarte pas une infection par la dengue et nécessite des investigations complémentaires, en particulier dans les cas de symptomatologie grave.

Pour un expert, le test NS1 est à réaliser en première intention. La RT-PCR est à réaliser en cas de résultat négatif.

La stratégie dépend du contexte épidémique.

« Le test NS1 est une alternative lorsque le test RT-PCR n'est pas disponible ».

Médiane : 7 ; Valeur minimale : 1 ; Valeur maximale : 9 (11 réponses)

Les experts ont précisé qu'un test NS1 négatif n'exclut pas un diagnostic de dengue.

Pour un expert, le test NS1 est à réaliser en première intention.

Pour un expert, la confirmation biologique du diagnostic n'est pas toujours nécessaire en période épidémique.

► Epidémie avérée : forme simple

Intérêt des critères cliniques et épidémiologiques

Un diagnostic probable de dengue posé uniquement sur des critères cliniques et épidémiologiques pourrait suffire au clinicien. En effet, d'un point de vue opérationnel, la confirmation de tous les cas en période épidémique est impossible. Cette affirmation est à moduler par les considérations suivantes :

- la confirmation d'un cas probable de dengue apporte une réponse au clinicien, surtout s'il y a co-circulation de pathogènes donnant un tableau clinique similaire (grippe, leptospirose) ;
- une formation des médecins sur les facteurs de risque de gravité de dengue est nécessaire pour qu'ils ne se contentent pas d'un résultat négatif et renvoient les patients à risque ;
- il existe toujours des cas de symptomatologie atypique nécessitant une confirmation biologique.

Quel est le test à réaliser ?

Dans le cas d'une forme simple dans un contexte d'épidémie avérée, la recherche de l'antigène NS1 est le test à réaliser en première intention (six experts) car une demande trop importante de RT-PCR pourrait engorger les laboratoires. A partir de J5, la recherche de NS1 doit être associée à la recherche des IgM. Un prélèvement pour la RT-PCR doit être fait en même temps que le prélèvement pour le test NS1 : si le test NS1 est négatif, cela permettrait de faire une RT-PCR en fonction du contexte, de la sévérité ou de la guérison du patient.

Pour deux experts, lors d'une épidémie avérée, dans le cas d'une forme simple c'est la RT-PCR qui doit être réalisée. Le test NS1 est faussement rassurant (risque de faux négatifs) et oriente le

médecin vers d'autres diagnostics et une prise en charge inadaptée. De plus, une forme simple peut évoluer très rapidement à J4/J5 vers une forme compliquée.

Pour un expert, la recherche de l'antigène NS1 et la RT-PCR peuvent être réalisées. La sérologie aura sa place à partir de J5.

Pour un expert, c'est le test le plus rapidement disponible qui doit être réalisé.

► Epidémie avérée : forme compliquée

Dans le cas d'une forme compliquée, dans un contexte d'épidémie avérée, la RT-PCR est le test à réaliser en première intention (huit experts). Un diagnostic fiable et rapide est indispensable pour la prise en charge et le diagnostic différentiel (leptospirose, bactériémie...).

Pour deux experts, c'est le test NS1 qui doit être réalisé dans cette situation car le résultat de ce test est disponible plus rapidement.

Deux experts ont rappelé que la sérologie à sa place à partir de J5.

Au total, 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).
- 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.

3.2.6 Stratégie diagnostique en fonction des zones géographiques

Six experts n'ont pas de commentaires sur la stratégie diagnostique suivante proposée par le Haut conseil de la santé publique :

- « En France métropolitaine,

Le diagnostic biologique direct de la dengue repose sur la pratique d'emblée de la RT-PCR.

Le test de recherche de l'Ag NS1 est recommandé dans le cas d'une épidémie avérée ou dans les cas cliniquement suspects importés d'une zone d'épidémie avérée.

- Dans les départements français d'Amérique et dans la région Pacifique Sud,

En Martinique et en Guadeloupe, et dans l'Océan indien, la RT-PCR est le test diagnostique direct de première intention. En période épidémique, le test de recherche de l'Ag NS1 est recommandé pour le diagnostic des formes simples. Pour les patients hospitalisés (signes d'alerte, formes sévères, comorbidités), la RT-PCR reste le test de référence.

En Guyane, la RT-PCR reste le test de référence mais l'absence de laboratoire en mesure d'effectuer un diagnostic direct par RT-PCR, en dehors du Centre national de référence de l'Institut Pasteur de Cayenne, amène à utiliser largement le test de recherche de l'Ag NS1 qui lui est réalisable en routine. »

Un expert a précisé que, dans les Antilles et l'Océan Indien, la place de la recherche de l'antigène NS1 est très limitée. En effet, l'intérêt en période épidémique de confirmer les cas simples fait l'objet de débats.

Pour un expert, en Guadeloupe et en Martinique, la RT-PCR sera réalisée obligatoirement en seconde intention si les tests NS1 et IgM réalisés en première intention sont négatifs, en cas de formes graves ou avec facteurs de risque de gravité, quelle que soit la période épidémique. Dans ce cas, le test RT-PCR doit être réalisé sur un prélèvement fait à un stade précoce.

Le diagnostic biologique direct de la dengue chez un cas suspect importé ou autochtone repose sur la pratique d'emblée de la RT-PCR, pour assurer une confirmation diagnostique et effectuer un sérotypage à des fins épidémiologiques.

Le test de recherche de l'antigène NS1 est recommandé dans le cas d'une épidémie avérée, dans le but de soulager les capacités diagnostiques des structures réalisant le diagnostic direct par RT-PCR.

Un expert a exprimé le fait que l'inégalité entre les territoires français pose question.

Hors zone d'endémie

Faire une PCR seule jusqu'à J5. Entre J5 et J7, la RT-PCR est associée à la recherche des IgM et IgG. Après J7, rechercher seulement les IgM et IgG.

3.2.7 Impact de la RT-PCR sur les stratégies thérapeutiques et sanitaires

► Impact de la RT-PCR sur la stratégie thérapeutique

Les membres du groupe de travail ont été interrogés sur les affirmations suivantes :

« Le test de RT-PCR permet un diagnostic précoce de la dengue et ainsi en cas de résultat positif : un arrêt des recherches diagnostiques d'autres étiologies des symptômes ».

Médiane : 8 ; Valeur minimale : 5 ; Valeur maximale : 9 (13 réponses)

« Le test de RT-PCR permet un diagnostic précoce de la dengue et ainsi en cas de résultat positif une meilleure prise en charge thérapeutique : traitement et surveillance des patients ».

Médiane : 9 ; Valeur minimale : 6 ; Valeur maximale : 9 (11 réponses)

Les membres du groupe de travail ont précisé que dans les zones endémiques où sévissent plusieurs infections en même temps, l'arrêt des recherches diagnostiques d'autres étiologies en cas de résultat positif de RT-PCR doit se faire avec prudence.

En cas de résultat positif de la RT-PCR, le suivi des patients repose sur :

Surveillance

- surveillance clinique et biologique du risque hémorragique ;
- hospitalisation ou surveillance très rapprochée des personnes à risque de complication (pathologies associées, drépanocytose, nourrisson, traumatisme ou AVC récent, traitement par anti-vitamine K...);

- surveillance de la fièvre ;
- réexamen clinique en particulier en cas de défervescence précoce accompagnée de douleurs abdominales, et/ou de pâleur, et/ou de vomissements.

Traitement

- ne pas administrer d'aspirine, d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, de corticoïdes ;
- réévaluer les traitements prescrits pour le diabète ou l'hypertension artérielle, ainsi que les prescriptions d'anti-agrégants plaquettaires ;
- ne pas pratiquer de geste invasif (myélogramme) pour trouver l'étiologie d'une thrombopénie.

Accompagnement

- expliquer les règles d'utilisation du paracétamol (risque important de toxicité hépatique) ;
- informer sur les signes d'alerte de l'hémorragie.

► Impact de la RT-PCR sur la stratégie sanitaire

Les membres du groupe de travail ont été interrogés sur l'affirmation suivante :

« *Le test de RT-PCR permet un diagnostic précoce de la dengue et ainsi en cas de résultat positif la mise en place de mesures sanitaires adaptées* ».

Médiane : 9 ; Valeur minimale : 5 ; Valeur maximale : 9 (13 réponses)

C'est surtout le cas en phase pré-épidémique où des mesures antivectorielles sont prises autour du domicile des nouveaux cas.

Au total, le groupe considère que 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.

Un expert a précisé que l'impact sur la prise en charge thérapeutique concerne essentiellement les formes sévères. Pour les formes bénignes, notamment en période épidémique, il n'y a pas de grand enjeu sur le type de la prise en charge thérapeutique.

Un expert a précisé qu'en zone d'endémie, l'intérêt de la RT-PCR est surtout pour le sérotypage.

3.2.8 Population cible

Les membres du groupe de travail ont été interrogés sur l'affirmation suivante :

« *La population cible du test de RT-PCR peut être estimée entre 11 000 (nombre de cas suspects de dengue en Guyane entre janvier 2009 et mai 2009) et 27 800 (nombre de cas suspects de dengue en Martinique et en Guadeloupe entre septembre 2007 et janvier 2008)* ».

Médiane : 5 ; Valeur minimale : 2 ; Valeur maximale : 7 (8 réponses)

Selon les membres du groupe de travail, pour la fourchette haute, il faut prendre comme exemple l'épidémie de dengue dans les DFA en 2010 (40 000 cas suspects en Guadeloupe et 40 000 en

Martinique), au cours de laquelle 4 000 RT-PCR ont été réalisées en Martinique (suspensions de formes sévères).

Pour la fourchette basse, on peut se rapporter aux chiffres d'une année stable dans les DFA (2008, 2011) et ajouter les cas suspects en France métropolitaine et à la Réunion et Mayotte.

Un expert a considéré qu'à la Réunion, 400 PCR par an sont faites. En cas d'épidémie, il faudrait en faire entre 20 000 et 60 000.

Toutefois, cette évaluation reste approximative et ces chiffres sont à modérer car :

- les épidémies peuvent être d'ampleur différente ;
- tous les cas suspects de dengue ne font pas l'objet d'une détection par RT-PCR mais uniquement les patients présentant des signes cliniques depuis 5/7 jours maximum ;
- d'autres territoires français sont concernés par la dengue (Nouvelle-Calédonie, Polynésie, Réunion et Mayotte, et les départements du sud de la France) ;
- il faut prendre en compte les voyageurs.

3.2.9 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.).

En cas d'activité importante des CNR, il faudrait envisager de faire pratiquer ces tests au niveau des laboratoires de biologie des hôpitaux (CHU, CHR) en anticipant un transfert de technologie vers les laboratoires de biologie médicale privés agréés.

Les membres du groupe de travail ont précisé les étapes indispensables à la bonne réalisation de la technique.

► Etapes pré-analytiques

- Prélèvement : tube sec ou EDTA.
- Renseignement des informations cliniques.
- Transport à + 4°C.
- Acheminement rapide (< 24h).
- Centrifugation dans les 4h suivant la réception.
- Stockage (+ 4°C puis au-delà de 24 h à - 80°C).
- Décantation et aliquotage sous poste de sécurité microbiologique (PSM).
- Précautions standard de la PCR pour éviter les contaminations.

Un expert a précisé qu'un échantillon biologique peut être conservé et transporté à + 4°C pour la recherche de génome viral par RT-PCR.

► Etapes analytiques

- Laboratoire spécialisé de virologie.
- Trois pièces séparées (extraction, préparation, amplification) en respectant l'ordre des pièces.
- Personnel qualifié en PCR.
- Accréditation ISO 15189.
- Equipement pour les PCR classiques (locaux extraction, locaux amplification avec thermocycleur, locaux post amplification avec cuve à électrophorèse, lecteur UV) pour les périodes inter-épidémiques, et en PCR temps réel (thermocycleur temps réel) pour les périodes épidémiques.
- Congélateur à - 80°C.
- Système d'extraction de l'ARN viral.
- Poste de sécurité microbiologique en cas d'extraction manuelle.
- Hotte avec UV pour le mélange des réactifs de la PCR.

- Assurance qualité.

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 laboratoire doit pratiquer ce type de technique en routine.

Pour un expert, l'étape d'extraction ne nécessite pas de hotte.

► Assurance qualité

- Accréditation ISO15189.
- Abonnement à un contrôle de qualité.
- Vérification ou validation de méthode.
- Habilitation du personnel qualifié.
- Métrologie des thermocycleurs.
- Vérification des PSM.
- Surveillance températures chambres froides et congélateurs.
- Possibilité de dépannage rapide.
- Formation et évaluation des techniciens sur les risques de contamination (protocoles, audit de pratique, matériel sectorisés et dédiés aux secteurs pré-ampli-post).
- Contrôles qualités des différentes étapes; extraction, ampli Reverse Transcription, nested, révélation.
- Standardisation des protocoles.
- Pour tout nouveau laboratoire, évaluation par le centre de référence des arboviroses.

► Contenu du compte-rendu

- Date du prélèvement.
- Date de début des symptômes
- Nom de la technique utilisée.
- Résultat (qualitatif).
- Sérotype (si Lanciotti ou temps réel avec génotypage ou en cas de retour de voyage ou lors des premiers cas en début d'épidémie).
- Date de réception au laboratoire.
- Date de traitement de l'échantillon.
- Nom de la technique utilisée et réactifs.
- Fournisseur.
- Préciser l'absence d'inhibiteurs de PCR en cas de résultat négatif.
- Nom du biologiste.
- Clinique.
- Seuil de sensibilité.

3.2.10 Enjeux économiques

Certains experts ont mentionné qu'un diagnostic plus rapide pouvait éviter le coût généré par des examens 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.

Plusieurs 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.

Annexe 1. Méthode générale d'élaboration d'un rapport d'évaluation d'une technologie de santé

L'évaluation des technologies de santé est, selon l'*Institute of Medicine* (1985) « une démarche dont l'objet est d'examiner les conséquences à court et à long terme, de l'usage d'une technologie particulière sur les individus et sur la société dans son ensemble. Elle prend en compte la sécurité, l'efficacité expérimentale et pragmatique d'une technologie, ainsi que son impact économique (coût, rapport coûts/résultats et implications budgétaires) ; elle analyse également ses implications sociales et éthiques et met à jour les points à approfondir en terme de direction de recherche ». L'objectif est d'éclairer la décision publique par un avis argumenté prenant en compte les différentes dimensions du sujet.

Analyse critique des données identifiées de la littérature scientifique

Une recherche documentaire méthodique est effectuée d'abord par interrogation systématique des bases de données bibliographiques médicales et scientifiques sur une période adaptée à chaque thème. En fonction du thème traité, des bases de données spécifiques peuvent être consultées. Une étape commune à toutes les études consiste à rechercher systématiquement les recommandations pour la pratique clinique, conférences de consensus, revues systématiques, méta-analyses et autres travaux d'évaluation déjà publiés au plan national et international. Tous les sites Internet utiles (agences gouvernementales, organisations professionnelles, ...) sont consultés. Les documents non accessibles par les circuits conventionnels de diffusion de l'information (littérature grise) sont recherchés par tous les moyens disponibles. Par ailleurs, les textes législatifs et réglementaires pouvant avoir un rapport avec le thème sont consultés. Les recherches initiales sont mises à jour jusqu'au terme du projet. L'examen des références citées dans les articles analysés permet de sélectionner des articles non identifiés lors de l'interrogation des différentes sources d'information. Enfin, les membres des groupes de travail et de lecture peuvent transmettre des articles de leur propre fonds bibliographique. Le paragraphe « Recherche documentaire » présente le détail des sources consultées ainsi que la stratégie de recherche propres à ce rapport d'évaluation.

Chaque article est analysé selon les principes de la lecture critique de la littérature afin d'apprécier sa qualité méthodologique.

La position argumentée de professionnels de santé

Les organisations professionnelles sont consultées pour connaître les travaux réalisés sur le sujet et pour proposer une liste d'experts de la technique à évaluer, des autres options thérapeutiques ou de la pathologie étudiée. Le groupe de travail est composé d'une quinzaine de professionnels de différentes spécialités, de différents modes d'exercice (public et libéral, universitaire et non-universitaire) et de différentes localisations géographiques. Chaque membre du groupe de travail a rempli une déclaration publique d'intérêts qui a été examinée par la HAS. En cas d'intérêts déclarés, la HAS a estimé qu'ils étaient compatibles avec participation des personnes concernées, au groupe de travail, eu égard à leur expertise par rapport au sujet. La déclaration publique d'intérêts de chacun des membres est mise en ligne sur le site internet de la HAS ; le cas échéant, les intérêts déclarés pouvant avoir un lien avec le sujet évalué, sont présentés dans le rapport. Le groupe de travail à distance répond à un questionnaire sur la base de leur expertise et de l'analyse de la littérature des différents critères permettant d'estimer la validité de la technique (ratio efficacité/sécurité, indications, place dans la stratégie de prise en charge, conditions de réalisation, ...) Un rapport présentant la problématique, le champ, la méthode et l'analyse critique de la littérature est envoyé aux membres du groupe de travail avec un questionnaire pour recueillir leur position de manière formalisée et standardisée avant la réunion. Le compte rendu de l'analyse des questionnaires (discussion et position finale) est rédigé par la HAS et envoyé aux membres du groupe de travail pour validation.

Un chef de projet de la HAS coordonne l'ensemble du travail et en assure l'encadrement méthodologique.

Au vu de l'analyse critique de la littérature identifiée et de la position argumentée des professionnels de santé du groupe de travail, le Collège de la HAS, après examen et validation du dossier par la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé (CNEDiMTS) conclut quant à la validité de la technologie de santé étudiée en précisant selon les cas, ses indications, sa place dans la stratégie de prise en charge des patients, les conditions de sa bonne réalisation, les conséquences de son introduction dans le système de soins. La composition du Collège de la HAS et de la CNEDiMTS est présente sur le site Internet de la HAS.

Annexe 2. Recherche documentaire

Bases de données bibliographiques

La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et/ou types d'étude, les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche.

Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française.

Le nombre total de références obtenues par interrogation des bases de données bibliographiques est de 366.

Le Tableau 17 présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données *Medline*.

Tableau 17. Stratégie de recherche dans la base de données *Medline*

Sujet	Termes utilisés	Période
Diagnostic		01/2007 - 07/2012
Etape 1	(dengue OR dengue virus)/de OR dengue/ti	
ET		
Etape 2	diagnosis/de OR (diagnos* OR detect* OR test*)/ti	
OU		
Etape 3	dengue/diagnosis/de	
ET		
Etape 4	(health planning guidelines)/de OR (practice guideline OR guideline OR consensus development conference OR consensus development conference, NIH)/type de publication OR (recommendation* OR guideline*)/ti OR meta-analysis/type de publication OR (meta-analysis OR meta analysis OR metaanalysis OR systematic* review*)/ti OR review/type de publication OR review of literature/ti	
Diagnostic par l'Ag NS1		01/2009 - 07/2012
Etape 1 ET Etape 2		
ET		
Etape 5	(NS1 protein, dengue virus type 2 OR NS1 protein, dengue virus type 3 OR NS1 protein, dengue-1 virus)/de OR ns1/ti,ab	
Diagnostic par RT-PCR		01/2006 - 07/2012
Etape 1 ET Etape 2		
ET		
Etape 6	reverse transcriptase polymerase chain reaction/de OR RT-PCR/ti	

Sujet	Termes utilisés	Période
Données épidémiologiques françaises		01/2007 - 07/2012
Etape 1		
ET		
Etape 7	((dengue/epidemiology OR epidemiology)/de OR epidemiol*/ti) AND ((france OR guadeloupe OR martinique OR reunion OR guyana)/de OR (france OR guadeloupe OR martinique OR reunion OR guyana)/ti)	
OU		
Etape 8	(france/epidemiology OR guadeloupe/epidemiology OR martinique/epidemiology OR reunion/epidemiology OR guyana/epidemiology)/de	
Données économiques		01/2007 - 07/2012
Etape 1 et Etape 2		
ET		
Etape 9	(costs and cost analysis OR cost allocation OR cost-benefit analysis OR cost control OR cost savings OR cost of illness OR cost sharing/de OR health care costs/de OR health expenditures/de OR economics, hospital/de OR hospital costs/de OR budgets/de OR insurance, health/de OR insurance, health, reimbursement/de OR health care sector/de OR economics)/de OR (cost OR costs OR burden of disease OR cost effectiveness)/ti,ab	
Et		
Etape 5 OU Etape 6		
Qualité de vie		01/2007 - 07/2012
Etape 1		
ET		
Etape 10	(social-disorder* OR social-impairment* OR social-group* OR social- interaction* OR social-contact* OR loneliness OR quality-of-life OR absenteeism OR productivity OR disability OR disable* OR eq5d OR eq- 5d OR euro-qol OR euroqol OR sf-36 OR sf36 OR hrql OR hrqol OR well-being OR well-being OR qaly)/ti,ab OR qol/ti OR (social environment OR social change OR social behavior disorders OR social behavior OR interpersonal relations OR family relations OR socialization OR social adjustment OR social isolation OR loneliness OR quality of life OR quality-adjusted life years OR activities of daily living OR sickness impact profile OR employment OR absenteeism OR work capacity evaluation OR occupations OR job satisfaction OR disability evaluation OR disabled persons OR social support OR self-help groups OR self care OR health status)/de	
Modèles économiques / Ag NS1		01/2007 - 07/2012
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 5		
ET		
Etape 11	model*/ti OR (markov chains OR models, economic OR models, econometric OR decision trees OR models, theoretical OR models, statistical OR economics, hospital OR economics, pharmaceutical)/de	
Modèles économiques / RT-PCR		01/2007 - 07/2012
Etape 1 ET Etape 2 ET Etape 6 Et Etape 11		

de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract

Sites consultés

Agence régionale de santé Guadeloupe
Agence régionale de santé Guyane
Agence régionale de santé Languedoc-Roussillon
Agence régionale de santé Martinique
Agence régionale de santé Océan Indien
Agence régionale de santé Paca
Bibliothèque interuniversitaire de santé - BIUS
Bibliothèque médicale Lemanissier
Catalogue et index des sites médicaux francophones - CISMeF
Centre d'études d'agents pathogènes et biotechnologie pour la santé
Direction de la santé et du développement social de Guadeloupe
Direction de la santé et du développement social de la Martinique
Direction des affaires sanitaires et sociales de la Nouvelle-Calédonie
Etablissement français du sang - EFS
Evaluation des technologies de santé pour l'aide à la décision - ETSAD
Expertise collective INSERM
Haut conseil de la santé publique - HCSP
Institut de recherche et documentation en économie de la santé - IRDES
Institut de recherche pour le développement - IRD
Institut de veille sanitaire - INVS
Institut national de prévention et d'éducation pour la santé - INPES
Institut Pasteur
Institut Pasteur de Guadeloupe
Institut Pasteur de la Guyane
Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie
Médecins sans frontières - MSF
Ministère en charge de la santé
Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques - OPEPS
Société de pathologie exotique
Société de pathologie infectieuse de langue française - SPILF
Société française de médecine générale - SFMG
Société française d'immunologie
Vice-présidence Polynésie Française

Agency for Healthcare Research and Quality - AHRQ

Alberta Heritage Foundation for Medical Research - AHFMR

Alberta Medical Association
American College of Physicians - ACP
Armed Forces Research Institute of Medical Sciences
Biblioteca Virtual para la Vigilancia en Salud Publica de Colombia
Blue Cross Blue Shield Association - BCBS
BMJ Clinical Evidence
Bureau of Epidemiology Department of Disease Control, Ministry of Public Health Thailand
California Technology Assessment Forum - CTAF
Campaign against Dengue, National Environment Agency (Singapour)
Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health - CADTH
Centers for Disease Control and Prevention - CDC
Centre fédéral d'expertise des soins de santé - KCE
Centre for Clinical Effectiveness - CCE
Centre for Effective Practice
Centre for Reviews and Dissemination Databases
Clinical Knowledge Summaries
Clinical Practice Guidelines Portal
CMA Infobase
Cochrane Library
College of Physicians and Surgeons of Alberta - CPSA
Conseil supérieur de la santé (Belgique) - CSS
Department of Health
Department of Health (Philippines)
Epidemiology Unit, Ministry of Health (Sri Lanka)
European Centre for Disease Prevention and Control - ECDC
European Network for Diagnostics of "Imported" Viral Diseases - ENIVD
Euroscan
Guidelines and Protocols Advisory Committee- GPAC
Guidelines International Network - GIN
Institut national d'excellence en santé et en services sociaux - INESSS
Institute for Clinical Evaluative Sciences - ICES
Institute for Clinical Systems Improvement - ICSI
Intute Health & Life Sciences - INTUTE
Ministerio de Salud (Costa-Rica)
Ministerio de Salud (Nicaragua)
Ministerio del Poder Popular para la Salud (Venezuela)
Ministry of Health (Brésil)

Ministry of Health (Cambodge)
Ministry of Health Malaysia
National Center of Epidemiological Surveillance and Diseases Control (Mexique)
National Coordinating Centre for Health Technology Assessment - NCCHTA
National Guideline Clearinghouse - NGC
National Health and Medical Research Council - NHMRC
National Health Services - NHS
National Horizon Scanning Centre - NHSC
National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE
National Institute of Allergy and Infectious Diseases
National Institute of Infectious Diseases (Japon)
National Institutes of Health
National Vector Borne Disease Control Programme (Inde)
New Zealand Guidelines Group - NZGG
New Zealand Health Technology Assessment - NZHTA
Pan American Health Organization - PAHO
Philippine Pediatric Society
Public Health Agency of Canada - PHAC
Queensland government
Republic of Mauritius
Pacific Public Health Surveillance Network
Singapore Ministry of Health
Tripdatabase
World Health Organization - WHO

Annexe 3. Méthodologie des études de mesure de la qualité de vie

La qualité de vie associée à l'infection par la dengue peut-être mesurée à partir d'**échelles psychométriques**, génériques ou spécifiques d'une pathologie, et généralement multidimensionnelles. Les échelles utilisées dans les études analysées (11,12) sont présentées ci-dessous¹⁰.

Echelles génériques :

- *WHOQOL-BREF / WHO World Health Survey* : questionnaire évaluant la santé générale, les relations sociales et les domaines physique, psychologique et environnemental, chaque item variant de 1 (pas de détérioration) à 5 (détérioration extrême). La première question évaluant le score de santé générale avant la situation évaluée ;
- *EuroQOL thermometer-like scale* : échelle visuelle analogique variant de 0 (état de santé le pire) à 100 (état de santé le meilleur).

¹⁰ La traduction des échelles présentée dans ce document n'est pas validée.

Annexe 4. Caractéristiques méthodologiques et résultats des études de qualité de vie associée à la dengue

Tableau 18. Caractéristiques et résultats des études de qualité de vie de la dengue

Publication	Objectif et méthode	Résultats	Commentaires
Martelli <i>et al.</i> , 2011 (11)	<p>L'étude a été menée en 2005 chez des adolescents et adultes traités à l'hôpital ou en ambulatoire dans la ville de Goiânia dans le centre du Brésil. La première épidémie a eu lieu en 1994 puis s'est poursuivie en 2002. Au moment de l'étude, le virus prédominant était le DENV-3 et environ 9 000 cas avaient été répertoriés dont 85 % d'adultes. Les patients présentant un diagnostic de dengue à l'hôpital public, à l'hôpital privé ou en ambulatoire ont été inclus dans l'étude de façon consécutive. Le diagnostic de dengue, de dengue hémorragique ou de dengue intermédiaire était établi par un médecin de l'étude selon les critères de l'OMS. Après confirmation biologique du diagnostic, une visite à domicile était prévue 15 jours après le diagnostic afin d'établir la mesure de référence pour la qualité de vie, à travers le questionnaire WHOQOL-BREF, adapté à la durée de l'épisode de dengue, et l'échelle visuelle analogique de l'EuroQOL (<i>EuroQOL thermometer-like scale</i>)¹¹.</p> <p>Les données ont été analysées selon une méthode d'analyse en composantes principales.</p>	<p>Parmi les 550 patients consécutifs, 140 cas ont été exclus faute de confirmation biologique du diagnostic et 38 enfants de moins de 12 ans ont été exclus faute de questionnaire validé pour cette tranche d'âge. Au final, 372 patients ont été inclus dans l'étude (63,4 % de femmes, âge médian 36 ans) ; 99,6 % des patients suivis en ambulatoire présentaient un diagnostic de dengue tandis qu'à l'hôpital, 55,2 % des individus avaient une dengue, 33,3 % une dengue intermédiaire et 11,5 % une dengue hémorragique. L'état général de santé avant l'épisode était bon pour 85,4 % des patients, sans différence significative entre les groupes suivis en ambulatoire et à l'hôpital.</p> <p>Quinze jours après le diagnostic, la médiane du score retenu pour décrire l'état de santé était significative plus faible dans le groupe hospitalisé que dans le groupe suivi en ambulatoire (10 vs 20 respectivement).</p> <p>L'analyse en composantes principales a permis d'identifier 5 dimensions expliquant 73 % de la variabilité.</p> <p>Les composantes affectées par la dengue sévère (par rapport à la dengue non sévère) étaient l'activité intellectuelle et l'autonomie.</p>	<p>L'étude ne porte que sur les patients ayant consulté pour la dengue, ce qui peut modifier le résultat par rapport à l'ensemble de la population touchée.</p> <p>La méthode en composantes principales, en agrégeant différentes variables en composantes, « simplifie » les données pour les rendre plus lisibles, et peut éventuellement masquer certains résultats.</p>

¹¹ Les patients devaient désigner sur l'échelle leur état de santé le pire et le meilleur au cours de l'épisode de dengue ; la valeur la pire était retenue pour décrire l'état de santé de l'individu.

Publication	Objectif et méthode	Résultats	Commentaires
Lum <i>et al.</i> , 2008 (12)	<p>L'étude prospective a été menée de décembre 2004 à décembre 2005 auprès d'enfants et d'adultes atteints de dengue et pris en charge en ambulatoire ou en milieu hospitalier.</p> <p>Un questionnaire, soumis le jour du premier recours aux soins et environ 15 jours plus tard, a permis de recueillir des données démographiques, les caractéristiques cliniques de l'épisode de dengue et son effet sur l'état de santé à travers le questionnaire de la <i>World Health Survey</i>. Le questionnaire était complété par les données cliniques et biologiques nécessaires au diagnostic de la dengue selon la classification de l'OMS¹². La qualité de vie a été mesurée, chaque jour pour les patients hospitalisés et au maximum tous les trois jours pour les patients ambulatoires, à travers l'échelle visuelle analogique de l'EuroQOL (<i>visual thermometer-like scale</i>) ; les données manquantes ont été estimées par interpolation.</p>	<p>Parmi les 235 patients inclus, 207 (88 %) ont eu un diagnostic de dengue confirmé ; 83 patients étaient suivis en ambulatoire et 124 à l'hôpital ; parmi les patients hospitalisés, respectivement 53 % et 40 % des enfants et des adultes avaient une dengue hémorragique.</p> <p>Alors que tous les patients déclaraient une santé bonne ou très bonne avant l'étude, toutes les dimensions de la santé (sauf la vue) avaient été affectées au cours de l'épisode, et de façon significativement plus forte pour les patients hospitalisés pour la santé en général, l'autonomie, le sommeil et les émotions.</p> <p>La qualité de vie mesurée par l'échelle visuelle analogique a été fortement dégradée pour tous les patients à l'apparition des symptômes puis s'est dégradée progressivement pour atteindre son plus bas niveau, autour de 40 % (35 à 45 %) de la valeur de qualité de vie avant l'épisode, entre le 3^{ème} et le 7^{ème} jour de l'infection (généralement le dernier jour de fièvre). Au-delà, la qualité de vie s'est améliorée progressivement pour atteindre le niveau précédent l'épisode autour du 9^{ème} jour en ambulatoire et du 13^{ème} jour (11 à 19 jours) à l'hôpital. La qualité de vie des adultes suivis en ambulatoire s'est dégradée selon la même temporalité mais dans une amplitude moindre (baisse moins importante et retour plus rapide au niveau précédent l'infection).</p>	<p>Pour de nombreux patients, le diagnostic de dengue n'a pas été confirmé faute d'enregistrement dans les dossiers médicaux des épisodes de saignement. Selon les auteurs, la part de patients pour lesquels le diagnostic est confirmé est plus faible que dans d'autres études comparables.</p>

¹² Ces informations étaient généralement disponibles pour les patients hospitalisés uniquement.

Annexe 5. Limites des études analysées concernant les performances de la RT-PCR en comparaison à l'isolement viral et/ou à la séroconversion

Tableau 19. Etudes analysées concernant les performances de la RT-PCR en comparaison à l'isolement viral et/ou à la séroconversion

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Période après l'apparition de la fièvre	Limites	Test évalué	Comparateur
Callahan <i>et al.</i> , 2001 (21)	Etude rétrospective (USA)	67 sérums positifs par isolement viral et 21 sérums de donneurs sains	NR	séries de cas de patients avec témoins sujets sains patients non consécutif patients caractérisés par la classification en Dengue fébrile et par leur statut biologique pour chaque patient, la PCR et le l'isolement viral ont été réalisés sur un même échantillon	RT-PCR (TaqMan)	isolement viral
Kong <i>et al.</i> , 2006 (22) Yong <i>et al.</i> , 2007 (23)	Etude rétrospective (Malaisie)	376 échantillons (set A) dont : 95 positifs pour l'isolement viral, 96 supernageant de virus, 15 sérums négatifs à l'isolement viral et positifs à la séroconversion, 100 paires de sérums positifs aux IgM et 70 échantillons contrôle atteint d'autres infections virales	NR	séries de cas de patients avec des témoins atteints d'autres pathologies patients non consécutifs patients caractérisés par leur statut biologique Pour chaque patient, la PCR et le comparateur ont été réalisés sur un même échantillon (ainsi que sur l'échantillon de la phase de convalescence pour la séroconversion)	RT-PCR en temps réel (TaqMan) RT-PCR (multiplex et SybGreen)	isolement viral, séroconversion

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Période après l'apparition de la fièvre	Limites	Test évalué	Comparateur
Pok <i>et al.</i> , 2010 (24)	Etude rétrospective (Singapour)	112 patients (set A) suspectés dengue avec deux échantillons de sérums dont 52 ont une dengue confirmée 100 échantillons négatifs pour la dengue (set B)	J1 à J3 (échantillon de la phase aiguë), J3 à J8 (échantillon de la phase de convalescence) J1 à J8 (set B)	séries de cas de patients avec des témoins négatifs pour la dengue patients non consécutifs patients caractérisés par la suspicion de dengue Pour chaque patient, la PCR et les comparateurs ont été réalisés sur un même échantillon (ainsi que sur l'échantillon de la phase de convalescence pour la séroconversion)	RT-PCR (Lai et al) NS1 (BioRad Platelia Dengue) NS1 (Ag Strip) NS1 (Panbio Dengue Early) NS1+IgM (Panbio Dengue Duo Cassette) IgM (Panbio Dengue Capture) IgG (Panbio Dengue Capture)	RT-PCR ou IgM séroconversion ou titre élevé d'IgG

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Période après l'apparition de la fièvre	Limites	Test évalué	Comparateur
Lai <i>et al.</i> , 2007 (25)	Etude rétrospective (Singapour)	deux sets de sérums : set A : 110 patients suspectés de dengue avec 3 échantillons, le premier à J3, le second à J6 et le dernier à J21 set B : 149 patients suspectés de dengue		séries de cas de patients avec ou sans des témoins pas de patients contrôle autres que les patients suspecté de dengue mais négatifs au test biologique patients non consécutifs patients caractérisés par suspicion de dengue Pour chaque patient, la PCR et le comparateur ont été réalisés sur un même échantillon (ainsi que sur l'échantillon de la phase de convalescence pour la séroconversion)	RT-PCR en temps réel (SYB Green)	set A : séroconversion set B : isolement viral et IFA
Saxena <i>et al.</i> , 2008 (26)	Etude rétrospective (Inde)	620 échantillons de sérums provenant de patients fébriles suspectés cliniquement de dengue et 40 volontaires sains	J0 à J4	séries de cas de patients avec témoins sains patients non consécutifs patients caractérisés suspectés de dengue et présentant de la fièvre Pour chaque patient, la PCR et le comparateur ont été réalisés sur le même échantillon	RT-PCR semi-nichée RT-PCR multiplex	isolement viral
Wu <i>et al.</i> , 2008 (27)	Etude rétrospective (USA)	81 échantillons de sérum de patients avec des symptômes cliniques et 25 échantillons de volontaires sains		séries de cas de patients avec témoins sains patients non consécutifs patients caractérisés suspecté de dengue et après confirmation biologique Pour chaque patient, la PCR et le comparateur ont été réalisés sur le même échantillon	RT-PCR (multiplex et SYBGreen)	Isolement viral + IFA

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Période après l'apparition de la fièvre	Limites	Test évalué	Comparateur
Watthanaworawit <i>et al.</i> , 2011 (28)	Etude prospective (Thaïlande)	162 patients inclus avec fièvre et signes cliniques de la maladie (saignement anormaux, maux de tête, myalgie, rash, rougeur oculaires) en excluant les patients ayant un diagnostic alternatif calir (malaria, infection urinaire, pneumonie) puis revus 10 à 14 jours après dont 72 patients avec une dengue confirmée par la séroconversion (dont 71 sérotypes 3)	J0 à J7	séries de cas de patients pas de témoins (patients testés négativement) patients consécutifs patients bien caractérisés par à les symptômes décrits par l'OMS Pour chaque patient, la PCR et le comparateur ont été réalisés sur le même échantillon et sur l'échantillon de la phase de convalescence pour la séroconversion	RT-PCR en temps réel (SYB Green) NS1 ELISA (Panbio Dengue early ELISA) IgM ELISA (Panbio)	IgM ou IgG seroconversion

Annexe 6. Limites des études analysées concernant les performances du test NS1 en comparaison à la RT-PCR

Tableau 20. Etudes analysées concernant les performances du test NS1 en comparaison à la RT-PCR

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Période après l'apparition de la fièvre	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Fry <i>et al.</i> , 2011 (29)	Etude rétrospective (Vietnamien, Malaisie et Australie)	<p>site Vietnamien : 198 patients positifs à la RT-PCR et/ou séroconversion (dont 159 positifs à la RT-PCR seule) et 100 patients avec des signes cliniques de dengue sans confirmation biologique</p> <p>site Malaisien : 263 échantillons positifs par RT-PCR et 10 échantillons présentant une autre pathologie</p>	<p>site Vietnamien : J1 à J4</p> <p>site Malaisien : J1 à J15</p>	<p>site Vietnamien : séries de cas de patients pas de témoins (autre que sujets suspectés mais négatifs) patients non consécutifs patients caractérisés par leur statut biologique ou par la suspicion clinique pour chaque patient, le test NS1 et la PCR ont été réalisés sur un même échantillon</p> <p>site Malaisien : séries de cas de patients avec témoins sujets atteints d'une autre pathologie patients non consécutifs patients caractérisés par leur statut biologique pour chaque patient, le test NS1 et la PCR ont été réalisés sur un même échantillon</p>	<p>site Vietnamien : NS1 ICT (Panbio dengue Early rapid test)</p> <p>site Malaisien : NS1 ICT (Panbio dengue Early rapid test +Panbio duo cassette)</p>	RT-PCR (sous groupe du comparateur de référence de l'étude)	<p>site Vietnamien : NS1 : 71,1 (64,0 - 78,1) comparé à la RT-PCR uniquement</p> <p>site Malaisien : NS1 : 68,9 (61,8 - 76,1) comparé à la RT-PCR uniquement</p>	<p>site Vietnamien : NS1 : 96 (92,2 - 99,8)</p> <p>site Malaisien : NS1 96,7 (82,8 - 99,9)</p>

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Période après l'apparition de la fièvre	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Guzman <i>et al.</i> , 2010 (30)	Etude prospective (Thaïlande, Philippines, Vietnam, Malaisie, Nicaragua, Venezuela)	2259 patients inclus ayant des signes cliniques de dengue et de la fièvre dont 1821 testés pour NS1 2 échantillons	J1 à J7 puis J4 à J14	séries de cas de patients pas de témoins (autre que sujets suspectés mais négatifs) patients consécutifs patients caractérisés par la suspicion clinique pour chaque patient, le test NS1 et la PCR ont été réalisés sur un même échantillon	NS1 ELISA (Paltelia BioRad ou PanE Panbio)	RT-PCR (sous groupe du comparateur de référence de l'étude)	NS1 PanE : 67 (63 - 71) vs RT-PCR NS1 Platelia : 77 (74 - 79) vs RT-PCR	NS1 : 100 (vs diagnostic de référence)
Najioullah <i>et al.</i> , 2011 (31)	Etude prospective (Martinique)	537 échantillons de patients avec une fièvre aigue Dont 264 positifs, tous DENV2	J1 à J8	séries de cas de patients pas de témoins (autre que sujets suspectés mais négatifs) patients consécutifs patients caractérisés par la suspicion clinique pour chaque patient, le test NS1 et la PCR ont été réalisés sur un même échantillon tous les patients sont DENV2	NS1 ELISA (Bio-Rad) NS1 ICT (Bio-Rad)	RT-PCR (Lanciotti modifiée)	NS1 ELISA : 61,2 (55,2 - 67,2) VNP : 73,2 (68,7 - 77,8) NS1 ICT : 49,4 (43,2 - 55,6) VNP : 68,0 (63,4 - 72,6)	NS1 ELISA (Bio-Rad) : 100 NS1 ICT (Bio-Rad) : 100

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Période après l'apparition de la fièvre	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Tontulawat <i>et al.</i> , 2011 (32)	Etude rétrospective (Thaïlande)	237 échantillons simples et 50 paires d'échantillons de patients présentant des signes cliniques de dengue (fièvre, maux de tête, rash, myalgie, arthralgie)	J1 à J7	séries de cas de patients pas de témoins (autre que sujets suspectés mais négatifs) patients non consécutifs patients caractérisés par la suspicion clinique pour chaque patient, le test NS1 et la PCR ont été réalisés sur un même échantillon	NS1 ICT (SD Dengue Duo Rapid Test - Standard Diagnostics) (NS1, IgM et IgG)	RT-PCR semi-nichée	70,6	73,4
Tricou <i>et al.</i> , 2010 (33)	Etude prospective descriptive multicentrique (Vietnam)	292 patients inclus avec des signes cliniques de dengue, et deux échantillons de plasma dont 245 RT-PCR positifs	J0 à J7 puis J4 à J14	séries de cas de patients pas de témoins (autre que sujets suspectés mais négatifs) patients consécutifs patients caractérisés par la suspicion clinique pour chaque patient, le test NS1 et la PCR ont été réalisés sur un même échantillon	NS1 ICT (Ag Strip BioRad) NS1 ICT (SD Dengue Duo Rapid Test Standard Diagnostics) (NS1, IgM et IgG)	RT-PCR (Hang et al)	NS1 Ag Strip : 61,6 (55,2 - 67,8) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 seul) : 62,4 (56,1 - 68,5) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 ou IgM) : 75,5 (69,6 - 80,8)	NS1 Ag Strip : 100 (93,8 - 100) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 seul) : 100 (93,8 - 100) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 ou IgM) : 100 (93,8 - 100) SD Dengue Duo Rapid Test (NS1 ou IgM ou IgG) : 97,9 (88,7 - 99,9)

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Période après l'apparition de la fièvre	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Zainah <i>et al.</i> , 2009 (34)	Etude rétrospective (Malaisie)	314 patients avec un diagnostic clinique de dengue précoce et 219 patients avec d'autres pathologies		séries de cas de patients témoins avec d'autres pathologies patients non consécutifs patients caractérisés par la suspicion clinique pour chaque patient, le test NS1 et la PCR ont été réalisés sur un même échantillon	NS1 ICT (Ag STRIP, BioRad)	RT-PCR (sous groupe)	NS1 : 87	NS1 : 99,5

Annexe 7. Limites des études analysées comparant les performances des différentes méthodes de RT-PCR

Tableau 21. Etudes analysées comparant les performances des différentes méthodes de RT-PCR

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Raengsakulrach <i>et al.</i> , 2002 (35)	Etude rétrospective (Thaïlande)	Deux échantillons par patients (précoce et convalescent) panel A : 98 échantillons en phase précoce panel B : 143 échantillons en phase précoce	séries de cas de patients pas de témoins (autre que sujets suspectés mais négatifs) patients non consécutifs patients caractérisés par la suspicion clinique pour chaque patient, les tests PCR et l'isolement viral ont été réalisés sur un même échantillon, la séroconversion sur les 2 échantillons du même patient	RT-PCR Henchal et al RT-PCR Morita et al RT-PCR Lanciotti et al RT-PCR Yenchitsomanus et al	Isolement viral ou séroconversion	Panel 1 : RT-PCR Henchal et al : 52 RT-PCR Morita et al : 60 RT-PCR Lanciotti et al : 79 RT-PCR Yenchitsomanus et al : 80 Isolement viral : 54 Panel 2 : RT-PCR Henchal et al : 84 RT-PCR Morita et al : 90 RT-PCR Lanciotti et al : 100 RT-PCR Yenchitsomanus et al RT-PCR (différentes méthodes) : 97 Isolement viral : 87	Panel 1 et 2 : RT-PCR Henchal et al : 100 RT-PCR Morita et al : 96 RT-PCR Lanciotti et al : 96 RT-PCR Yenchitsomanus et al : 98

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Saxena <i>et al.</i> , 2008 (26)	Etude rétrospective (Inde)	620 échantillons de sérums provenant de patients fébriles suspectés cliniquement de dengue collectés entre J0 et J4, ainsi que 40 volontaires sains	<p>séries de cas de patients avec témoins sains patients non consécutifs patients caractérisés suspectés de dengue et présentant de la fièvre</p> <p>Pour chaque patient, la PCR et le comparateur ont été réalisés sur le même échantillon</p>	<p>RT-PCR semi-nichée</p> <p>RT-PCR multiplex</p>	isolement viral	<p>RT-PCR semi-nichée : 96+par RTPCR vs 57 par IV</p> <p>RT-PCR multiplex : 96+par RTPCR vs 57 par IV</p>	<p>RT-PCR semi-nichée : 100</p> <p>RT-PCR multiplex : 100</p>
Yong <i>et al.</i> , 2007 (23)	Etude rétrospective (Malaisie)	280 échantillons dont 95 positifs à l'isolement viral, 15 négatifs à l'isolement viral mais positif à la séroconversion, 100 positifs par IgM et 70 positifs pour d'autres pathologies infectieuses que la dengue	<p>séries de cas de patients avec des témoins atteints d'autres pathologies patients non consécutifs patients caractérisés par leur statut biologique</p> <p>Pour chaque patient, la PCR et le comparateur ont été réalisés sur un même échantillon (ainsi que sur l'échantillon de la phase de convalescence pour la séroconversion)</p>	<p>RT-PCR multiplex</p> <p>RT-PCR SYBR Green</p>	isolement viral ou séroconversion	<p>RT-PCR multiplex : 98,18</p> <p>RT-PCR SYBR Green : 99,09</p>	<p>RT-PCR multiplex : 100</p> <p>RT-PCR SYBR Green : 100</p>

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Dash <i>et al.</i> , 2008 (36)	Etude rétrospective (Inde)	360 échantillons en phase précoce de patients avec des infections de dengue et de chikungunya confirmées ou suspectées 20 échantillons provenant de volontaires sains	séries de cas de patients avec des témoins sains patients non consécutifs patients caractérisés par leur statut biologique et/ou une suspicion clinique Pour chaque patient, les différentes méthodes de RT-PCR ont été réalisées sur un même échantillon (ainsi que sur l'échantillon de la phase de convalescence pour la séroconversion)	DCmRT-PCR	RT-PCR	100	100
Mishra <i>et al.</i> , 2011 (37)	Etude rétrospective (Inde)	97 patients avec des signes cliniques de dengue ou de chikungunya et 10 patients volontaires sains	séries de cas de patients avec des témoins sains patients non consécutifs patients caractérisés par une suspicion clinique Pour chaque patient, les différentes méthodes de RT-PCR ont été réalisées sur un même échantillon	DCmRT-PCR	RT-PCR	100	100

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Paudel <i>et al.</i> , 2011 (38)	Etude rétrospective (Thaïlande)	193 échantillons provenant de patients ayant de la fièvre	<p>séries de cas de patients</p> <p>pas de témoins (autres que les patients suspectés mais négatifs)</p> <p>patients non consécutifs</p> <p>patients caractérisés par une suspicion clinique</p> <p>Pour chaque patient, les différentes méthodes de RT-PCR ont été réalisées sur un même échantillon</p>	<p>RT-PCR SYBR Green</p> <p>RT-PCR Taqman</p>	RT-PCR	<p>RT-PCR SYBR Green : 84</p> <p>RT-PCR Taqman : 65</p>	<p>RT-PCR SYBR Green : 81</p> <p>RT-PCR Taqman : 74</p>
Pongsiri <i>et al.</i> , 2012 (39)	Etude rétrospective en aveugle (Thaïlande)	290 cas suspectés de dengue ou de chikungunya entre J0 et J7 et 28 cas atteint d'autres pathologies infectieuses	<p>séries de cas de patients</p> <p>avec des témoins atteints d'autres pathologies</p> <p>patients non consécutifs</p> <p>patients caractérisés par une suspicion clinique</p> <p>Pour chaque patient, les différentes méthodes de RT-PCR ont été réalisées sur un même échantillon</p>	DCmRT-PCR	RT-PCR	97,65	92,59

Annexe 8. Limites des études analysées pour la stratégie diagnostique

Tableau 22. Etudes analysées pour la stratégie diagnostique

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Duong <i>et al.</i> , 2011 (40)	Etude rétrospective (Cambodge)	336 patients suspectés de dengue ayant de la fièvre dont 243 avec une dengue précoce, 62 ayant une infection autre que la dengue et 17 sans maladie infectieuse	séries de cas de patients pas de témoins (patients testés négativement) patients non consécutifs patients caractérisés par suspicion clinique Pour chaque patient, la PCR et le comparateur ont été réalisés sur le même échantillon et sur l'échantillon de la phase de convalescence	NS1 ELISA (Platelia BioRad)	IgM ou HI et NS1 et/ou isolement viral et/ou RT-PCR ou RT-PCR en temps réel	RT-PCR : 77,0 (71,7 - 81,2) RT-PCR + IgM ELISA : 95,4 (92,1 - 97,6) NS1 : 57,7 (51,4 - 63,8) NS1+ IgM ELISA : 85,7 (80,9 - 89,8)	NS1 : 100

Premier auteur, année	Type d'étude	Population	Limites	Test évalué	Comparateur	Se % (IC)	Sp % (IC)
Watthanaworawit <i>et al.</i> , 2011 (28)	Etude prospective (Thaïlande)	162 patients inclus âgés de 15 ans ou plus présentant une fièvre de plus de 38°C en phase aigüe de la maladie de J0 à J7 (durée moyenne de la fièvre de 2 jours) avec des signes cliniques de la maladie (saignement anormaux, maux de tête, myalgie, rash...)	séries de cas de patients pas de témoins (patients testés négativement) patients consécutifs patients bien caractérisés par à les symptômes décrits par l'OMS Pour chaque patient, la PCR et le comparateur ont été réalisés sur le même échantillon et sur l'échantillon de la phase de convalescence pour la séroconversion	RT-PCR en temps réel (SYB Green) NS1 ELISA (Panbio Dengue early ELISA) IgM ELISA (Panbio)	IgM ou IgG séroconversion	RT-PCR : 88,9 (79,3 - 95,1) NS1 : 54,2 (42,0 - 66,0) IgM : 16,7 (8,9 - 27,3) RT-PCR+NS1 : 93,1 (84,5 - 97,7) RT-PCR+NS1+IgM : 93,1 (84,5 - 97,7) RT-PCR+IgM : 91,7 (82,7 - 96,9) NS1+IgM : 59,7 (47,5 - 71,1)	RT-PCR : 95,6 (89,0 - 98,8) NS1 : 100 (96,0 - 100,0) IgM : 87,8 (79,2 - 93,7) RT-PCR+NS1 : 95,6 (89,0 - 98,8) RT-PCR+NS1+IgM : 83,3 (74,0 - 90,4) RT-PCR+IgM : 83,3 (74,0 - 90,4) NS1+IgM : 87,8 (79,2 - 93,7)

Annexe 9. Modalités du diagnostic biologique selon le plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole

Selon le plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole (10) :

« Les modalités du diagnostic biologique sont équivalentes pour les deux maladies et sont dictées par la cinétique de la virémie et des anticorps viraux (...). Le diagnostic biologique fait appel à la détection du virus, de son génome ou dans le cas de la dengue d'antigènes viraux, constituant un diagnostic direct, réservé au stade précoce de la maladie, en pratique la première semaine après le début des symptômes. La détection d'anticorps IgG et IgM, ou diagnostic indirect, est privilégiée à partir du 5^{ème} jour¹³. Entre J5 et J7, les tests directs et indirects peuvent contribuer au diagnostic et doivent y être pratiqués de concert (...). L'isolement viral est une technique réservée au centre national de référence (CNR).

Dans les cinq premiers jours de la maladie, le diagnostic direct de dengue peut être réalisé en première intention dans le cas d'une primo-infection par la mise en évidence de l'antigène NS1 pour assurer les diagnostics dans les zones d'épidémie avérée. Dans tous les cas, les résultats négatifs devront continuer à être investigués par un test d'amplification génique (RT-PCR en temps réel).

Ce test n'est pas indiqué en métropole dans les zones dans lesquelles Aedes est présent (département de niveau 1 ou plus) ou en cas de signe de gravité (recommandation HCSP).

Dans les zones sans implantation d'Aedes, ce test est réservé aux patients provenant d'une zone d'épidémie avérée (recommandation HCSP). Dans tous les cas, un test anti-NS1 négatif isolé ne peut exclure le diagnostic et doit être complété par une sérologie et/ou PCR.

L'indication de ces analyses dépend du moment où le prélèvement est réalisé par rapport à la date de début des signes :

- jusqu'à 5 jours après le début des signes (J5) : test direct RT-PCR ;
- entre J5 et J7 : test direct RT-PCR et sérologie ;
- après J7 : sérodiagnostic uniquement (IgG et IgM). Il est impératif de rappeler aux prescripteurs (cliniciens et biologistes) la nécessité de réaliser une 2^{ème} sérologie de confirmation au plus tôt 10 jours après le premier prélèvement.

Circuits des prélèvements pour la confirmation biologique :

- dans les départements en niveau 0 ou en dehors de la période d'activité du vecteur, le cas suspect peut être prélevé dans tout laboratoire de biologie médicale (LBM) ou laboratoire hospitalier pour la sérologie et la RT-PCR. Ces laboratoires s'assurent ensuite de l'acheminement des prélèvements vers différents laboratoires réalisant le diagnostic sérologique et vers le CNR pour la réalisation de la RT-PCR, dans les plus brefs délais (...). Le CNR réalise également en seconde intention la confirmation des cas positifs de ces différents laboratoires ;
- dans les départements en niveau 1, le cas suspect peut être prélevé dans tout laboratoire de biologie médicale (LBM) ou laboratoire hospitalier pour la sérologie et la RT-PCR. Ces laboratoires s'assurent ensuite de l'acheminement des prélèvements au CNR dans les plus brefs délais (...). »

¹³ Une sérologie (IgG et IgM) est systématiquement réalisée sur le prélèvement initial afin d'établir un statut immunitaire de référence pour les analyses sérologiques de confirmation (mise en évidence de séroconversion ; titrage d'anticorps...) pratiquées sur un sérum tardif.

Annexe 10. Extrait de l'avis du HCSP relatif à la stratégie de diagnostic biologique de la dengue du 21 janvier 2011

Extrait de l'avis du HCSP relatif à la stratégie de diagnostic biologique de la dengue du 21 janvier 2011(17) :

« La place des différents tests biologiques pour le diagnostic de la dengue doit s'envisager dans une région géographique donnée en fonction de la situation épidémiologique, de l'état clinique des malades et de la disponibilité des tests. Les modalités de diagnostic présentées dans ces recommandations tiennent compte de ces éléments.

La mise à disposition de tests de diagnostic direct (RT-PCR et détection de la protéine NS1) amène à envisager le positionnement de ces tests dans le diagnostic précoce de la maladie.

Du fait des limites liées à la sensibilité des méthodes de détection de la protéine NS1, la pratique de la RT-PCR en première intention fait l'objet de recommandations larges.

Dans ce contexte, il faut envisager, dans certaines situations, de faire pratiquer ce test en métropole au niveau des laboratoires de biologie des hôpitaux (CHU et CHR) et des laboratoires de biologie médicale privés agréés.

En Guyane, il faut assurer une mise à disposition plus large de la technique de RT-PCR pour le diagnostic précoce de la dengue.

La pratique de ce test dans une stratégie diagnostique et non de surveillance épidémiologique doit faire envisager l'inscription de l'examen sur la liste des actes pris en charge par l'Assurance maladie. »

Dans son rapport d'évaluation (2), le HCSP récapitule la place possible des tests biologiques dans un tableau (les zones grisées correspondent aux situations dans lesquelles le test par RT-PCR est possible).

Tableau 23. Stratégies de dépistage dans l'intérêt de la surveillance*, selon le profil épidémiologique des zones du territoire français au 30/11/2010 (2)

Zones		Cas suspect autochtone (potentiellement virémique)	Rationnel	Cas suspect importé (potentiellement virémique)	Rationnel
Zone sans circulation virale autochtone établie (ex : Métropole)	Présence du vecteur, en période d'activité	Confirmer par tous les moyens disponibles et sérotyper si positif.	Détecter une émergence locale et guider la lutte anti-vectorielle	Confirmer tous les cas par tous les moyens disponibles. Sérotypage exhaustif sauf si provenance d'une zone épidémique déjà connue.	Guider la lutte anti-vectorielle pour prévenir une implantation locale
	Présence du vecteur, hors période d'activité ou absence de vecteur	Pas de confirmation nécessaire pour la santé publique	Pas de risque notable d'installation d'un cycle de transmission	Confirmer si retour d'une zone où la circulation/sérotype non documenté(e)s	Identifier la circulation ou les sérotypes circulants en zone visitée, si non documentés

Zones	Cas suspect autochtone (potentiellement virémique)	Rationnel	Cas suspect importé (potentiellement virémique)	Rationnel
Zone de circulation autochtone faible (ex : Océan Indien)	Confirmer et sérotyper par tous les moyens disponibles en début et fin d'épidémie. Si épidémie avérée : confirmation intermittente et tous cas graves ou particuliers.	Détecter une émergence locale et guider la lutte anti-vectorielle Identifier les sérotypes circulants et confirmer que les cas sévères, les décès et les formes atypiques sont dus à la dengue.	Confirmer tous les cas par tous les moyens disponibles en début et fin d'épidémie. Sérotypage exhaustif sauf si provenance d'une zone épidémique déjà connue. Si épidémie, voir CAT zone épidémique ci-dessous.	Guider la lutte anti-vectorielle pour prévenir une implantation locale
Zone endémo-épidémique (ex : départements français d'Amérique)	Confirmer et sérotyper par tous les moyens disponibles en début et fin d'épidémie les prélèvements adressés dans le cadre du réseau sentinelle. Si épidémie avérée : confirmation intermittente et tous cas graves ou particuliers.	Documenter le début, la fin de l'épidémie et certaines formes cliniques. Identifier les sérotypes circulants et confirmer que les cas sévères, les décès et les formes atypiques sont dus à la dengue.	Pas de confirmation nécessaire pour la santé publique	Identifier la circulation ou les sérotypes circulants en zone visitée, si non documentées

**Seuls les impératifs de santé publique sont mentionnés : les exigences de confirmation dans le cadre d'impératifs des patients ou des cliniciens ne sont pas abordées ici.*

Annexe 11. Caractéristiques et résultats des études de prévention de la dengue avec composante économique

Tableau 24. Caractéristiques des études de prévention de la dengue avec composante économique

Publication	Objectif et méthode	Résultats	Commentaires
Baly <i>et al.</i> , 2012 (48)	<p>Comparaison du coût de la dengue hors période épidémique (prévention) et pendant l'épidémie. Guantanamo, Cuba.</p> <p>Micro-costing et coût journalier à l'hôpital (hors coût immobilier), coûts 2006 convertis en US\$ (1 peso = 0,92US\$).</p> <p>Perspective tous financeurs</p> <p>Programme de prévention : surveillance entomologique, réduction de l'eau stagnante, traitement larvicide de l'eau stockée, aspersion locale de larvicide dans l'entourage des cas, éducation sanitaire, application de la loi anti-moustiques.</p> <p>Epidémie : renforcement du programme de prévention (fréquence plus importante), détection et suivi des individus fébriles à risque de dengue (hospitalisation et dosage des IgM à J6).</p>	<p>Période non épidémique : 2,76 US\$ par mois et par habitant, soit 0,7 % PIB mensuel.</p> <p>Coût communautaire (organisation locales et ménages) : 0,84 US\$ (0,44 US\$ et 0,41 US\$)</p> <p>Coût du système sanitaire (coût du contrôle entomologique, soins primaires et hôpital) : 1,92 US\$ (1,67 US\$, 0,25 US\$ et 0,00 US\$).</p> <p>Période épidémique : 6,05 US\$ par mois et par habitant, soit 1,5 % du PIB mensuel.</p> <p>Coût communautaire (organisation locales et ménages) : 2,48 US\$ (1,53 US\$ et 0,95 US\$)</p> <p>Coût du système sanitaire (coût du programme de contrôle entomologique, soins primaires et hôpital) : 3,57 US\$ (1,88 US\$, 1,16 et 0,53 US\$).</p>	<p>L'épidémie génère essentiellement du surcoût lié au temps passé à renforcer la suppression des gîtes larvaires et surveiller les premiers cas fébriles.</p> <p>Etude de bonne qualité, dont le périmètre large permet notamment de mesurer le reste à charge pour les ménages (y compris la valorisation du temps passé).</p> <p>Compte-tenu de l'organisation sanitaire locale, la transposition au contexte français est limitée.</p>

Publication	Objectif et méthode	Résultats	Commentaires
Luz <i>et al.</i> , 2011 (49)	<p>Evaluation de l'impact de la maladie et de l'efficacité de différentes stratégies de prévention.</p> <p>Rio de Janeiro, Brésil.</p> <p>Modèle de transmission de la dengue (moustiques et humains) simulant l'effet de différentes mesures de prévention appliquées pendant 5 ans après une phase d'installation de l'épidémie (absence de contrôle, contrôle des larves, contrôle des adultes x efficacités de 30 %, 60 % et 90 % x 1 à 6 applications soit 43 stratégies) sur les années de vie ajustées par l'incapacité (DALYs).</p> <p>Perspective tous financeurs.</p> <p>Horizon temporel à 20 ans.</p> <p>Coûts directs et indirects, US\$2009.</p> <p>Actualisation des coûts et des résultats à 3 %/an.</p> <p>Analyse de sensibilité probabiliste et analyse en seuil.</p>	<p>Trois stratégies ne sont pas dominées : l'absence de contrôle, deux applications de contrôle des adultes à haute efficacité (615 US\$/DALY sauvée) et six applications de contrôle des adultes à haute efficacité (1 267 US\$/DALY sauvée).</p> <p>L'application de 6 traitements de contrôle des adultes est coût-efficace selon le critère OMS (ratio inférieur à 3 fois le PIB par tête).</p> <p>L'analyse de sensibilité ne remet pas en cause la validité des résultats.</p>	<p>Le contrôle larvaire continu peut être contre-productif (résistance aux traitements à moyen terme) ; le contrôle des adultes semble plus efficient.</p> <p>Etude de très bonne qualité.</p> <p>Les coûts médicaux (et transports) sont détaillés avec précision, mais les coûts des mesures de prévention sont issus d'une autre publication (Suaya 2007) et ne sont pas détaillés selon la nature des coûts.</p> <p>Certaines stratégies n'ont pas été évaluées (destruction des gîtes larvaires, usage de moustiquaires imprégnées notamment).</p> <p>L'étude se situe dans un contexte endémique et l'extrapolation de ses résultats dans un contexte non endémique n'est pas validée.</p>
Vasquez-Prokopec <i>et al.</i> , 2010 (50)	<p>Evaluation de l'impact économique de différents scénarios de réaction à une épidémie de dengue.</p> <p>Queensland, Australie</p> <p>Modèle de transmission de la dengue (humains) fondé sur les épidémies de 2003 et 2009 en Australie.</p> <p>Réaction aux contrôles des vecteurs à 2, 4, 6 ou 8 semaines en référence à l'absence de contrôle.</p> <p>Coûts pris en compte : contrôle des vecteurs (lutte contre les insectes à proximité d'un cas, en continu dans le cas d'une réponse rapide), diagnostic clinique et tests biologiques, jours de travail perdus.</p> <p>Coûts australiens convertis en US\$2009 (taux de change moyen annuel et inflation selon le PIB).</p>	<p>Selon les auteurs, le délai de réaction à 6-8 semaines plutôt qu'à 2 semaines pendant les épidémies de respectivement 2003 et 2009 aurait multiplié le coût de l'épidémie par respectivement 86 et 346, dépassant largement le coût d'une surveillance continue hors épidémie.</p>	<p>L'étude évalue l'impact du délai de réaction à l'identification de vecteurs infectés, en fonction du maintien ou de la suppression d'un contrôle continu des vecteurs. Les auteurs mettent l'accent sur la nécessité de surveiller l'infection des vecteurs en dehors des épidémies.</p> <p>Les coûts pris en compte selon les stratégies, et notamment le coût du contrôle des vecteurs, ne sont pas très clairement indiqués.</p> <p>Le type de réaction mise en œuvre lors d'une épidémie et les modalités de contrôle des vecteurs infectés hors épidémie ne sont pas suffisamment décrits.</p>

Publication	Objectif et méthode	Résultats	Commentaires
Suaya <i>et al.</i> , 2007 (51)	<p>Evaluation de l'efficacité de mesures de contrôle vectoriel de la dengue.</p> <p>Phnom Penh et Kandal, Cambodge (vs reste du pays).</p> <p>Etude comparative observationnelle.</p> <p>Intervention : ajout de campagnes annuelles de traitement larvicide de réserves d'eau domestiques de 2001 à 2005 vs activités de contrôle des vecteurs habituelles (suppression des petits réservoirs d'eau, aspersion d'insecticide à proximité des cas de dengue).</p> <p>Evaluation des coûts des campagnes et des conséquences (cas de dengue, décès et DALYs évités, coûts engendrés ou évités pour le secteur public et les ménages) avec et sans intervention (estimation à partir du recueil du nombre de cas pendant l'étude et les 5 années précédentes dans les deux régions).</p> <p>Perspective du secteur public et tous financeurs. US\$2005.</p>	<p>La mise en place des campagnes est associée à une réduction de moitié du nombre de cas constatés par rapport au nombre de cas attendus en l'absence de campagnes, soit 997,1 DALYs.</p> <p>79 % des DALYs évités proviennent des cas fatals évités (le plus souvent, chez des enfants).</p> <p>Coût annuel moyen des campagnes : 567 800 US\$</p> <p>Coût annuel moyen évité : 530 663 US\$ (dont 52 % au bénéfice des ménages, essentiellement lié au reste à charge des soins).</p> <p>Dans la perspective du secteur public, les coûts évités représentent 45 % du coût des campagnes.</p> <p>Le coût net pour le secteur public et la société est respectivement de 312 214 US\$ et 37 137 US\$.</p> <p>Le coût/DALY sauvé pour le secteur public et la société est respectivement de 313 US\$ et 37 US\$.</p> <p>Les campagnes sont fortement coût-efficace selon le critère de la Banque Mondiale 2005 (ratio inférieur à la moitié du PNB par tête).</p> <p>Les conclusions ne sont pas remises en cause par l'analyse de sensibilité (sur les hôpitaux rattachés à la région considérée).</p>	<p>Une attention particulière est portée au reste à charge des dépenses de santé pour les ménages.</p> <p>Les limites de l'étude tiennent à l'imparfaite juxtaposition des zones géographiques dans lesquelles les campagnes ont été menées et les cas de dengue observés et l'absence de contrôle strict d'autres facteurs pouvant intervenir dans le résultat observé.</p> <p>L'étude porte purement sur la prévention primaire, indépendamment du contexte épidémique, ce qui limite la portée de l'étude sur l'évaluation en cours.</p>

DALYs : disability-adjusted life years ; PIB : produit intérieur brut ; PNB : produit national brut.

Annexe 12. Niveaux de risque du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue

Ministère du travail, de l'emploi et de la santé, 2012 (10)

- Niveau *albopictus* 0 :
 - 0a, absence d'*Aedes albopictus*,
 - 0b, présence contrôlée (observation d'introduction suivie de traitement puis d'une élimination ou d'une non-prolifération du moustique).
- Niveau *albopictus* 1 :
 - *Aedes albopictus* implanté et actif.
- Niveau *albopictus* 2 :
 - *Aedes albopictus* implanté et actif et présence d'un cas humain autochtone confirmé de transmission vectorielle de chikungunya ou de dengue.
- Niveau *albopictus* 3 :
 - *Aedes albopictus* implanté et actif et présence d'un foyer de cas humains autochtones (définition de foyer : au moins deux cas groupés dans le temps et l'espace).
- Niveau *albopictus* 4 :
 - *Aedes albopictus* implanté et actif et présence de plusieurs foyers de cas humains autochtones (foyers distincts sans lien épidémiologique ni géographique entre eux).
- Niveau *albopictus* 5 :
 - *Aedes albopictus* implanté et actif et épidémie,
 - 5 a, répartition diffuse de cas humains autochtones au-delà des foyers déjà individualisés,
 - 5 b, épidémie sur une zone élargie avec un taux d'attaque élevé qui dépasse les capacités de surveillance épidémiologique et entomologique mises en place pour les niveaux antérieurs et nécessite une adaptation des modalités de surveillance et d'action.

Annexe 13. Questionnaire envoyé au groupe de travail à distance

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

QUESTIONNAIRE SUR L'EVALUATION DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DIRECT PRECOCE DE LA DENGUE

A renvoyer au plus tard le 19 Août 2012 :

Par mail	a.pacull@has-sante.fr et has.seap.secretariat@has-sante.fr
----------	--

NOM _____

PRENOM _____

SPECIALITE _____

Votre participation à ce groupe de travail implique la publication de votre nom comme membre du GT ayant apporté des éléments repris dans un compte-rendu validé par les membres de GT.

En répondant aux questions suivantes, nous vous serions reconnaissants de bien vouloir vous positionner sur :

- la lisibilité et le contenu scientifique du rapport d'évaluation ;
- l'intérêt de la réalisation de la RT-PCR dans le diagnostic précoce de la dengue.

Nous vous demandons de bien vouloir argumenter vos réponses.

Le questionnaire est à remplir sous format Word. Pour cocher les cases, il vous suffit de double cliquer dessus et de cocher pour l'item « valeur par défaut » : « case activée ».

En complément du questionnaire rempli, vous êtes également libre d'annoter le pré-rapport en suivi de modification directement dans le document Word.

Nous vous remercions de votre collaboration.

Le contexte de cette évaluation est le diagnostic biologique de la dengue à réaliser en situation « réelle » en France (métropolitaine ou outre-mer) de prise en charge médicale d'un patient suspecté de dengue (il ne s'agit donc pas de techniques à réaliser dans le cadre de recherches, ni en situation idéale). C'est pour cette raison que votre avis d'experts de terrain est important.

Il peut arriver que vous ne puissiez pas répondre à l'intégralité des questions. En effet, le groupe de travail contient des experts avec des compétences variées : des médecins cliniciens, des médecins de santé publique, des biologistes, un économiste. Certaines questions sont donc plus à destination des cliniciens, d'autres plus à destination des biologistes.

Lorsque vous remplirez le questionnaire, n'hésitez pas à nous contacter si vous avez des interrogations.

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

LISIBILITE ET CONTENU SCIENTIFIQUE DU RAPPORT D'EVALUATION

- 1. Avez-vous des commentaires sur la lisibilité et le contenu scientifique du rapport d'évaluation ?**

.....
.....
.....
.....

- 2. Estimez-vous que le rapport ci-joint reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quelle est la littérature manquante.**

.....
.....
.....
.....

- 3. Avez-vous d'autres commentaires généraux ?**

.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

CONTEXTE

Le contexte du rapport d'évaluation est une synthèse concise des différents éléments rentrant en compte pour le sujet afin de permettre au lecteur d'y trouver les éléments nécessaires pour la compréhension du sujet de l'évaluation.

Avez-vous des commentaires sur la description du contexte du rapport d'évaluation ?

.....
.....
.....

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités dans ce rapport ? Si oui, précisez.

.....
.....
.....
.....

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quels sont les articles manquants.

.....
.....
.....
.....

Que nous conseillez-vous pour améliorer cette partie du rapport ?

.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DES DIFFERENTS TESTS BIOLOGIQUES

I. TEST RT-PCR : PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES (SE, SP)

D'après les données de la littérature identifiées et analysées, la sensibilité de la RT-PCR (toutes techniques confondues) varie de 92,5 à 100 % par rapport à l'isolement viral, de 88,9 à 100% par rapport à la séroconversion, et de 89,5 % par rapport à l'isolement viral et/ou séroconversion). La spécificité varie de 95,6 à 100 %.

I.1 Avez-vous des commentaires sur ces conclusions de l'analyse de la littérature concernant la sensibilité du test RT-PCR pour le diagnostic direct précoce de la dengue ?

.....
.....
.....

I.2 Avez-vous des commentaires sur ces conclusions de l'analyse de la littérature concernant la spécificité du test RT-PCR pour le diagnostic direct précoce de la dengue ?

.....
.....
.....
.....

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités dans ce rapport ? Si oui, précisez.

.....
.....
.....
.....

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quels sont les articles manquants.

.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

Que nous conseillez-vous pour améliorer cette partie du rapport ?

.....

I.3 Etes-vous d'accord avec les affirmations suivantes ? :

« Le test RT-PCR présente une sensibilité et une spécificité suffisantes pour être utilisé en pratique clinique courante ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

I.4 Afin de déterminer l'indication du test RT-PCR dans le diagnostic direct précoce de la dengue, la période de virémie étant décrite comme durant entre 5 et 7 jours (après J5, la sensibilité de la RT-PCR diminue puis chute après J7). êtes-vous d'accord avec les affirmations suivantes ? :

« Le test RT-PCR est un test indiqué chez des patients suspectés de dengue et qui présentent de la fièvre depuis moins de 5 jours ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

« Le test RT-PCR est un test indiqué chez des patients suspectés de dengue et qui présentent de la fièvre depuis moins de 7 jours ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

« Le test RT-PCR est un test indiqué chez des patients suspectés de dengue et qui présentent de la fièvre depuis moins de 5 jours ; et associé à un test sérologique pour les patients ayant de la fièvre se présentant entre le 5^{ème} et le 7^{ème} jour ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total					Accord total			

.....

.....

.....

I.5 D'après votre expérience, définir précisément la virémie comme allant de J0 et J5 et distinguer J5 de J7 ne sont-elles pas des notions théoriques pour une pratique clinique ?

.....

.....

.....

.....

I.6 D'après votre expérience, en pratique, les patients arrivent-ils à dater précisément le jour d'apparition de la fièvre (J0)

.....

.....

.....

I.7 La virémie ne peut-elle pas être variable d'un individu à l'autre et s'étendre au delà de J5 ?

.....

.....

.....

.....

I.8 Êtes-vous d'accord avec les affirmations suivantes ? :

« La RT-PCR présente des performances diagnostique supérieure au test de détection de l'antigène NS1 dans le diagnostic précoce de la dengue.

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total					Accord total			

.....
.....
.....

I.9 Avez-vous d'autres remarques au sujet de l'efficacité diagnostique du test RT-PCR ?

.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

II. COMPARAISON DES DIFFERENTES METHODES DE RT-PCR

Les recommandations et les études analysées indiquent avec un faible niveau de preuve que la méthode de référence resterait à ce jour la RT-PCR conventionnelle.

II.1 Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant la comparaison des différentes méthodes de RT-PCR (RT-PCR conventionnelle, en temps réel, multiplexe) ?

.....
.....
.....

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités dans ce rapport ? Si oui, précisez.

.....
.....
.....
.....

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes ? Si non, précisez quels sont les articles manquants.

.....
.....
.....
.....

Que nous conseillez-vous pour améliorer cette partie du rapport?

.....
.....
.....
.....

II.2 Etes-vous d'accord avec les affirmations suivantes ? :

« Le test RT-PCR présente une sensibilité suffisante pour être utilisé en pratique clinique courante ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total					Accord total			

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

.....

« Le test RT-PCR présente une spécificité suffisante pour être utilisé en pratique clinique courante ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total					Accord total			

.....

« Le test RT-PCR présente des performances diagnostiques (sensibilité et spécificité) suffisantes pour être utilisé en pratique clinique courante ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total					Accord total			

.....

II.3 D'après votre expérience, y-a-t-il une méthode *in fine* à privilégier pour une pratique quotidienne en termes d'efficacité diagnostique, de facilité d'utilisation, de risque de contamination, de rapidité, ... ?

Argumentez votre réponse

.....

II.4 Quelles préconisations techniques les biologistes pourraient-ils faire pour que la réalisation de la PCR se déroule correctement ?

Argumentez votre réponse

.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

II.5 Etes-vous d'accord avec l'affirmation suivante ? :

« La méthode RT-PCR conventionnelle basée sur la technique de Lanciotti est la méthode de référence (gold standard à utiliser en pratique courante) dans le diagnostic précoce de la dengue ? ».

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total							Accord total	

.....

Si oui, pour quelle raison ?

.....

II.6 Estimez-vous que toutes les méthodes de RT-PCR sont applicable dans les conditions de votre exercice (réactifs, équipement, aménagement, personnel, éloignement du laboratoire, etc.)? Argumentez votre réponse.

.....

II.7 Estimez-vous que toutes les méthodes de RT-PCR multiplexe dengue et chikungunya sont suffisamment efficaces (sensibilité et spécificité), et validées ? Argumentez votre réponse.

.....

II.8 Estimez-vous que les méthodes de RT-PCR multiplexe dengue et chikungunya ont un intérêt dans les conditions de votre exercice) ? Argumentez votre réponse.

.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

II.9 D'après votre expérience, existe-t-il un intérêt clinique à connaître le sérotype du virus de la dengue lors d'une infection primaire?

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total					Accord total			

.....
.....
.....

Si oui, pour quelle raison ?

.....
.....
.....
.....

II.10 D'après votre expérience, existe-t-il un intérêt clinique à connaître le sérotype du virus de la dengue lors d'une infection secondaire?

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total					Accord total			

.....
.....
.....

Si oui, pour quelle raison ?

.....
.....
.....
.....

II.11 Avez-vous d'autres remarques au sujet des différentes méthodes de RT-PCR ?

.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

III. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE : ALGORITHME DIAGNOSTIQUE

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

Compte-tenu de ses performances inférieures au test par RT-PCR, le test NS1 ne devrait être utilisé que lorsque le test de RT-PCR ne peut être réalisé en cas de contexte épidémique et lorsque l'état du patient le permet (patient non hospitalisé, forme non compliquée).

III.1 Avez-vous des commentaires sur ces conclusions de l'analyse de la littérature concernant l'algorithme diagnostique de la dengue ?

.....
.....
.....

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités dans ce rapport? Si oui précisez.

.....
.....
.....
.....

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quels sont les articles manquants.

.....
.....
.....
.....

Que nous conseillez-vous pour améliorer cette partie du rapport pour cette partie?

.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

III.2 Êtes-vous d'accord avec les affirmations suivantes ? :

« Le test de RT-PCR est le test de première intention dans le diagnostic direct précoce de la dengue ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

.....

.....

« Le test de détection de l'antigène NS1 peut avoir un intérêt dans certaines situations du fait de ses conditions de réalisation plus simples. Si oui, quelles sont ces situations.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

.....

.....

« Le test de détection de l'antigène NS1 peut avoir un intérêt dans certaines situations du fait de sa plus grande accessibilité par rapport à la RT-PCR». Si oui, quelles sont ces situations.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

.....

.....

« Le test de détection de l'antigène NS1 est une alternative au test de RT-PCR lorsque celui-ci n'est pas disponible en pratique». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

*D'après votre expérience, existe-t-il d'autres cas qui justifient la réalisation du test NS1 ?
Argumentez votre réponse*

.....
.....
.....

«Un test de détection de l'antigène NS1 négatif doit toujours être confirmé par un autre test, la détection des IgG par exemple. L'autre test pourrait-il être une RT-PCR ? ». Argumentez votre réponse.

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....
.....
.....

D'après votre expérience, existe-t-il des cas où il serait utile de confirmer un test NS1 négatif par un RT-PCR ? Argumentez votre réponse

.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

IV. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE EN FONCTION DES SITUATIONS EPIDEMIOLOGIQUES

Concernant les différentes situations épidémiques, les cas suivants sont proposés par le HCSP (seul document identifiés indiquant la stratégie diagnostique en fonction des situations épidémiologiques) (Haut Conseil de la santé publique 2011 69) :

- En France métropolitaine,

Le diagnostic biologique direct de la dengue repose sur la pratique d'emblée de la RT-PCR., Le test de recherche de l'Ag NS1 est recommandé dans le cas d'une épidémie avérée ou dans les cas cliniquement suspects importés d'une zone d'épidémie avérée.

- Dans les départements français d'Amérique et dans la région Pacifique Sud

En Martinique et en Guadeloupe, et dans l'Océan indien, la RT-PCR est le test diagnostique direct de première intention. En période épidémique, le test de recherche de l'Ag NS1 est recommandé pour le diagnostic des formes simples. Pour les patients hospitalisés (signes d'alerte, formes sévères, comorbidités), la RT-PCR reste le test de référence.

En Guyane, la RT-PCR reste le test de référence mais l'absence de laboratoire en mesure d'effectuer un diagnostic direct par RT-PCR, en dehors du Centre national de référence de l'Institut Pasteur de Cayenne, amène à utiliser largement le test de recherche de l'Ag NS1 qui lui est réalisable en routine.

IV.1 Avez-vous des commentaires sur ces conclusions de l'analyse de la littérature concernant les méthodes diagnostiques en fonction des différentes situations épidémiologiques ?

.....
.....
.....

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités dans ce rapport? Si oui précisez.

.....
.....
.....
.....

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quels sont les articles manquants.

.....
.....
.....
.....

Que nous conseillez-vous pour améliorer cette partie du rapport pour cette partie?

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

.....
.....
.....

IV.2 D'après votre expérience, lors d'une épidémie avérée, les critères cliniques et épidémiologiques ne suffiraient-ils pas au diagnostic (diagnostic probable) d'une forme simple ou la confirmation par méthode biologique est nécessaire ? Argumentez-votre réponse

.....
.....
.....

IV.3 Si le diagnostic biologique est nécessaire lors d'une épidémie avérée, quel est le test à réaliser pour les patients présentant une forme simple non compliquée ? La PCR ou le test NS1 ? Argumentez-votre réponse

IV.4 Si le diagnostic biologique est nécessaire lors d'une épidémie avérée, quel est le test à réaliser pour les patients hospitalisés présentant une forme compliquée ? La PCR ou le test NS1 ? Argumentez-votre réponse

En cas d'épidémie, le HCSP précise que le test NS1 peut être réalisé pour les formes simples et la RT-PCR conservée pour des formes compliquées. Quelles sont vos commentaires sur cette distinction ? Argumentez-votre réponse

Cette distinction pourrait-elle être faite hors contexte d'épidémie ? Argumentez-votre réponse

.....
.....
.....

IV.5 Êtes-vous d'accord avec les affirmations suivantes ?

- « *Quelle que soit la situation épidémique, au final, le test de RT-PCR reste le test de première intention lorsqu'il est disponible. Le test NS1 est une alternative lorsque le test RT-PCR n'est pas disponible* »

.....

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total					Accord total			

.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

.....
- « Le test NS1 est une alternative lorsque le test RT-PCR n'est pas disponible »
.....

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

V. PLACE DANS LA STRATEGIE THERAPEUTIQUE ET SANITAIRE

Le diagnostic précoce de la dengue permet :

- l'arrêt du bilan diagnostique de la dengue ;
- une meilleure prise en charge thérapeutique : traitement et surveillance des patients ;
- la mise en place de mesures sanitaires adaptées.

V.1 Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant la place du test RT-PCR dans la stratégie thérapeutique et sanitaire ?

.....

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités ? Si oui précisez.

.....

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quels sont les articles manquants.

.....

Que nous conseillez-vous pour améliorer cette partie du rapport ?

.....

V.2 Êtes-vous d'accord avec l'affirmation suivante ?

« Le test de RT-PCR permet un diagnostic précoce de la dengue et ainsi en cas de résultat positif : un arrêt des recherches diagnostiques d'autres étiologies des symptômes

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

.....
.....
.....

« Le test de RT-PCR permet un diagnostic précoce de la dengue et ainsi en cas de résultat positif une meilleure prise en charge thérapeutique : traitement et surveillance des patients Si oui, les détailler ?

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
----------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------

Désaccord total

Accord total

.....
.....
.....

« Le test de RT-PCR permet un diagnostic précoce de la dengue et ainsi en cas de résultat positif la mise en place de mesures sanitaires adaptées. »

.....

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
----------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------

Désaccord total

Accord total

.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

VI. POPULATION CIBLE

La population cible (nombre possible de patients pouvant bénéficier du test par an) du test de RT-PCR est évaluée entre 10 700 (nombre de cas suspects de dengue en Guyane entre janvier 2009 et mai 2009) et 27 800 (nombre de cas suspects de dengue en Martinique et en Guadeloupe entre septembre 2007 et janvier 2008).

Toutefois, cette évaluation reste approximative et ces chiffres sont à modérer car :

- les épidémies peuvent survenir en même temps ;
- tous les cas suspects de dengue ne font pas l'objet d'une détection par RT-PCR mais uniquement les patients présentant des signes cliniques depuis 5 jours maximum ;
- d'autres territoires français sont concernés par la dengue (Nouvelle Calédonie, Polynésie, Réunion et Mayotte, et les départements du sud de la France).

VI.1 Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant la population cible susceptible de bénéficier d'un test RT-PCR dans le diagnostic précoce de la dengue ?

.....
.....
.....

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités ? Si oui précisez.

.....
.....
.....
.....

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes ? Si non, précisez quels sont les articles manquants.

.....
.....
.....
.....

Que nous conseillez-vous pour améliorer cette partie du rapport ?

.....
.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

VI.2 Êtes-vous d'accord avec l'affirmation suivante ?

« La population cible du test de RT-PCR peut être estimée entre 11 000 (nombre de cas suspects de dengue en Guyane entre janvier 2009 et mai 2009) et 27 800 (nombre de cas suspects de dengue en Martinique et en Guadeloupe entre septembre 2007 et janvier 2008) »

Cotation	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	4 <input type="checkbox"/>	5 <input type="checkbox"/>	6 <input type="checkbox"/>	7 <input type="checkbox"/>	8 <input type="checkbox"/>	9 <input type="checkbox"/>
	Désaccord total				Accord total				

.....

.....

.....

VI.3 D'après-vous, la population cible peut-elle être évaluée à combien de patients (nombre de patients par an pouvant être susceptibles de bénéficier d'une RT-PCR pour le diagnostic précoce de la dengue ?

.....

.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

VII. CONDITIONS DE REALISATION

Concernant les impératifs pré-analytiques, les échantillons de sérum doivent être prélevés pendant la phase de virémie.

Le transport doit être réalisé à des températures adaptées dans un réfrigérateur et la conservation doit être réalisée entre 4 et 8 degrés pendant au plus 24 heures. Après 24 heures, les échantillons doivent être conservés congelés à -70 degrés ou grâce à du nitrogène liquide (la conservation même pour de courtes période à -20 degrés n'est pas recommandée).

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 expérimentés afin d'éviter tout problème de contamination.

En cas d'activité importante des CNR, il faudrait envisager de faire pratiquer ces tests au niveau des laboratoires de biologie des hôpitaux (CHU, CHR) en anticipant un transfert de technologie laboratoires de biologie médicale privés agréés.

VII.1 Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant les conditions de réalisation d'un test RT-PCR dans le diagnostic précoce de la dengue ?

.....
.....
.....
.....

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités ? Si oui précisez.

.....
.....
.....
.....

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quels sont les articles manquants.

.....
.....
.....
.....

Que nous conseillez-vous pour améliorer cette partie du rapport ?

.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

.....
.....
.....

VII.2 Quelles sont conditions de réalisation des étapes pré-analytiques indispensables à la bonne réalisation des tests PCR (prélèvement, transport, stockage, informations cliniques nécessaires) ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

VII.3 Quelles sont conditions des étapes analytiques indispensables à la bonne réalisation des tests PCR (équipement du laboratoire, matériel organisation particulière, temps de réalisation, qualification du personnel, assurance qualité) ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

VII.4 Quelles sont conditions d'assurance qualité indispensables à la bonne réalisation des tests PCR ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

VII.5 Estimez-vous que le test RT-PCR est applicable dans les conditions de votre exercice (réactifs, équipement, aménagement, personnel, éloignement du laboratoire, etc.)? Argumentez votre réponse.

.....
.....
.....
.....

Utilisez-vous le test PCR dans votre pratique?

.....
.....
.....
.....
.....

Avez-vous d'autres remarques au sujet du test PCR ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

VII.6 Concernant les étapes post-analytiques, quels paramètres doivent être précisés dans le compte-rendu destiné au clinicien (date du prélèvement, nom de la technique et du réactif, résultats qualitatifs ou quantitatifs, sérotype) ?

.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

VII.7 D'après votre expérience, existe-t-il des kits commerciaux de RT-PCR ?

Si oui, pourriez-vous préciser lesquels et avec quels automates ces kits fonctionnent ?

.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

VIII. ENJEUX ECONOMIQUES : IMPACT ATTENDU

VIII.1 Avez-vous des commentaires sur les conclusions de l'analyse de la littérature concernant l'impact attendu au niveau des enjeux économiques ?

.....
.....
.....

Existe-il des incohérences, des aspects oubliés ou insuffisamment traités ? Si oui précisez.

.....
.....
.....
.....

Estimez-vous que l'analyse présentée dans le rapport reflète les données de la littérature existantes? Si non, précisez quels sont les articles manquants ou redondants.

.....
.....
.....
.....

Que nous conseillez-vous pour améliorer la lisibilité du rapport pour cette partie?

.....
.....
.....
.....
.....

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE PRECOCE DE LA DENGUE PAR RT-PCR

IX. DIVERS

Souhaitez-vous exprimer d'autres commentaires qui n'auraient pas été sollicités à travers les divers chapitres du questionnaire ?

.....
.....
.....
.....

Merci de votre participation

Annexe 14. Listes des tableaux et figures

Tableau 1. Prise en charge par l'Assurance maladie.....	14
Tableau 2. Etudes analysées concernant les performances de la RT-PCR en comparaison à l'isolement viral et/ou au sérodiagnostic (séroconversion).....	20
Tableau 3. Etudes analysées concernant les performances du test NS1 en comparaison à la RT-PCR	22
Tableau 4. Méthodes des études comparants plusieurs techniques de RT-PCR à un test de référence (isolement viral, séroconversion, ou les deux)	24
Tableau 5. Méthodes des études comparants plusieurs protocoles de RT-PCR	24
Tableau 6. Présentation des études relatives à la stratégie diagnostique	26
Tableau 7. Composition du groupe de travail.....	27
Tableau 8. Sensibilité (Se) et spécificité (Spé) en % de la technique RT-PCR par rapport à l'isolement viral dans le diagnostic de la dengue.	30
Tableau 9. Sensibilité (Se) et spécificité (Spé) en % de la technique RT-PCR par rapport au sérodiagnostic (séroconversion (ou titre élevé d'IgG)) dans le diagnostic de la dengue.....	31
Tableau 10. Sensibilité (Se) et spécificité (Spé) en % de la technique RT-PCR par rapport au sérodiagnostic (séroconversion) ou à l'isolement viral dans le diagnostic de la dengue.....	32
Tableau 11. Sensibilité (Se) et spécificité (Spé) en % de la technique de détection de l'antigène NS1 par rapport à la RT-PCR dans le diagnostic de la dengue.....	33
Tableau 12. Comparaison de différentes méthodes de RT-PCR avec un comparateur de référence (isolement viral et/ou séroconversion).....	36
Tableau 13. Comparaison des différentes méthodes de RT-PCR.....	37
Caractéristiques des différents tests	
Tableau 14. Synthèse des caractéristiques des différents tests.	40
Tableau 15. Etudes associant plusieurs tests	41
Tableau 16. Volumes d'activité constatés, d'après les rapports d'activité du Centre national de référence pour les arbovirus.....	49
Tableau 17. Stratégie de recherche dans la base de données <i>Medline</i>	67
Tableau 18. Caractéristiques et résultats des études de qualité de vie de la dengue.....	73
Tableau 19. Etudes analysées concernant les performances de la RT-PCR en comparaison à l'isolement viral et/ou à la séroconversion.....	75
Tableau 20. Etudes analysées concernant les performances du test NS1 en comparaison à la RT-PCR	79
Tableau 21. Etudes analysées comparant les performances des différentes méthodes de RT-PCR	83
Tableau 22. Etudes analysées pour la stratégie diagnostique.....	87
Tableau 23. Stratégies de dépistage dans l'intérêt de la surveillance*, selon le profil épidémiologique des zones du territoire français au 30/11/2010 (2).....	90
Tableau 24. Caractéristiques des études de prévention de la dengue avec composante économique	92
Figure 1. Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection par le virus de la dengue. Cas d'une infection primaire	8
Figure 2. Cinétique du virus et des anticorps de type IgM et IgG au cours d'une infection par le virus de la dengue. Cas d'une infection secondaire.....	9
Figure 3. Place des différents tests de diagnostic biologique de la dengue	42

Annexe 15. Glossaire

Sensibilité. La sensibilité (Se) mesure la capacité d'un test à bien identifier les malades. Elle correspond à la probabilité d'avoir un test positif chez un malade. Elle est exprimée par la proportion de VP (vrais positifs) chez les malades, soit : $Se = VP/(VP + FN)$, avec FN : faux négatifs.

Spécificité. La spécificité (Sp) mesure la capacité d'un test à bien classer les patients indemnes de la maladie. Elle correspond à la probabilité d'avoir un test négatif chez un sujet sain. Elle est exprimée par la proportion de VN (vrais négatifs) chez les sujets sains, soit : $Sp = VN/(VN + FP)$, avec FP : faux positifs.

Valeur prédictive positive. La valeur prédictive positive (VPP) correspond à la probabilité d'être malade quand le test est positif. C'est la proportion de personnes réellement malades parmi celles qui ont un test positif, soit : $VPP = VP/(VP + FP) = Se \times p / [(Se \times p) + (1 - Sp) \times (1 - p)]$ avec p : prévalence de la maladie dans la population.

Valeur prédictive négative. La valeur prédictive négative (VPN) correspond à la probabilité d'être indemne de la maladie quand un test est négatif. C'est la proportion de personnes réellement saines parmi celles qui ont un test négatif, soit : $VPN = VN/(VN + FN) = Sp \times (1 - p) / [Sp \times (1 - p) + (1 - Se) \times p]$.

Références

1. Organisation mondiale de la Santé. Dengue et dengue hémorragique. Aide mémoire n°117 2012. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/fr/index.html>> [consulté en 11/2012].
2. Haut conseil de la santé publique. Stratégie de diagnostic biologique de la dengue. Paris: HCSP; 2011.
3. Haute Autorité de Santé. Détection de l'antigène NS1 de la dengue. Rapport d'évaluation technologique. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2009.
4. Simmons CP, Farrar JJ, Nguyen V, Wills B. Dengue. *N Engl J Med* 2012;366(15):1423-32.
5. Desprès P. Sur le risque de propagation de la dengue et du chikungunya en Europe du Sud. *Feuillet de Biologie* 2012;LIII(304):39-51.
6. Ministère chargé de la santé, Institut national de prévention et d'éducation pour la santé. État des connaissances mai 2011. Dengue et chikungunya. Point sur les connaissances et la conduite à tenir. Paris: DGS; 2011.
7. World Health Organization. Dengue. Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: WHO; 2009.
8. Dengue. Points sur les connaissances 2012. <<http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Dengue/Points-sur-les-connaissances>> [consulté en 11/2012].
9. Institut de veille sanitaire. Dengue - Monde. Bilan épidémiologique (bilan à fin 2011 - mise à jour juin 2012) 2012. <<http://www.invs.sante.fr/fr/Publications-et-outils/Points-epidemiologiques/Tous-les-numeros/International/Bilan-epidemiologique-Dengue-Monde-Juin-2012>> .
10. Ministère du travail de l'emploi et de la santé. Guide relatif aux modalités de mise en œuvre du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole 2012. <http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/guide_modalite_mise_en_oeuvre_plan_anti_dissemination_chikungunya_et_dengue.pdf> [consulté en 05/2012].
11. Martelli CM, Nascimento NE, Suaya JA, Siqueira JB, Souza WV, Turchi MD, *et al.* Quality of life among adults with confirmed dengue in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2011;85(4):732-8.
12. Lum LC, Suaya JA, Tan LH, Sah BK, Shepard DS. Quality of life of dengue patients. *Am J Trop Med Hyg* 2008;78(6):862-7.
13. Institut de veille sanitaire. Maladies à déclaration obligatoire. Dengue : aide-mémoire. *J Pédiatr Puériculture* 2010;23:366-8.
14. World Health Organization. Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests. *Diagnostics Evaluation Series n°3*. Geneva: WHO; 2009. <<http://apps.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/diagnostics-evaluation-3/pdf/diagnostics-evaluation-3.pdf>>
15. Ameziane N, Bogard M, Lamoril J. Principes de biologie moléculaire en biologie clinique. Paris: Elsevier; 2005.
16. Ministry of Health Malaysia. Management of dengue infection in adults. Putrajaya:

MHM; 2010.

www.moh.gov.my/attachments/5502

17. Haut conseil de la santé publique. Avis relatif à la stratégie biologique de la dengue. Paris: HCSP; 2011.

18. Ministère du travail de l'emploi et de la santé, Direction générale de la santé, Sous-direction prévention des risques infectieux. Instruction n°DGS/RI1-3/2012/168 du 23 avril 2012 mettant à jour le guide relatif aux modalités de mise en œuvre du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole 2012. <http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/circulaire_230412_guide_mise_en_oeuvre_plan_anti_dissemination_chikungunya_et_dengue.pdf> [consulté en 05/2012].

19. Institut de veille sanitaire, Cellule de l'INVS région Antilles Guyane, Institut Pasteur de la Guyane, Cassadou, Gustave, Fauré, *et al.* Programme de surveillance, d'alerte et de gestion des épidémies de Dengue en Guadeloupe continentale et îles proches (PSAGE dengue). Gourbeyre: IVS; 2007.

20. Institut de veille sanitaire, Cellule de l'INVS région Antilles Guyane, Conseil général de la Martinique, Agence régionale de l'hospitalisation Martinique, Chaud P, Yébakima A. Programme de surveillance d'alerte et de gestion des épidémies de dengue (PSAGE dengue) en Martinique. Fort-de-France: IVS; 2007. http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=3518

21. Callahan JD, Wu SJ, Dion-Schultz A, Mangold BE, Peruski LF, Watts DM, *et al.* Development and evaluation of serotype- and group-specific fluorogenic reverse transcriptase PCR (TaqMan) assays for dengue virus. *J Clin Microbiol* 2001;39(11):4119-24.

22. Kong YY, Thay CH, Tin TC, Devi S. Rapid detection, serotyping and quantitation of dengue viruses by TaqMan real-time one-step RT-PCR. *J Virol Methods* 2006;138(1-2):123-30.

23. Yong YK, Thayan R, Chong HT, Tan CT, Sekaran SD. Rapid detection and serotyping of dengue virus by multiplex RT-PCR and real-time SYBR green RT-PCR. *Singapore Med J* 2007;48(7):662-8.

24. Pok KY, Lai YL, Sng J, Ng LC. Evaluation of nonstructural 1 antigen assays for the diagnosis and surveillance of dengue in Singapore. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010;10(10):1009-16.

25. Lai YL, Chung YK, Tan HC, Yap HF, Yap G, Ooi EE, *et al.* Cost-effective real-time reverse transcriptase PCR (RT-PCR) to screen for Dengue virus followed by rapid single-tube multiplex RT-PCR for serotyping of the virus. *J Clin Microbiol* 2007;45(3):935-41.

26. Saxena P, Dash PK, Santhosh SR, Shrivastava A, Parida M, Rao PL. Development and evaluation of one step single tube multiplex RT-PCR for rapid detection and typing of dengue viruses. *Virology* 2008;5:20.

27. Wu SJ, Pal S, Ekanayake S, Greenwald D, Lara S, Raviprakash K, *et al.* A dry-format field-deployable quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for diagnosis of dengue infections. *Am J Trop Med Hyg* 2008;79(4):505-10.

28. Watthanaworawit W, Turner P, Turner CL, Tanganuchitcharnchai A, Jarman RG, Blacksell SD, *et al.* A prospective evaluation of diagnostic methodologies for the acute diagnosis of dengue virus infection on the Thailand-Myanmar border. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2011;105(1):32-7.

29. Fry SR, Meyer M, Semple MG, Simmons CP, Sekaran SD, Huang JX, *et al.* The diagnostic sensitivity of dengue rapid test assays is significantly enhanced by using a combined antigen and antibody testing approach. *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5(6):e1199.
30. Guzman MG, Jaenisch T, Gaczkowski R, Ty Hang V, Sekaran SD, Kroeger A, *et al.* Multi-country evaluation of the sensitivity and specificity of two commercially-available NS1 ELISA assays for dengue diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis* 2010;4(8).
31. Najjioullah F, Combet E, Paturel L, Martial J, Koulmann L, Thomas L, *et al.* Prospective evaluation of nonstructural 1 enzyme-linked immunosorbent assay and rapid immunochromatographic tests to detect dengue virus in patients with acute febrile illness. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;69(2):172-8.
32. Tontulawat P, Pongsiri P, Thongmee C, Theamboonlers A, Kamolvarin N, Poovorawan Y. Evaluation of rapid immunochromatographic NS1 test, anti-dengue IgM test, semi-nested PCR and IgM ELISA for detection of dengue virus. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011;42(3):570-8.
33. Tricou V, Vu HT, Quynh NV, Nguyen CV, Tran HT, Farrar J, *et al.* Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infect Dis* 2010;10:142.
34. Zainah S, Wahab AH, Mariam M, Fauziah MK, Khairul AH, Roslina I, *et al.* Performance of a commercial rapid dengue NS1 antigen immunochromatography test with reference to dengue NS1 antigen-capture ELISA. *J Virol Methods* 2009;155(2):157-60.
35. Raengsakulrach B, Nisalak A, Maneekarn N, Yenichitsomanus PT, Limsomwong C, Jairungsri A, *et al.* Comparison of four reverse transcription-polymerase chain reaction procedures for the detection of dengue virus in clinical specimens. *J Virol Methods* 2002;105(2):219-32.
36. Dash PK, Parida M, Santhosh SR, Saxena P, Srivastava A, Neeraja M, *et al.* Development and evaluation of a 1-step duplex reverse transcription polymerase chain reaction for differential diagnosis of chikungunya and dengue infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;62(1):52-7.
37. Mishra B, Sharma M, Pujhari SK, Ratho RK, Gopal DS, Kumar CN, *et al.* Utility of multiplex reverse transcriptase-polymerase chain reaction for diagnosis and serotypic characterization of dengue and chikungunya viruses in clinical samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;71(2):118-25.
38. Paudel D, Jarman R, Limkittikul K, Klungthong C, Chamnanchanunt S, Nisalak A, *et al.* Comparison of real-time SYBR green dengue assay with real-time taqman RT-PCR dengue assay and the conventional nested PCR for diagnosis of primary and secondary dengue infection. *N Am J Med Sci* 2011;3(10):478-85.
39. Pongsiri P, Praianantathavorn K, Theamboonlers A, Payungporn S, Poovorawan Y. Multiplex real-time RT-PCR for detecting chikungunya virus and dengue virus. *Asian Pac J Trop Med* 2012;5(5):342-6.
40. Duong V, Ly S, Lorn Try P, Tuiskunen A, Ong S, Chroeung N, *et al.* Clinical and virological factors influencing the performance of a NS1 antigen-capture assay and potential use as a marker of dengue disease severity. *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5(7):e1244.
41. Scottish Intercollegiate Guidelines Network. A guideline developer's handbook. SIGN 50. Edinburgh: SIGN; 2011.

<http://www.sign.ac.uk/pdf/sign50.pdf>

42. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992;30(3):545-51.

43. Leparç-Goffart I, Baragatti M, Temmam S, Tuiskunen A, Moureau G, Charrel R, *et al.* Development and validation of real-time one-step reverse transcription-PCR for the detection and typing of dengue viruses. *J Clin Virol* 2009;45(1):61-6.

44. Levi JE, Tateno AF, Machado AF, Ramalho DC, de Souza V, Guilarde AO, *et al.* Evaluation of a commercial real-time PCR kit for detection of dengue virus in samples collected during an outbreak in Goiania, Central Brazil, in 2005. *J Clin Microbiol* 2007;45(6):1893-7.

45. Chao DY, Davis BS, Chang GJ. Development of multiplex real-time reverse transcriptase PCR assays for detecting eight medically important flaviviruses in mosquitoes. *J Clin Microbiol* 2007;45(2):584-9.

46. Chien LJ, Liao TL, Shu PY, Huang JH, Gubler DJ, Chang GJ. Development of real-time reverse transcriptase PCR assays to detect and serotype dengue viruses. *J Clin Microbiol* 2006;44(4):1295-304.

47. Ito M, Takasaki T, Yamada K, Nerome R, Tajima S, Kurane I. Development and evaluation of fluorogenic TaqMan reverse transcriptase PCR assays for detection of dengue virus types 1 to 4. *J Clin Microbiol* 2004;42(12):5935-7.

48. Baly A, Toledo ME, Rodriguez K, Benitez JR, Rodriguez M, Boelaert M, *et al.* Costs of dengue prevention and incremental cost of dengue outbreak control in Guantanamo,

Cuba. *Trop Med Int Health* 2011;17(1):123-32.

49. Luz PM, Vanni T, Medlock J, Paltiel AD, Galvani AP. Dengue vector control strategies in an urban setting: an economic modelling assessment. *Lancet* 2011;377(9778):1673-80.

50. Vazquez-Prokopec GM, Chaves LF, Ritchie SA, Davis J, Kitron U. Unforeseen costs of cutting mosquito surveillance budgets. *PLoS Negl Trop Dis* 2010;4(10):e858.

51. Suaya JA, Shepard DS, Chang MS, Caram M, Hoyer S, Socheat D, *et al.* Cost-effectiveness of annual targeted larviciding campaigns in Cambodia against the dengue vector *Aedes aegypti*. *Trop Med Int Health* 2007;12(9):1026-36.

52. Direction générale de la santé, Sous-direction prévention des risques infectieux, Bureau des risques infectieux et de la politique vaccinale. Instruction n°DGS/RI1/RI3/2011/163 du 19 juin 2011 relative aux modalités de mise en œuvre du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole. Paris: Ministère du travail de l'emploi et de la santé; 2011. http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/INSTRUCTION_NoDGS-RI1-RI3-2011-163_du_19_juin_2011_relative_aux_modalites_de_mise_en_oeuvre.pdf

53. Direction générale de la santé, Sous-direction des pathologies et de la santé, Bureau des maladies infectieuses de la politique vaccinale. Circulaire n°DGS/SD5C/2006/311 du 10 juillet 2006 relative à la transmission obligatoire de données individuelles à l'autorité sanitaire en cas de diagnostic de dengue sur le territoire métropolitain et à la Réunion. *Bulletin Officiel Santé* 2006;2006-7.

54. Dehecq JS, Fohr G, Thiria J. Plan de lutte contre *Aedes albopictus* pendant l'épidémie

de chikungunya à La Réunion en 2005-2007. BEH 2008;38-39-40:375-78.

55. Dehecq JS, Thiria J, Fohr G, Delatte H, Fontenille D, Domerg C, *et al.* Impact entomologique des campagnes de sensibilisation à la destruction des gîtes larvaires d'*Aedes albopictus* à La Réunion (Kass' Moustik). BEH 2008;38-39-40:378-81.

56. Dehecq JS, Baville M, Margueron T, Mussard R, Filleul L. La réémergence du chikungunya à la Réunion en 2010 : évolution des actions de lutte antivectoriel. Bull Soc Pathol Exot 2011;104(2):153-60.

57. Institut de veille sanitaire. Bilan épidémiologique et grandes tendances. Dengue Mise à jour Mai 2011. <http://www.invs.sante.fr/content/download/7705/51454/version/1/file/Dengue_monde_2011finale.pdf> [consulté en 11/2012].

58. Institut Pasteur, Centre national de référence des arbovirus, IMTSSA, World Health Organization, Desprès,P, Grandadam,M, *et al.* Rapport d'activités CNR des Arbovirus et Laboratoire associé de l'IMTSSA 2008. Paris: Institut Pasteur; 2008.

59. Institut Pasteur, Centre national de référence des arbovirus, IRBA, World Health Organization, Despres,P, Grandadam,M, *et al.* Rapport d'activités CNR des Arbovirus et

Laboratoire associé de l'IRBA 2009. Paris: Institut Pasteur; 2009.

60. Institut Pasteur, Centre national de référence des arbovirus, IRBA, World Health Organization, Desprès,P, Grandadam,M, *et al.* Rapport quinquennal d'activités 2006-2010. CNR des Arbovirus à l'institut Pasteur et Laboratoire associé de l'IRBA (antenne de Marseille) - Rapport d'activités 2010. Paris: Institut Pasteur; 2010.

61. Institut Pasteur, Centre national de référence des arbovirus, IRBA, World Health Organization, Desprès,P, Grandadam,M, *et al.* Rapport d'activités 2011. Centre national de référence des arbovirus et Laboratoire associé de l'IRBA - Antenne de Marseille. Paris: Institut Pasteur; 2011.

62. Institut Pasteur. Modalités générales de fonctionnement des CNR 2012. <<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-loms/generalites/modalites-de-fonctionnement>> [consulté en 11/2012].

63. World Health Organization, Regional Office for South-East Asia. Establishment of PCR laboratory in developing countries 306. New Delhi: WHO; 2011.

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 (Cf. Chapitre annexe)]: 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) 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 (CNEDiMTS) : 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	Texte court du 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