



**HAL**  
open science

# Perspectives de la vaccination contre la dengue trois ans après un premier vaccin

Fatima Abdou

► **To cite this version:**

Fatima Abdou. Perspectives de la vaccination contre la dengue trois ans après un premier vaccin. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02002997

**HAL Id: dumas-02002997**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02002997v1>**

Submitted on 1 Feb 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE  
DEVANT LA FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE

PAR

Mme FATIMA ABDOU

Née le 02 FEVRIER 1976 à MAJUNGA

**le Jeudi 24 Janvier 2019**

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**TITRE :**

**PERSPECTIVES DE LA VACCINATION CONTRE LA DENGUE**

**TROIS ANS APRES UN PREMIER VACCIN**

**JURY :**

Président : Madame le Professeur Nadine AZAS-KREDER

Membres : Monsieur Aurélien DUMETRE  
Monsieur Madjid MOSTEFAOUI



27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05  
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

## **ADMINISTRATION :**

Doyen :	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Vice-Doyens :	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
Chargé de mission	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI
Conseiller du Doyen :	M. Patrice VANELLE
Doyens honoraires :	M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
Professeurs émérites :	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre REYNIER, M. Henri PORTUGAL
Professeurs honoraires :	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
Chef des Services Administratifs :	Mme Florence GAUREL
Chef de Cabinet :	Mme Aurélie BELENGUER
Responsable de la Scolarité :	Mme Nathalie BESNARD

### **DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

### **PROFESSEURS**

BIOPHYSIQUE M.

Vincent PEYROT

M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE

M. Philippe PICCERELLE

<b>MAITRES DE CONFERENCE</b>
------------------------------

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI

Mme Odile RIMET-

GASPARINI

Mme Pascale BARBIER

M. François DEVRED

Mme Manon CARRE

M. Gilles BREUZARD

Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA

Mme Véronique REY-

BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE

M. Emmanuel CAUTURE

Mme Véronique

ANDRIEU

Mme Marie-Pierre

SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE M.

Léopold TCHIAKPE

<b>A.H.U</b>
--------------

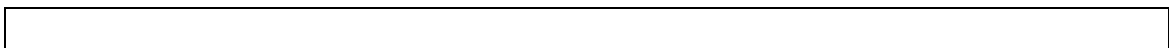
THERAPIE CELLULAIRE M.

Jérémy MAGALON

<b>ENSEIGNANTS CONTRACTUELS</b>
---------------------------------

ANGLAIS  
GOODWIN

Mme Angélique



**DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

**PROFESSEURS**

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE  
GEORGE

Mme Françoise DIGNAT-

JAU

Mme Laurence CAMOIN-

Mme Florence  
SABATIER-  
MALATERRE  
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN  
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

KREDER

Mme Nadine AZAS-

**MAITRES DE CONFERENCES**

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

Mme Dominique  
JOURDHEUIL-  
RAHMANI  
M. Thierry AUGIER  
M. Edouard LAMY  
Mme Alexandrine  
BERTAUD  
Mme Claire CERINI  
Mme Edwige TELLIER  
M. Stéphane POITEVIN

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE Mme Aurélie LEROYER

M. Romaric LACROIX  
Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

Mme Michèle LAGET

M. Michel DE MEO  
Mme Anne DAVIN-  
REGLI  
Mme Véronique ROUX  
M. Fadi BITTAR  
Mme Isabelle PAGNIER  
Mme Sophie EDOUARD  
M. Seydina Mouhamadou  
DIENE

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO  
M. Aurélien DUMETRE  
Mme Magali CASANOVA  
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE  
LOUHMEAU

Mme Anne-Catherine

**A.H.U**

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

M. Maxime LOYENS

**DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

**PROFESSEURS**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Philippe GALLICE

CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE

M. Pascal RATHELOT  
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE  
M. Thierry TERME

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

Mme Evelyne OLLIVIER

<b>MAITRES DE CONFERENCES</b>
-------------------------------

**BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE**

Mme Anne FAVEL  
Mme Joëlle MOULIN-  
TRAFFORT

**CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION**

Mme Catherine DEFOORT  
M. Alain NICOLAY  
Mme Estelle WOLFF  
Mme Elise LOMBARD  
Mme Camille  
DESGROUAS

**CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES  
TECHNOLOGIQUES**

M. David BERGE-  
LEFRANC  
M. Pierre REBOUILLON

**CHIMIE THERAPEUTIQUE Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT**

Mme Caroline DUCROS  
M. Marc MONTANA  
Mme Manon ROCHE

**CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE**

M. Armand GELLIS  
M. Christophe CURTI  
Mme Julie BROGGI  
M. Nicolas PRIMAS  
M. Cédric SPITZ  
M. Sébastien REDON

**PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE**

M. Riad ELIAS  
Mme Valérie MAHIOU-  
LEDDER  
Mme Sok Siya BUN  
Mme Béatrice  
BAGHDIKIAN

**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Anne-Marie PENET-

LOREC

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Cyril PUJOL

DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE M.

Marc LAMBERT

GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE  
PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION  
PHARMACEUTIQUES

A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC

Mme Félicia FERRERA

**A.H.U.**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

M. Mathieu CERINO

**ATER**

CHIMIE ANALYTIQUE  
DESMARCHELIER

M. Charles

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Fanny MATHIAS

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE

Mme Diane BRAGUER  
M. Stéphane HONORÉ

PHARMACODYNAMIE

M. Benjamin GUILLET

TOXICOLOGIE GENERALE

M. Bruno LACARELLE



<b>MAITRES DE CONFERENCES</b>
-------------------------------

PHARMACODYNAMIE

M. Guillaume HACHE  
Mme Ahlem BOUHLEL  
M. Philippe GARRIGUE

PHYSIOLOGIE

Mme Sylviane LORTET  
Mme Emmanuelle

MANOS-SAMPOL

TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE

M. Joseph CICCOLINI  
Mme Raphaëlle  
FANCIULLINO  
Mme Florence  
GATTACECCA

TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE

M. Pierre-Henri VILLARD  
Mme Caroline SOLAS-  
CHESNEAU  
Mme Marie-Anne ESTEVE

<b>A.H.U.</b>
---------------

PHARMACIE CLINIQUE

M. Florian CORREAR

PHARMACOCINETIQUE

Mme Nadège NEANT

## CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 22 février 2018

## **Remerciements**

A ma directrice et présidente de thèse,

Madame le professeur Nadine AZAS, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce sujet de thèse et pour ses conseils. Je vous remercie de me faire l'honneur de diriger et présider le jury de cette thèse.

A mes membres du jury,

Monsieur Aurélien DUMETRE, pour avoir accepté de prendre part au jury, je vous en remercie.

Monsieur Madjid MOSTEFAOUI, pour avoir aimablement accepté de faire parti du jury, pour vos encouragements dans la réalisation de ce travail et pour votre gentillesse. Un grand merci à toute l'équipe de la pharmacie du Littoral pour leur patiente et leur écoute.

A mes parents, pour les valeurs que vous m'avez transmises, pour votre soutien au quotidien.

A ma fille, pour tout le bonheur et toute la fierté que tu m'apporte tous les jours.

A ma famille, pour votre soutien, votre aide et pour tous vos conseils. Merci d'être toujours présents malgré les distances.

A mes amis, pour vos encouragements et votre aide. Tout simplement merci pour tout.

A toutes les personnes qui m'ont soutenue et permis d'accomplir ces années d'études et ce travail.

**« L'université n'entend donner aucune approbation, ni improbation  
aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être  
considérées comme propres à leurs auteurs. »**

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PARTIE I DENGUE : GÉNÉRALITÉS</b> .....	2
1. Le virus de la dengue et son mode de transmission .....	3
1.1 Présentation du virus .....	3
1.1.1 Structure et génome du virus .....	3
1.1.2 Diversité génétique du virus .....	5
1.1.3 Cycle cellulaire du virus .....	5
1.2 Les vecteurs du virus.....	7
1.2.1 Espèces principales impliquées dans la transmission du virus.....	7
1.2.2 Cycle de transmission du virus .....	8
2. Aspects cliniques, diagnostic et prise en charge .....	10
2.1 Aspects cliniques.....	10
2.1.1 Tableau clinique classique.....	10
2.1.2 La dengue sévère.....	12
2.1.3 Classification des niveaux de gravité de la dengue.....	13
2.2 Physiopathologie des formes graves de la dengue .....	14
2.3 Diagnostic biologique et prise en charge .....	19
2.3.1 Diagnostic biologique direct.....	19
2.3.2 Diagnostic indirect sérologique.....	21
2.3.3 Prise en charge .....	22
3. Épidémiologie.....	23
3.1 Progression de l'incidence de la dengue .....	23
3.2 Expansion géographique de la maladie.....	24
3.3 Progression des épidémies.....	26
<b>PARTIE II DENGUE : MOYENS DE LUTTE</b> .....	28
1. Prophylaxie non vaccinale.....	29
1.1 Protection personnelle antivectorielle (PPAV) .....	29
1.2 Lutte antivectorielle (LAV).....	32
1.2.1 Suppression des gîtes larvaires.....	32
1.2.2 Action sur les moustiques adultes .....	34

1.2.3	Perspectives futures .....	34
1.3	Surveillance de la dengue et éducation de la population. ....	35
1.3.1	Surveillance entomologique.....	36
1.3.2	Surveillance épidémiologique.....	36
1.3.3	Education sanitaire de la population.....	38
2.	Rappels sur la réponse immunitaire et la vaccination .....	40
2.1	Le système immunitaire .....	40
2.2	Principe de la vaccination et types de vaccins .....	42
2.2.1	La vaccination : principe.....	42
2.2.2	Les différents types de vaccins .....	42
2.2.3	Composition des vaccins .....	43
3.	Le vaccin CYD-TDV, Dengvaxia® .....	44
3.1	Difficultés spécifiques au développement d'un vaccin contre la dengue .....	44
3.1.1	Construction d'un vaccin unique actif sur quatre sérotypes différents.....	44
3.1.2	Absence de corrélat de protection pour l'étude de l'efficacité des vaccins .....	51
3.1.3	Absence de modèle animal pertinent pour l'étude des symptômes cliniques ....	54
3.2	Caractéristiques du Dengvaxia® .....	57
3.2.1	Données précliniques .....	59
3.2.2	Données cliniques .....	62

### **PARTIE III LE DENGVAXIA®, LECONS A TIRER TROIS ANS APRES**

<b>HOMOLOGATION</b> .....	76
1. CYD-TDV : une efficacité et une sécurité variable .....	77
1.1 Variabilité de l'efficacité du CYD-TDV .....	78
1.1.1 Variation de l'efficacité du vaccin selon la zone géographique .....	78
1.1.2 Variation de l'efficacité du vaccin selon le sérotype .....	79
1.1.3 Variation de l'efficacité du vaccin selon le statut sérologique.....	82
1.1.4 Variation de l'efficacité du vaccin selon l'âge .....	82
1.2 Variabilité de la sécurité du CYD-TDV .....	83
1.2.1 Variation de la sécurité du vaccin suivant l'âge .....	83
1.2.2 Variation de la sécurité du vaccin suivant le statut sérologique .....	86
2. Analyses complémentaires apportées par Sanofi en post-hoc.....	86
2.1 Test utilisés pour l'analyse des données en post-hoc.....	86
2.2 Résultats des analyses complémentaires .....	87

3.	Recommandations des institutions internationales et actions du fabricant .....	92
3.1	Actions du laboratoire Sanofi.....	92
3.2	Recommandations des institutions internationales et des instances nationales .....	92
4.	Les futurs vaccins .....	95
4.1	Stratégies de développement de vaccins contre la dengue.....	96
4.2.1	Vaccins vivants .....	96
4.2.2	Vaccins atténués .....	96
4.2	Présentation de quelques candidats vaccins en cours de développement .....	97
4.2.1	Vaccins vivants en cours de développement .....	97
4.2.2	Vaccins inertes en cours de développement.....	100
	<b>CONCLUSION</b> .....	103
	<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	104
	<b>ANNEXE</b> .....	111

## INTRODUCTION

La dengue est une maladie vectorielle qui représente un problème de santé publique majeur dans le monde. Cette infection virale n'a cessé de progresser ces dernières années et le nombre de cas notifiés est passé de 400 000 en 1996 à 3,2 millions en 2015 (1). A cette incidence croissante s'ajoute une expansion géographique rapide de la maladie. La dengue touche aujourd'hui des pays de l'hémisphère nord alors qu'elle n'était présente que dans les régions intertropicales où elle sévit encore actuellement de manière endémique. Sur un plan clinique, la maladie est le plus souvent asymptomatique ou bénigne, cependant elle évolue plus rarement vers des formes sévères pouvant mettre en jeu le pronostic vital des malades.

Les mécanismes expliquant la pathogénicité des formes graves de dengue sont toujours mal connus ce qui complique la mise au point de nouveaux traitements. A ce jour, aucun antiviral spécifique n'est encore commercialisé dans le monde et la stratégie de lutte contre la maladie repose fortement sur des mesures de lutte antivectorielles.

Dans ce contexte, le Dengvaxia<sup>®</sup>, premier vaccin commercialisé pour la prévention de la dengue, par le laboratoire pharmaceutique Sanofi Pasteur en fin 2015, a suscité d'énormes espoirs. Au Brésil et aux Philippines des programmes de vaccination massives ont été mis en place dès 2016. Cependant, après de nouvelles analyses concernant son vaccin, le groupe Sanofi a annoncé l'existence d'un risque plus élevé de survenue de dengue sévère chez certaines catégories d'individus vaccinés. Les autorités philippines ont décidé de suspendre la commercialisation du vaccin. De son côté, le Brésil a choisi de maintenir son programme de vaccination.

Cette thèse a pour but de faire un point sur l'efficacité et la sécurité du Dengvaxia<sup>®</sup> après 3 ans d'utilisation du vaccin en zone endémique et d'évaluer l'intérêt de la vaccination contre la dengue dans le cadre de la stratégie globale de lutte contre la maladie. Nous présenterons dans une première partie des généralités sur la dengue. Nous aborderons, en deuxième partie, les moyens de prévention disponibles aujourd'hui pour se protéger de la dengue et présenterons ainsi les caractéristiques du Dengvaxia<sup>®</sup>. Enfin nous ferons un bilan des données cliniques complémentaires obtenues après 3 ans d'utilisation du vaccin pour tenter d'évaluer son intérêt dans la prévention de la dengue.



# **PARTIE I**

## **DENGUE : GÉNÉRALITÉS**

## PARTIE I

### 1. Le virus de la dengue et son mode de transmission

#### 1.1 Présentation du virus

La dengue est une maladie infectieuse causée par un virus appartenant au genre *Flavivirus* et à la famille des *Flaviviridae*. Ce genre regroupe de nombreux virus responsables de pathologies pour l'homme, comme le virus Zika, le virus de la fièvre jaune, le virus du Nil occidental, le virus de l'encéphalite japonaise, ou le virus de l'encéphalite à tiques (2).

##### 1.1.1 Structure et génome du virus

Comme tous les *Flavivirus*, le virus de la dengue est une petite particule de forme sphérique. Elle est formée par une nucléocapside icosaédrique, constituée d'une protéine C associée à un ARN génomique. Cette nucléocapside est elle-même entourée d'une enveloppe lipidique dans laquelle s'ancrent deux glycoprotéines structurales, la protéine d'enveloppe E et la protéine membranaire M qui est présente dans la forme mature du virus. Il existe une forme immature du virus dans laquelle on retrouve une protéine prM (3).

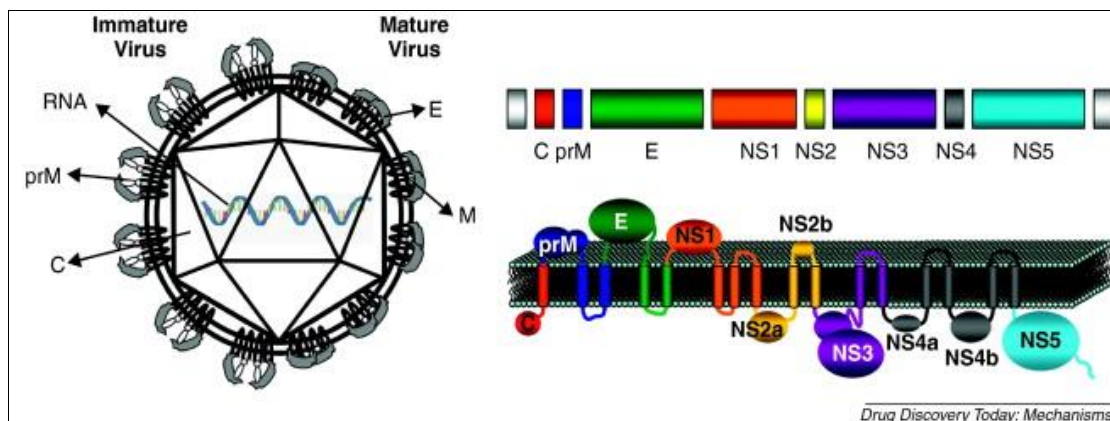


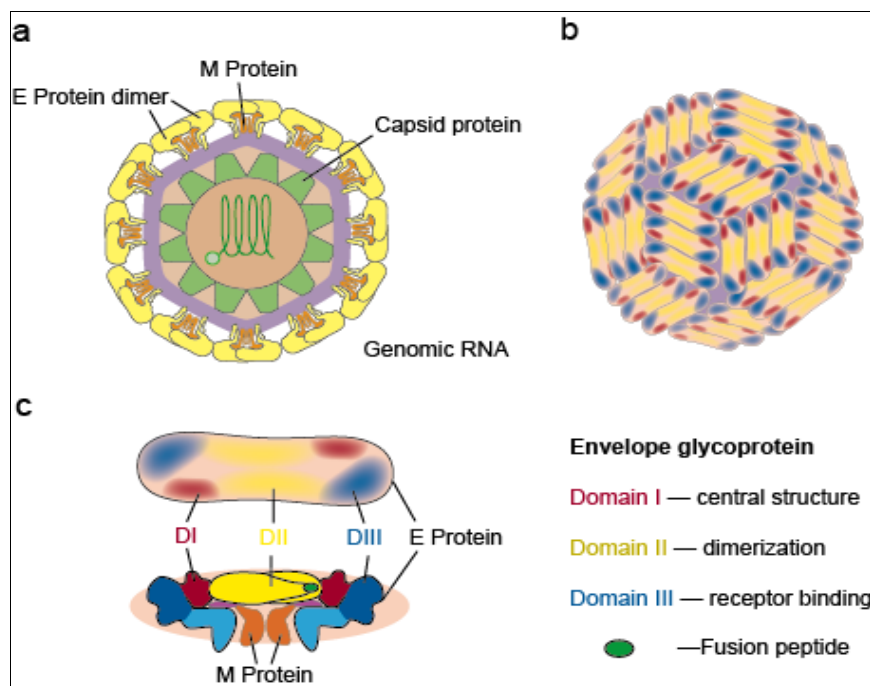
Figure 1 : structure et génome viral (4).

L'ARN du virus de la dengue est un brin simple, linéaire, à polarité positive d'environ 11000 nucléotides qui possède une coiffe en 5' mais pas de queue polyadénylée en 3'.

La traduction de l'ARN donne un polypeptide unique qui sera ensuite clivé en trois protéines structurales (la capsid C, la protéine pré-membranaire prM, la glycoprotéine d'enveloppe E) et sept protéines non structurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5). La protéine pré-membranaire prM est une protéine structurale du virus sous sa forme immature. Son clivage donne une protéine membranaire M présente dans le virus mature (3) (Figure 1).

Ces différentes protéines ont un large éventail d'activités biologiques. La glycoprotéine E est, par exemple, impliquée dans la liaison et la fusion du virus à la cellule hôte. De plus, comme pour la protéine membranaire M, la glycoprotéine E est disposée à la surface du virion. Ces deux protéines représentent donc des antigènes de surface stimulant les réponses immunitaires de l'hôte.

Dans sa structure la glycoprotéine E comprend une partie transmembranaire surmontée par un ectodomaine intraluminal constitué de trois sous-domaines : le domaine central DI, le domaine de dimérisation DII (il contient un peptide de fusion essentiel pour la fusion de l'enveloppe du virus avec la membrane des cellules infectées) et le domaine de liaison aux récepteurs des cellules cibles DIII (5).



a : Représentation schématique de la particule du virus de la dengue avec ses protéines de surface M et E  
 b : Disposition des protéines E à la surface du virus de la dengue  
 c : Schéma de la protéine de surface E avec son ectodomaine composé des 3 domaines DI, DII, DIII

**Figure 2 : la glycoprotéine E (6).**

Les protéines non structurales jouent un rôle dans la réplication de l'ARN, l'assemblage du virus et le *processing* des protéines virales. La protéine NS1a a la particularité de pouvoir se présenter sous plusieurs formes. Elle peut subir une modification post-traductionnelle qui lui permet de s'ancrer à la membrane plasmique. Elle existe aussi sous la forme d'un hexamère composé de trois sous-unités dimériques. Cette forme soluble est sécrétée dans la circulation sanguine et ainsi retrouvée dans le sérum des patients infectés par le virus (3).

### **1.1.2 Diversité génétique du virus**

Le virus de la dengue présente une diversité génomique qui a pour conséquence l'existence de quatre sérotypes distincts numérotés de 1 à 4 (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4). A l'intérieur de ces sérotypes on distingue également de multiples géotypes très souvent basés sur leurs origines géographiques.

Bien que les quatre sérotypes présentent une forte proximité antigénique et génétique (homologie d'acides aminés de 63 à 68 % entre les 4 sérotypes), ils peuvent être considérés comme des virus distincts ayant chacun ses propres propriétés virales. En effet, l'infection par un sérotype donné induit une immunité durable contre le sérotype infectant, et une immunité croisée temporaire envers les autres sérotypes. Ainsi un même individu pourra développer quatre fois la dengue dans sa vie. De plus, une infection secondaire par un virus de sérotype différent peut aussi augmenter le risque de développer les symptômes sévères de la dengue (3).

Les différences génétiques interviennent également dans la survenue de cas graves de la maladie. Ainsi DENV-2 est un sérotype fréquemment associé à des épidémies sévères. Le géotype américain de DENV-2 est au contraire connu pour sa moindre virulence (7).

### **1.1.3 Cycle cellulaire du virus**

- Adhésion et entrée du virus dans la cellule cible :

La liaison du virion à la cellule cible est réalisée grâce à des interactions entre la glycoprotéine E et des facteurs cellulaires. Le virus est ensuite internalisé par un phénomène d'endocytose médié par la clathrine. Il se retrouve alors dans une vésicule

endosomale dans laquelle le pH est bas. Ce milieu acide va induire un changement de conformation de la protéine E et la fusion de la membrane du virus. Le brin d'ARN (+) est alors libéré dans le cytoplasme de la cellule (2).

- Réplication et formation de nouveaux virions

L'ARN (+) viral joue le rôle d'un ARNm qui est traduit et donne des protéines virales au niveau du réticulum endoplasmique rugueux (RER).

La réplication du virus est assurée par un complexe de réplication, composé de protéines virales, de l'ARN viral et de protéines cellulaires.

L'assemblage des particules virales a lieu dans le (RER), à sa sortie on obtient des virus immatures qui seront transportés dans l'appareil de Golgi. Au sortir de l'appareil de Golgi, la protéine prM est clivée et on obtient des particules virales matures libérées dans l'espace extra-cellulaire (2).

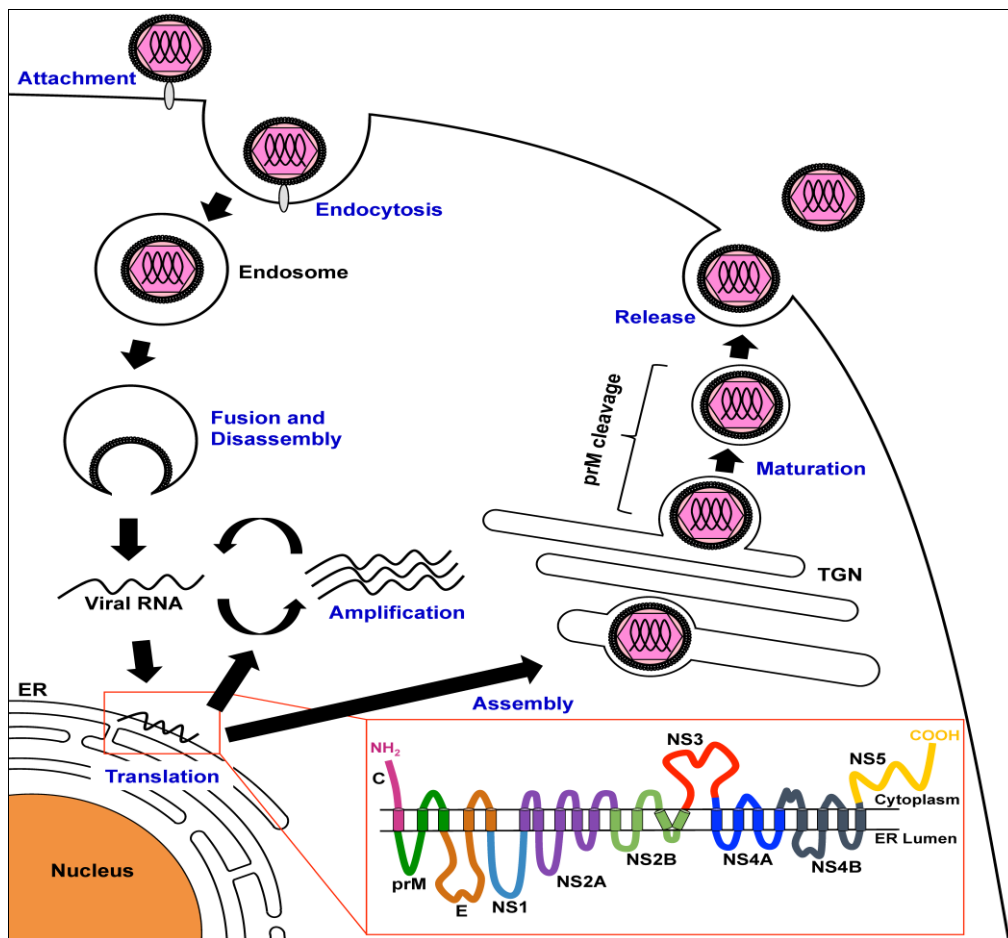


Figure 3 : cycle de réplication viral (2).

## 1.2 Les vecteurs du virus

Le virus de la dengue est un arbovirus (arthropod-borne-virus). Ce terme dérivé de l'anglais désigne des virus transmis à des vertébrés par l'intermédiaire d'un arthropode hématophage. Cet arthropode est le vecteur de la maladie. Dans le cas de la dengue, le vecteur spécifique au virus DENV est un moustique du genre *Aedes*. L'hôte à qui est transmis le virus est principalement représenté par l'homme mais d'autres primates non humains (certaines espèces de singes) sont aussi impliqués (8).

Comme tous les diptères, aux stades immatures (larve et nymphe) le moustique *Aedes* se développe en milieu aquatique. En pratique, les gîtes où croissent les larves et les nymphes de moustique sont des eaux stagnantes, présentes dans des contenants de nature très diversifiés. Il peut s'agir de récipients ou de réservoirs artificiels comme des citernes, des jarres... Ces contenants artificiels sont très souvent placés à proximité des habitations humaines. Les gîtes larvaires peuvent aussi être des éléments naturels comme des trous d'arbres ou des branches de bambou... L'abondance et l'adaptation du moustique à certains types de gîtes favorise une évolution du moustique dans un milieu plutôt rural ou plutôt urbain (8) (9).

Les œufs, quant à eux, résistent à la dessiccation et restent viables plusieurs semaines ou parfois quelques mois en l'absence d'eau. Cependant, ils ont besoin d'être submergés à nouveau par de l'eau pour éclore (8).

### 1.2.1 Espèces principales impliquées dans la transmission du virus

*Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* sont les principales espèces impliquées dans la transmission du virus de la dengue mais d'autres vecteurs comme *Aedes polynesiensis* ou *Aedes scutellaris* peuvent aussi être mis en cause (8).

- *Aedes aegypti*

*Aedes aegypti* est le vecteur principal de la dengue. Cette espèce se retrouve dans les zones tropicales de tous les continents. Elle s'est adaptée à notre environnement urbain humain et se reproduit principalement dans des conteneurs d'eau propre produits par l'homme (jarres, barriques, citernes, vases, pots, etc...). C'est une espèce fortement anthropophile qui pullule dans les zones où les contacts humains sont multipliés et où

les gîtes éventuels pour abriter ses œufs nombreux (régions avec une forte démographie, une urbanisation incontrôlée, une concentration humaine...). La femelle se nourrit pendant la journée, avec un pic d'activité le matin et le soir avant le crépuscule. Elle est capable de piquer plusieurs personnes pour achever son repas sanguin (8).

- *Aedes albopictus*

*Aedes albopictus* est le vecteur secondaire de la dengue. En France ce moustique est connu sous le nom de moustique-tigre. Cette espèce s'est aussi adaptée à l'environnement humain mais dans un degré moindre qu'*Aedes aegypti*. De plus elle est anthropophile et zoophile, c'est pourquoi ses repas proviennent de sang prélevé chez l'homme ou l'animal. De ce fait ses gîtes sont plus variés et sont constitués de containers naturels ou artificiels. La diversité de ces habitats explique que le vecteur se retrouve en milieu rural, périurbain et urbain. L'espèce *Aedes albopictus* a acquis une grande capacité d'adaptation et peut ainsi survivre dans des régions tempérées et fraîches comme en Europe et aux États-Unis. Elle est notamment capable d'hiberner et de produire des œufs pouvant se mettre en diapause l'hiver (8).

### **1.2.2 Cycle de transmission du virus**

Le cycle de transmission du virus de la dengue fait intervenir différents hôtes, primates non-humains, hommes, et le moustique vecteur *Aedes*. Ce moustique est un vecteur actif qui non seulement transmet le virus et au sein duquel le virus peut se multiplier.

Le cycle sylvatique implique des primates non humains (singes) et le moustique *Aedes*. Il a été mis en évidence en Asie du sud et en Afrique. Le virus n'est pas pathogène pour les singes et la virémie dure 2 à 3 jours. Les quatre sérotypes de la dengue ont été isolés chez les singes (10).

Le cycle urbain fait intervenir le moustique vecteur *Aedes* et l'homme. Le virus est inoculé à un hôte au cours d'une piqûre. Une phase d'incubation ou cycle d'amplification intrinsèque débute alors chez l'homme. Vient ensuite une phase virémique durant laquelle l'homme est contaminant et peut transmettre le virus à un nouveau moustique. Après cette phase le virus est éliminé rapidement.

Le moustique s'infecte en prélevant le sang d'un hôte contaminé durant la phase de virémie. Après ingestion le virus arrive dans l'estomac et infecte les cellules mésentériques de l'insecte. Le virus va ensuite gagner tous les organes du moustique, notamment les glandes salivaires. Le moustique devient alors infectant et le reste toute sa vie.

Seule la femelle *Aedes* est hématophage car les repas sanguins lui fournissent les protéines nécessaires au développement des œufs. Après ingestion du virus au cours d'une piqûre il se produit un cycle d'amplification extrinsèque ou cycle gonotrophique. La femelle passe du stade de femelle gorgée à celui de femelle semi-gravide puis gravide. Elle peut alors transmettre le virus à sa descendance on parle de transmission verticale du virus. Les œufs pondus donneront naissance plus tard à des adultes déjà contaminés (8).

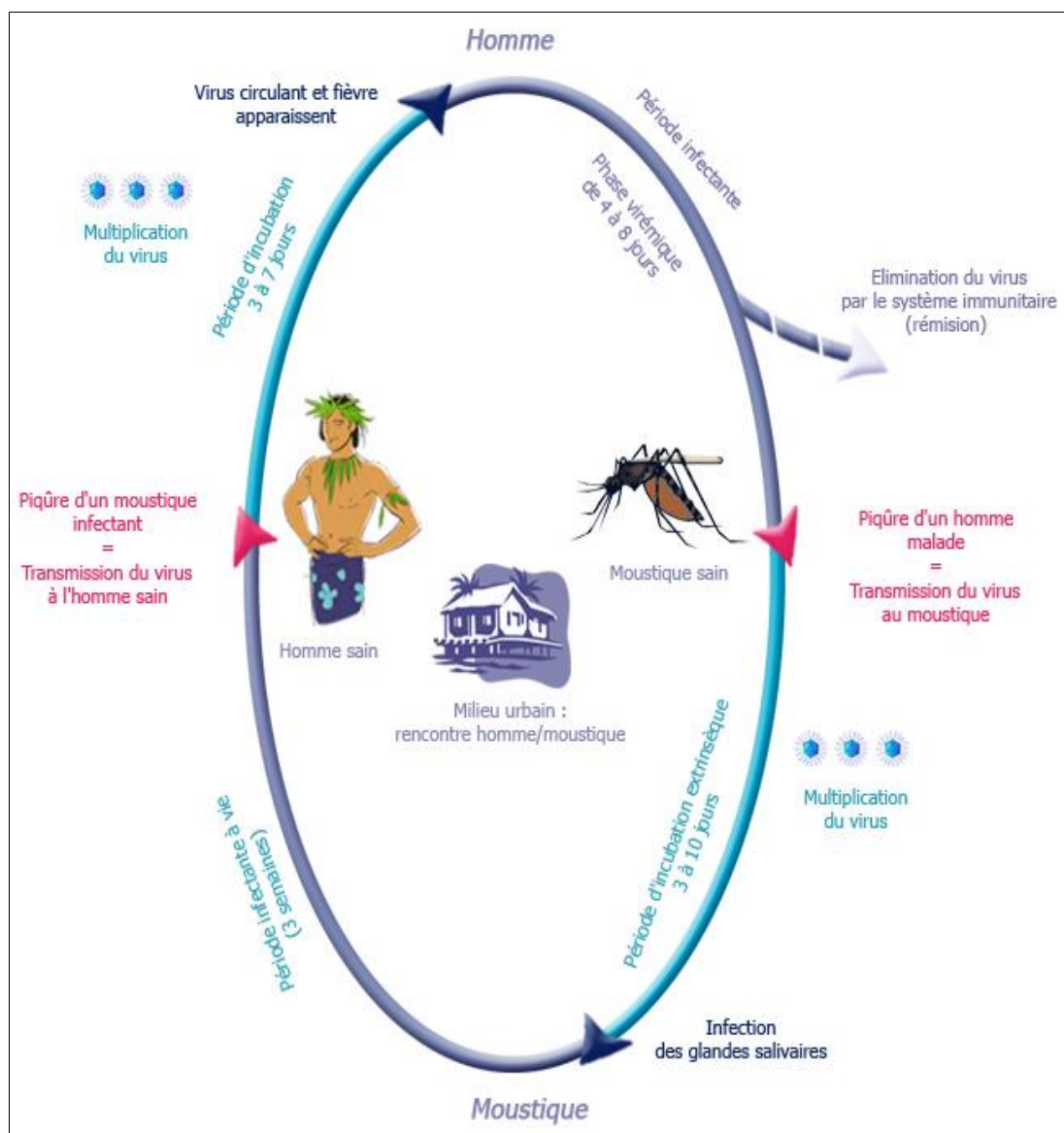


Figure 4 : cycle de transmission du virus de la dengue (11).



## **2. Aspects cliniques, diagnostic et prise en charge**

### **2.1 Aspects cliniques**

La dengue est une maladie infectieuse dont les manifestations cliniques sont généralement celles d'un syndrome pseudo-grippal bénin avec une guérison spontanée du patient. Cependant dans de rares cas, elle évolue vers une forme sévère grave qui met en jeu le pronostic vital du malade.

#### **2.1.1 Tableau clinique classique**

Le virus de la dengue provoque une maladie systémique et dynamique présentant un large spectre clinique allant de formes asymptomatiques à des formes graves. Classiquement la maladie évolue en trois phases : fébrile, critique et phase de convalescence (12) (figure 5).

La phase fébrile démarre après une période d'incubation et dure 2 à 7 jours. Une fièvre élevée apparaît brutalement. Elle est associée à des symptômes divers à type de :

- douleurs : céphalées, myalgies, arthralgies, douleurs oculaires retro-orbitaires.
- signes cutanés : érythèmes, éruption maculopapuleuse, rougeurs de la face.
- signes digestifs : anorexie, nausées, vomissements.
- signes hémorragiques : pétéchies, gingivorragies, épistaxis, saignements vaginaux ou digestifs massifs (plus rarement)

A ce stade on peut difficilement distinguer la dengue d'autres maladies fébriles. Un test du « tourniquet » positif augmente la probabilité de diagnostic. Une diminution de la numération leucocytaire représente un signe d'alerte pour le médecin (12, 13).

La phase critique survient entre le 3<sup>ème</sup> et le 8<sup>ème</sup> jour au cours de la défervescence. La température baisse aux environs de 37,5 °C à 38 °C ou moins. On observe d'abord une leucopénie progressive et une diminution du taux de plaquettes. La perméabilité capillaire augmente et un syndrome de fuite plasmatique caractéristique de cette phase survient alors. Généralement sa durée est de 24-48 heures, sa gravité varie et peut aboutir à un état de choc lorsque le volume plasmatique atteint un niveau critique. Le taux d'hématocrite augmente précocement avant la modification de la pression artérielle. Des atteintes organiques sévères

peuvent être observées (hépatite, encéphalite, myocardite) ainsi que des complications hémorragiques (12).

Le plus souvent une phase de guérison suit la phase critique. L'état du patient s'améliore et le liquide plasmatique présent dans le compartiment extravasculaire est réabsorbé dans les 48-72 heures qui suivent la phase critique. L'état hémodynamique se stabilise, la diurèse suit. L'hématocrite tend à se stabiliser, la numération leucocytaire remonte mais le retour à la normale du taux de plaquettes est plus tardif. Durant la prise en charge du malade, une réhydratation excessive peut entraîner une détresse respiratoire. Elle est la conséquence d'une ascite, d'un épanchement pleural important, d'un œdème pulmonaire ou d'une insuffisance cardiaque congestive (14).

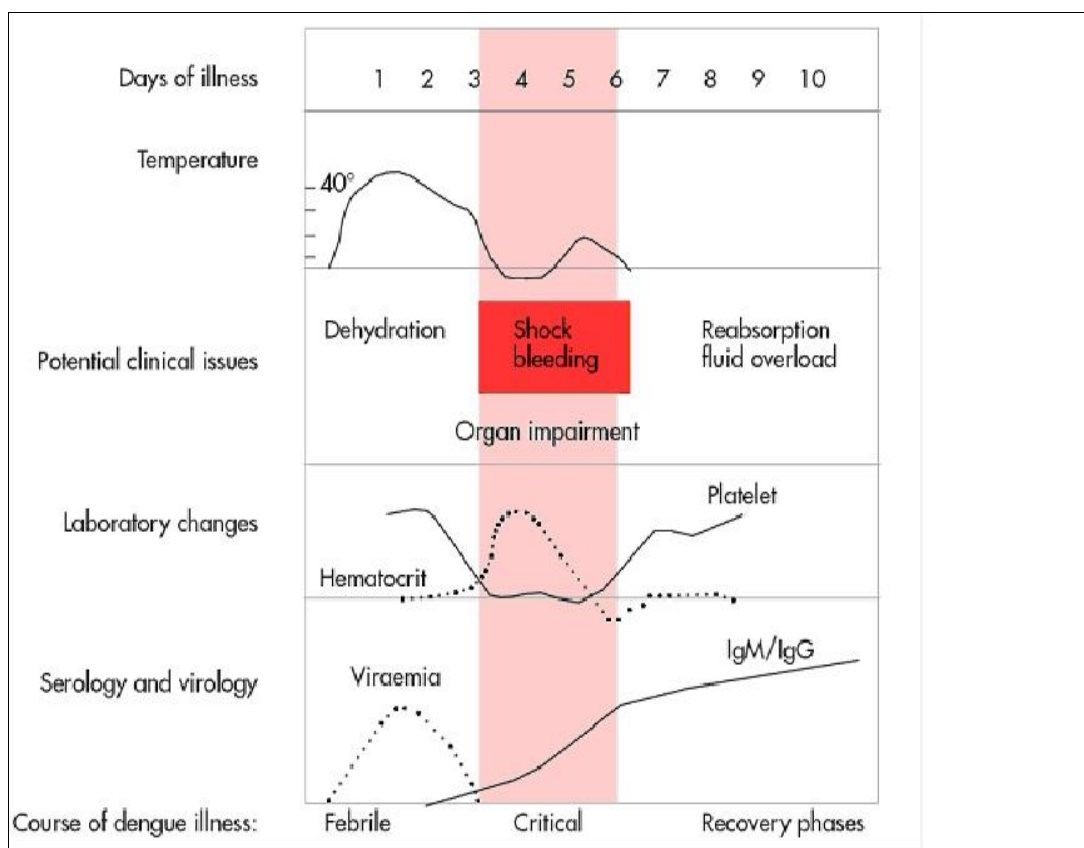


Figure 5 : évolution de la dengue (14).

Plus rarement l'état du patient se détériore après la phase critique, des signes d'alerte surviennent d'abord. Ils apparaissent en général entre le 3<sup>e</sup> et le 7<sup>e</sup> jour de la maladie.

Le médecin doit notamment être vigilant en cas de vomissements persistants et de douleurs abdominales sévères qui sont des indicateurs précoces de la fuite plasmatique et qui s'aggravent lorsque l'état de choc progresse. Le malade peut devenir de plus en plus léthargique, mais garde une certaine vigilance. Au cours de l'état de choc, une faiblesse, des vertiges ou une hypotension orthostatique peuvent être observés.

Des hémorragies importantes au niveau des muqueuses et des sites de ponctions veineuses doivent également être surveillées. Le volume du foie est souvent augmenté avec une sensibilité à sa palpation.

Un bilan biologique montre une baisse progressive, mais rapide, de la numération plaquettaire et une élévation de l'hématocrite, ceux sont les signes les plus précoces d'une fuite plasmatique. Ils sont habituellement précédés par l'apparition d'une leucopénie (12).

### **2.1.2 La dengue sévère**

Un cas de dengue sévère se définit comme un cas de dengue présumé chez un patient présentant un ou plusieurs des symptômes suivants :

- fuite plasmatique sévère conduisant à un état de choc et ou accumulation de liquide avec ou sans détresse respiratoire
- hémorragie sévère
- atteintes viscérales graves (foie, cerveau , cœur...)

Au cours de la dengue sévère, la perméabilité vasculaire continue à évoluer et la fuite plasmatique s'aggrave jusqu'à apparition d'un état de choc hypovolémique. Il se produit habituellement autour du 4<sup>e</sup> ou 5<sup>e</sup> jour de la maladie.

Pendant la phase initiale du choc des mécanismes compensatoires se mettent en place pour maintenir la pression artérielle systolique normale. Ils se traduisent par l'apparition d'une tachycardie, d'une vasoconstriction périphérique, d'une diminution de l'irrigation de la peau se

traduisant par des extrémités froides. On observe également une diminution de la tension différentielle entre la tension systolique et la tension diastolique.

Lorsque le choc hypovolémique s'aggrave, la tachycardie et la vasoconstriction périphérique s'intensifient. Puis le malade décompense et la tension systolique tout comme la tension diastolique disparaissent brusquement. Le malade est dit hypotensif ou en état de choc décompensé. Cette décompensation se traduit notamment par une modification de l'état mental car le cerveau est moins bien irrigué. Le malade devient anxieux, désorienté, léthargique, il peut convulser... Les enfants et les jeunes adultes peuvent cependant garder l'esprit clair pendant un certain temps.

Un choc hypotensif prolongé avec hypoxie entraîne une acidose métabolique sévère, une insuffisance au niveau de plusieurs organes et une évolution clinique difficile à prendre en charge.

L'hypotension et l'état de choc prolongé sont souvent compliqué par des hémorragies majeures. Des insuffisances hépatiques ou rénales aiguës, des encéphalopathies, des cardiomyopathies ont été notamment décrites (12).

### **2.1.3 Classification des niveaux de gravité de la dengue**

Depuis 2009, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a établi une nouvelle classification des niveaux de gravité de la dengue. On distingue désormais les cas de dengue avec ou sans signes d'alarme des cas de dengue sévère.

Dans sa nouvelle classification l'OMS regroupe sous le terme de dengue sévère les formes cliniques qui ne correspondent ni à une dengue classique ni à une dengue hémorragique, tout en prenant en considération les formes graves et atypiques de la maladie comme les encéphalopathies, les hépatites, les myocardites ou les rhabdomyolyses.

De plus elle met en avant la nécessité de rechercher des signes d'alarmes nécessitant une surveillance stricte du patient (8).

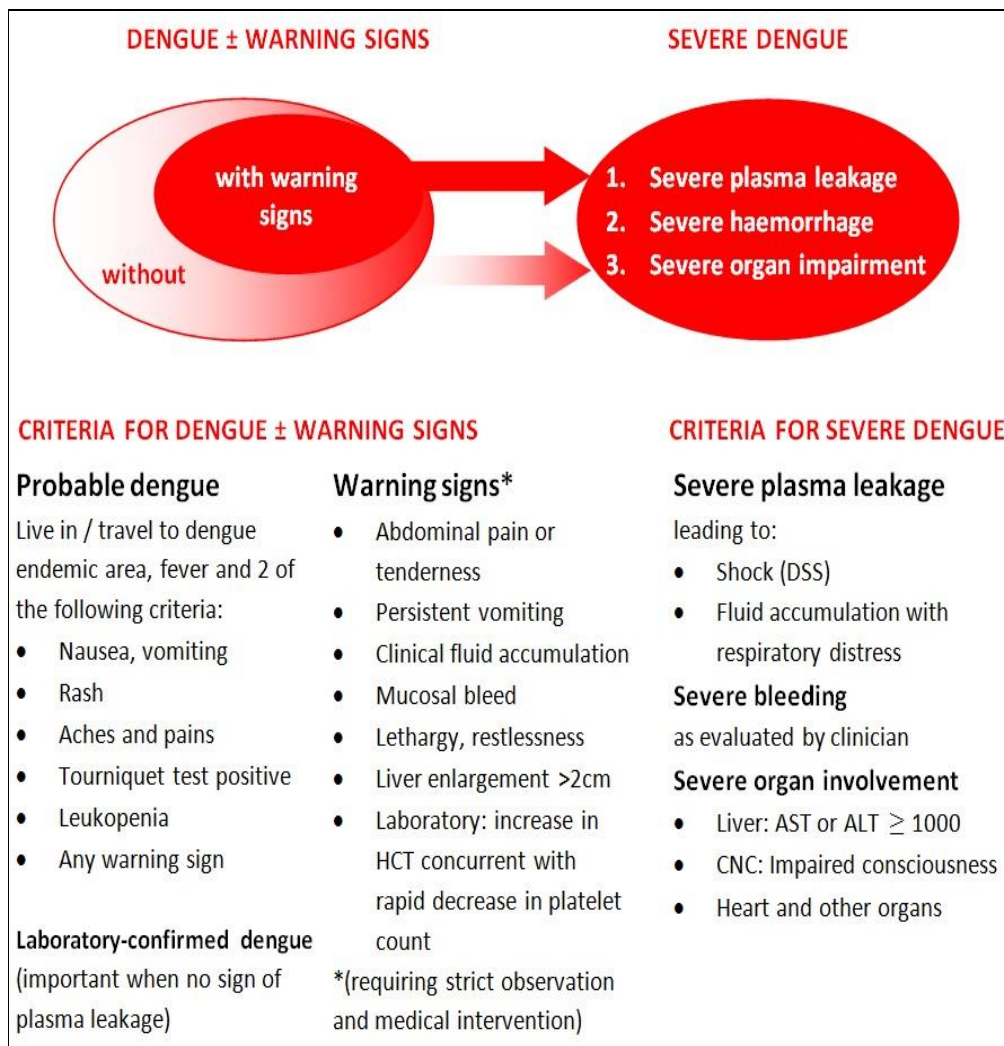


Figure 6 : classification des niveaux de gravité de la dengue de 2009 (14).

## 2.2 Physiopathologie des formes graves de la dengue

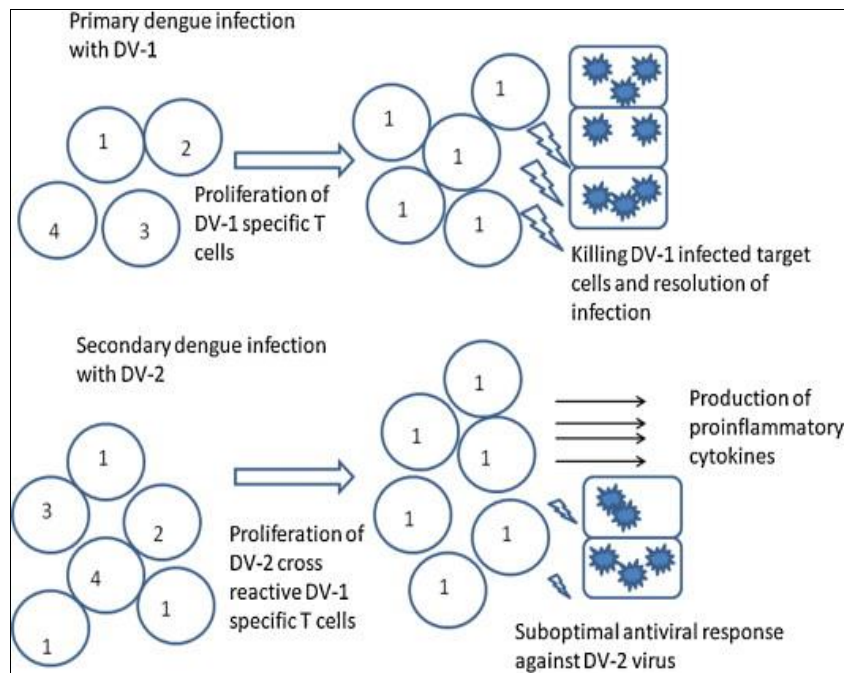
Malgré de nombreuses recherches, la physiopathologie de la dengue reste encore mal connue. Outre la complexité des mécanismes impliqués dans la pathogénèse, l'absence de modèle animal reproduisant correctement les symptômes de la dengue, constitue un obstacle pour l'étude de la maladie (15).

Le système immunitaire joue un rôle primordial pour protéger l'individu contre l'infection virale. Cependant dans les formes graves de dengue il semble que certains mécanismes immunologiques se mettent en place et aboutissent à une exacerbation des symptômes de la dengue. Récemment des chercheurs ont étudié des patients infectés par la dengue mais qui ne présentaient pas de symptômes. Ils ont remarqué que « les patients sans signes cliniques ont une réponse immunitaire contrôlée, dans laquelle la présentation des antigènes est accrue, mais associée à une activation mesurée des lymphocytes T et à une production plus modérée d'anticorps. » (16)

L'un des principes majeurs évoqués par les chercheurs pour expliquer ces dysfonctionnements est l'existence d'une immunité hétérologue. Cette immunité hétérologue se manifeste au cours d'une seconde infection virale par un virus de sérotype différent du virus primo-infectant. Elle serait responsable d'une réponse immunitaire moins spécifique, moins efficace, et à l'origine de phénomènes pathogènes. Quelques-unes des théories illustrant ce phénomène d'immunité hétérologue sont présentées ci-dessous.

- La théorie du péché originel

Après une première infection, des lymphocytes T mémoires sont produits, ils sont spécifiques au sérotype du virus primo-infectant. Au cours d'une seconde infection avec un sérotype différent, il y a un phénomène d'immunodominance. La réponse cellulaire qui prédomine est celle qui met en jeu les lymphocytes T mémoires dirigés contre l'ancien sérotype viral. Ces lymphocytes hétérologues sont plus nombreux que les lymphocytes T dirigés spécifiquement contre le second sérotype viral. Or ils sont capables d'interagir de façon croisée avec ce second virus de sérotype différent, mais avec une moins bonne affinité. La réponse immunitaire produite serait inefficace pour contrôler la clairance virale et elle serait à l'origine d'une libération de cytokines pro-inflammatoires et de l'apoptose des cellules T (2) (17).



En haut, une infection primaire par un virus de la dengue de sérotype 1 (DV-1) : elle induit la prolifération de lymphocytes T spécifiques du sérotype 1. Ceux-ci sont capables d’agir efficacement contre les cellules infectées par le virus DV-1

En bas, une infection secondaire par un virus de sérotype 2 (DV-2) : elle induit la prolifération de lymphocytes T anti-DV-1 spécifiques du sérotype 1 précédent. Ces lymphocytes sont capables d’interagir de façon croisée avec le nouveau virus DV-2. La réponse contre le virus DV-2 n’est pas optimale et ne permet pas de neutraliser les cellules infectées par DV-2 et il y a une production de cytokines pro-inflammatoires

**Figure 7 : mécanisme du péché originel antigénique (17).**

- La facilitation de l’infection dépendante des anticorps :

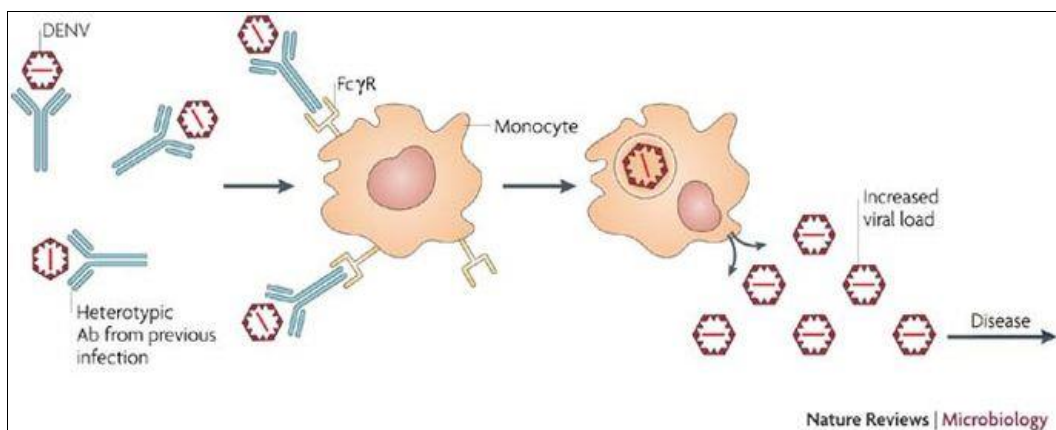
La théorie de facilitation de l’infection dépendante des anticorps ou *antibody-dependent enhancement* (ADE), a été proposée dans les années 1970 par Scott Halstead. Elle met en avant le rôle de la pré-immunisation d’un individu dans la survenue de la dengue sévère (3).

Le mécanisme impliqué dans ce phénomène d’ADE est le suivant : lors d’une primo-infection par un sérotype viral, des anticorps (Ac) homologues au sérotype infectant sont produits. Ils ont une forte affinité pour le sérotype et sont capables de neutraliser le virus. Au cours d’une seconde infection par un virus de sérotype différent, les Ac dirigés contre le virus primo-infectant sont produits en abondance et ils réagissent de façon croisée avec le nouveau sérotype viral. Cependant ils ont une plus faible affinité pour ce nouveau sérotype viral et ne peuvent donc pas neutraliser le virus. Par contre leur

fragment Fc est reconnu par les cellules portant des récepteurs Fc (monocytes, macrophages, cellules dendritiques). A l'intérieur de ces cellules le virus ne serait pas détruit, au contraire il serait capable de se répliquer de façon plus intense pour être ensuite sécrété et la charge virale augmenterait alors (3) (18).

Ce phénomène implique notamment le domaine III de la protéine E car il contient les principaux épitopes de neutralisation. La protéine prM, présente dans le virus immature, est aussi reconnue par ces anticorps non neutralisants. Ainsi les particules virales immatures qui étaient à la l'origine non infectantes acquièrent la capacité d'infecter les cellules portant des récepteurs Fc (3). Enfin, c'est par ce mécanisme que les nourrissons des zones endémiques, ayant acquis des Ac maternels au cours de la grossesse, seraient plus à risque développer une dengue sévère suite à la diminution du titre des Ac maternels (19).

L'hypothèse de facilitation de l'infection par les anticorps est cependant contredite par plusieurs études épidémiologiques. On a notamment observé que certaines formes sévères de la maladie peuvent survenir lors d'une primo-infection et qu'il existe des infections secondaires non compliquées (15).



De gauche à droite : des anticorps hétérotypiques (produits au cours d'une précédente infection) forment des complexes avec les antigènes dirigés contre le nouveau virus de sérotype différent. Le complexe ne permet pas de neutraliser le nouveau virus mais il est toutefois reconnu par les monocytes via le fragment Fc des anticorps. La particule virale est internalisée mais elle ne peut être détruite par le monocyte. Par-contre, elle se réplique à l'intérieur du monocyte qui est alors infecté. Les nouveaux virions synthétisés sont ensuite sécrétés dans le milieu extra-cellulaire.

**Figure 7 : facilitation de l'infection dépendante des anticorps (18)**



D'autres déséquilibres ont été rapportés dans la réponse immunitaire des sujets atteints de dengue sévère. On observe entre-autre des taux élevés de cytokines et une activation excessive du système du complément.

- Tsunami de cytokines

Des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires et vasoactives sont associés aux cas de dengue sévère. On constate, par exemple, une augmentation des taux d'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ), de tumor necrosis factor alpha et beta (TNF- $\alpha$  et TNF- $\beta$ ), l'interleukine 2 (IL-2). Ces cytokines ont des effets sur l'endothélium vasculaire qui provoquent une augmentation de la perméabilité vasculaire et produisent une fuite plasmatique (3).

Les mécanismes responsables de l'élévation du taux de cytokines sont encore mal connus, cependant comme nous l'avons décrit précédemment le phénomène du péché originel conduirait à une production de cytokines pro-inflammatoires. Il en est de même pour le phénomène d'ADE, les cellules possédant des récepteurs Fc pourraient libérer de grande quantité de cytokines après avoir capté les complexes immuns anticorps-antigène.

- Activation excessive du complément

Des taux élevés de produits d'activation du complément, comme le C3a et le C5a, sont retrouvés chez les sujets atteints de dengue sévère. Or ces protéines sont des anaphylatoxines qui provoquent des effets similaires à ceux retrouvés en cas de choc anaphylactique. De plus la production de ces protéines est corrélée à la thrombopénie observée pendant la dengue sévère.

Certaines protéines provenant du virus ou induites par lui, pourraient activer le complément. Il a été montré que la protéine NS1 était un élément déclencheur de l'activation du complément. Les Immunoglobulines IgG1 et IgG2 prédominent au cours d'une infection par le virus de la dengue. Or ces sous-classes d'immunoglobulines peuvent se fixer sur le complément et l'activer de façon importante (3).

A côté de l'activation excessive du complément observée en cas de dengue sévère, certaines études ont mis en évidence un effet protecteur du complément qui permet de limiter la réplication virale. On a pu notamment constater que certaines protéines du

complément comme C1q peuvent se lier à la protéine E et à certaines particules virales ce qui permettrait de limiter l'infection virale (20).

- La protéine NS1

La protéine NS1 est aussi bien impliquée dans des phénomènes pathogènes que dans des mécanismes de protection contre la maladie. Des études ont montré qu'elle peut activer le système du complément lorsqu'elle se trouve sous une forme sécrétée ou sous une forme associée à la membrane cellulaire. L'activation du complément entraîne une perturbation de l'intégrité de la membrane endothéliale, ce qui provoquerait des hémorragies et une fuite vasculaire. NS1 peut aussi atténuer l'activation du complément en interagissant avec des protéines du complément et leurs régulateurs. Il semblerait que NS1 aurait ce type d'action pendant la phase aiguë de la maladie lorsque les anticorps anti NS1 n'ont pas encore formé de complexes (20).

Il a été montré que l'organisme produit des anticorps anti-NS1 qui pourraient avoir un rôle pathogène notamment en déclenchant l'apoptose de cellules endothéliales ou en provoquant des thrombopénies transitoires et des hémorragies (3).

## **2.3 Diagnostic biologique et prise en charge**

### **2.3.1 Diagnostic direct**

La pratique d'un diagnostic biologique est d'un grand intérêt pour les patients atteints de dengue car il permet de confirmer de manière rapide et précise les signes évocateurs de la maladie. En effet les symptômes cliniques de la dengue sont peu spécifiques et se retrouvent dans diverses autres pathologies telles que le chikungunya, la fièvre jaune, l'infection par le virus Zika, l'encéphalite japonaise, l'infection par le virus West Nile, le paludisme... (13).

Les techniques de diagnostic utilisées varient en fonction du stade de l'infection. Les méthodes de détection directe du virus sont à pratiquer durant la période de virémie qui correspond globalement à la semaine qui suit le début des symptômes. Elles sont donc réservées au diagnostic précoce. Le diagnostic tardif est basé sur la détection des anticorps IgM et/ou IgG qui apparaissent dans un second temps (13).

- Détection par isolement du virus sur culture cellulaire

Le virus est détecté à partir de sérums prélevés entre le 1<sup>er</sup> et le 5<sup>ème</sup> jour de la maladie. Cependant cette méthode présente deux inconvénients majeurs, le manque de rapidité (délai de 3 à 10 jours pour obtenir un résultat) et le fait qu'elle ne peut être pratiquée que dans des centres nationaux de référence ou des laboratoires de recherche ou hospitaliers équipés d'un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3. En effet le virus de la dengue est un agent biologique de classe 3. Cette technique de diagnostic n'est donc utilisée en routine (13).

- Détection du génome viral par RT-PCR et RT-PCR en temps réel

La détection du génome viral par RT-PCR nécessite d'extraire, d'amplifier puis d'identifier les acides nucléiques du virus de la dengue. L'étape d'amplification est réalisée par le biais d'une réaction de PCR (Polymerase Chain Reaction). Elle nécessite une ADN polymérase, enzyme capable de synthétiser de nouveaux brins d'ADN à partir d'un brin initial, et des amorces spécifiques. Lorsque le matériel génétique à amplifier est de l'ARN, comme pour le virus de la dengue, on pratique une RT-PCR : l'ARN génomique est initialement transformé en un ADN complémentaire qui sera par la suite dupliqué plusieurs fois par PCR. Après l'étape d'amplification les brins d'ADN sont analysés par électrophorèse sur gel d'agarose ou d'acrylamide, par chromatographie, par hybridation en microplaque ou en tube. La RT-PCR en temps réel permet d'amplifier et d'analyser les séquences d'ADN en une seule étape. Par cette méthode on peut aussi s'affranchir des risques de contamination de la RT-PCR classique (8).

Les techniques de PCR et RT-PCR ont permis d'améliorer le diagnostic pendant la phase symptomatique et de déterminer le sérotype du virus. Un diagnostic précoce est possible, cependant la RT-PCR présente surtout un grand intérêt dans la surveillance épidémiologique (8).

- Détection antigénique de la protéine NS1

Cette méthode consiste à rechercher l'antigène viral NS1 entre le 1<sup>er</sup> et le 5<sup>ème</sup> jour après le début des symptômes cliniques. La détection se fait soit par technique Elisa (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) soit par des tests rapides de type immunochromatographique (ICT) sous forme de bandelette rapide ou cassette. Toutefois la sensibilité de ces tests varie (entre 58% et 93% d'après les études) et un

résultat négatif n'exclut pas une infection. Ces techniques permettent de réaliser un diagnostic précoce et rapide. Le Haut Conseil de la Santé publique juge les tests ICT moins performants que les tests ELISA (13) (8).

### 2.3.2 Diagnostic indirect sérologique

Le diagnostic sérologique de la dengue est basé sur la détection d'IgM et d'IgG spécifiques en fonction de leur cinétique d'apparition dans le temps. Les IgM sont détectés par des techniques ELISA de type capture, les IgG sont préférentiellement détectées par des techniques de type ELISA indirect.

Les anticorps dirigés contre le virus de la dengue suivent la cinétique suivante :

- Dans le cas d'une infection primaire, les IgM sont détectées à partir de 5 à 6 jours après le début des signes cliniques, ils atteignent leur maximum au bout de 2 semaines et persistent 2 à 3 mois. Les IgG apparaissent au bout de 7 à 10 jours après les premiers signes cliniques et atteignent leur pic de sécrétion au bout de 2 à 3 semaines (8).

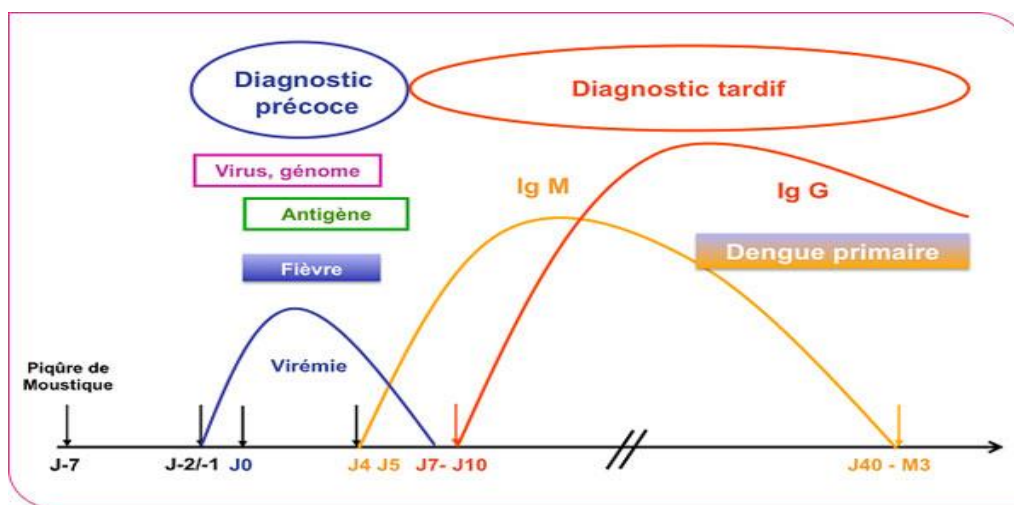


Figure 8 : cinétique des IgM et des IgG au cours d'une infection primaire par le virus de la dengue (21).

- Au cours d'une infection secondaire : c'est la réponse des IgG qui est la plus rapide et elle démarre 1 à 2 jours après le début des signes cliniques. Le taux d'IgG est plus élevé que lors d'une infection primaire et persiste plus longtemps. Les IgM sont détectés à des taux plus faibles (8).

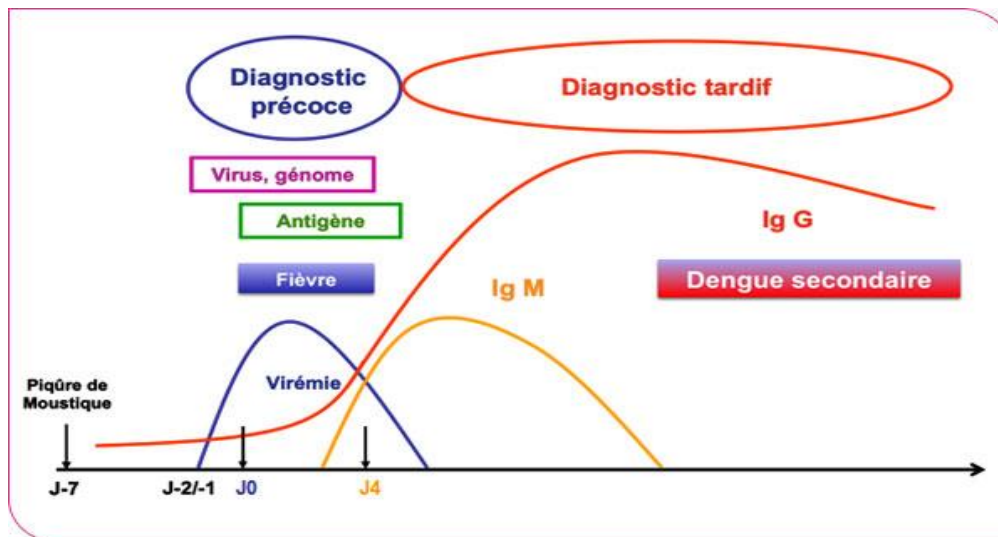


Figure 9 : cinétique des IgM et des IgG au cours d'une infection secondaire par le virus de la dengue (21).

Pour distinguer une dengue primaire d'une dengue secondaire, on utilise des techniques basées sur le calcul du ratio IgM/IgG spécifiques du virus (13).

Le diagnostic établi grâce à ces tests est plus tardif que celui utilisant les techniques de PCR. D'autre part, l'interprétation des résultats peut être compliquée par l'existence de réactions croisées avec d'autres agents pathogènes (autres flavivirus, dengue antérieure, paludisme, leptospirose...) (13).

### 2.3.3 Prise en charge

A ce jour, il n'existe aucun traitement antiviral spécifique de la dengue. La prise en charge repose sur une surveillance du patient et sur des traitements symptomatiques.

Un diagnostic précoce de la maladie, des interventions correctes et effectuées au bon moment assurent une prise en charge optimale, simple et peu coûteuse du patient. L'apparition de signes d'alarmes, de dengue sévère ou la détection de facteurs de risques (âges extrêmes, grossesse, co-morbidités associées) sont des éléments justifiant une prise en charge hospitalière. En cas de fuite plasmatique, il est primordial d'assurer une réhydratation précoce et soutenue du patient. Pour les sujets atteints d'une dengue sévère le maintien des fonctions vitales vient s'ajouter à toutes ces interventions.

On ne doit pas oublier de recommander au patient et à son entourage d'adopter des mesures de protection contre les piqûres de moustiques afin d'éviter une transmission du virus (13).

### 3. Épidémiologie

#### 3.1 Progression de l'incidence de la dengue

La dengue est une maladie qui a fortement progressé partout dans le monde ces dernières décennies. Son incidence a été multipliée par trente en cinquante ans. Le nombre de cas dengue déclarés chaque année auprès de l'OMS est passé de 400 000 en 1996 à 1,3 million en 2005 pour atteindre 2,2 million en 2010 et 3,2 million en 2015. Cependant les cas rapportés auprès de l'OMS ne reflètent pas la réalité. En effet, il existe une importante sous-notification et on estime que tous les ans 50 à 100 millions de cas symptomatiques surviennent dans le monde. Parmi ces cas 500 000 représentent des patients atteints de dengue sévère nécessitant une hospitalisation, avec une issue mortelle dans 2,5% des cas (21).

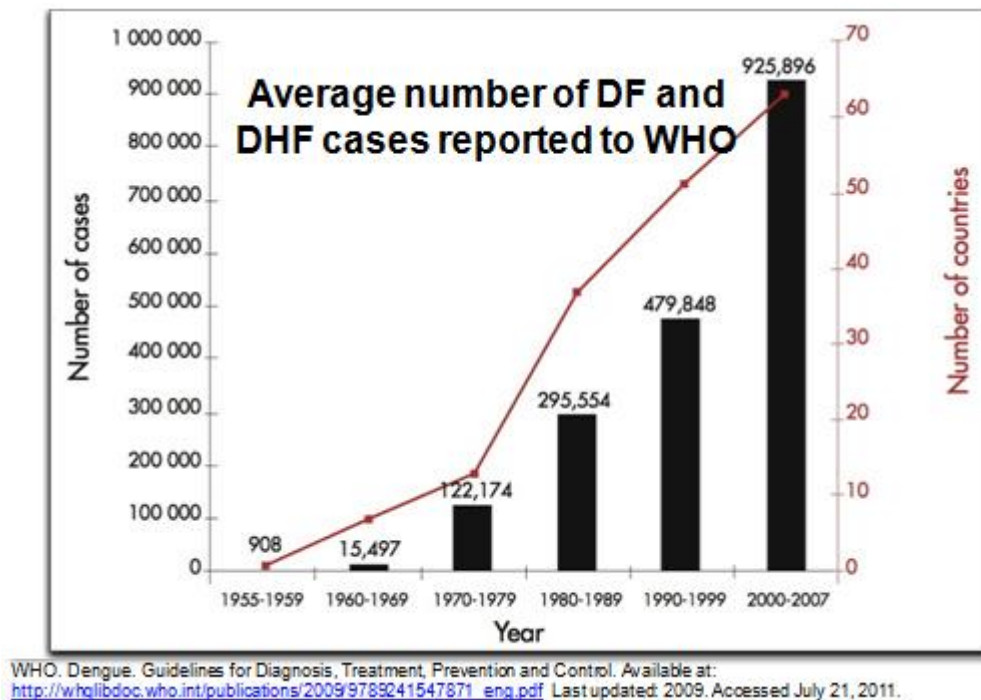


Figure 10 : évolution du nombre de cas de dengue dans le monde (14).

### 3.2 Expansion géographique de la maladie

La dengue a longtemps été limitée à l'Asie du sud-est, puis elle s'est propagée à l'océan Indien, dans le Pacifique, aux Antilles et à l'Amérique latine. Désormais la maladie est présente sous forme endémique dans plus d'une centaine de pays en Afrique, dans les Amériques, en Méditerranée orientale, en Asie du sud-est et dans le Pacifique occidental. La dengue est essentiellement présente dans les régions tropicales mais elle touche maintenant des régions plus au nord comme l'Europe ou l'Amérique du nord, du fait de l'implantation du moustique *Aedes albopictus*. Aujourd'hui, près de quatre milliards de personnes présentent un risque de développer la maladie dans 128 pays, soit plus de la moitié de la population mondiale (13) (22).

L'expansion mondiale de la dengue est notamment liée à la diffusion globale de ses vecteurs. *Aedes aegypti* est à l'origine une espèce sauvage d'Afrique qui se reproduisait dans les forêts indépendamment de l'homme. L'espèce s'est ensuite adaptée à l'environnement humain péri-domestique en se reproduisant dans des récipients de stockage de l'eau dans la région africaine. Les activités commerciales et l'esclavage ont introduit le moustique dans le nouveau monde. Il s'est par la suite répandu dans l'ensemble de la zone intertropicale. Le moustique reste cependant dans les limites géographiques correspondant aux isothermes de janvier et de juillet, car il ne survit pas aux faibles températures (23) (24).

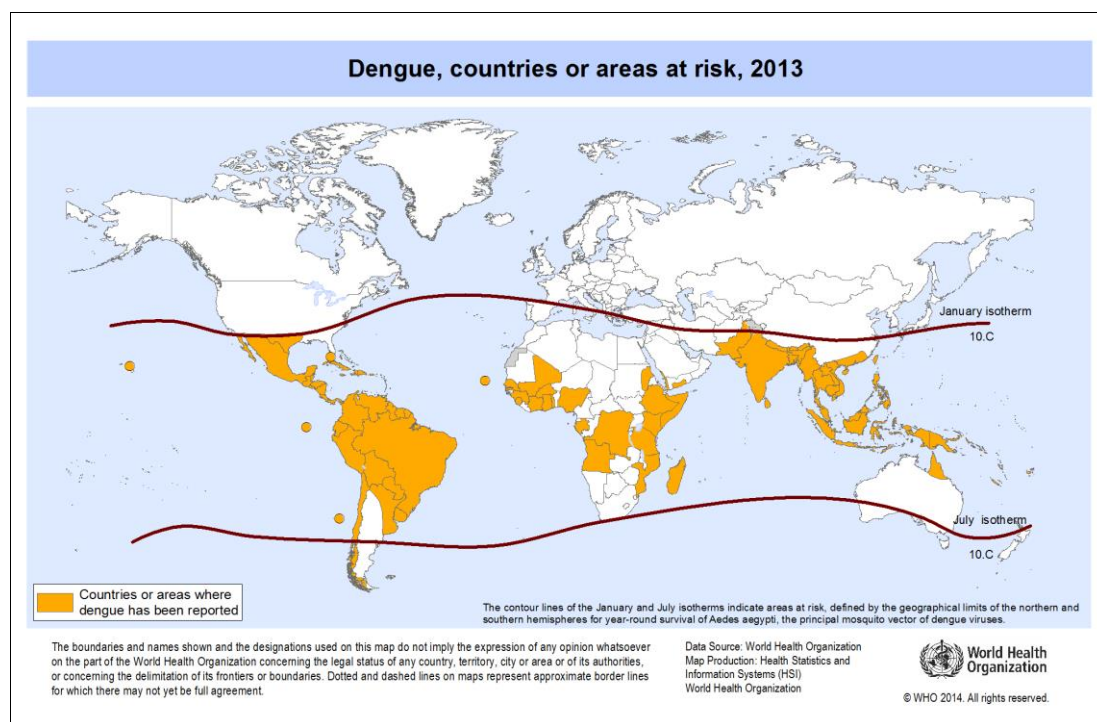


Figure 11 : Régions et pays à risque pour la dengue et aire de répartition d'*Aedes aegypti* (24).

*Aedes albopictus* est une espèce forestière originaire d'Asie qui s'est répandue dans les îles de l'océan indien et l'océan pacifique. Pendant les années 1980 il s'est rapidement étendu à l'Europe, aux États-Unis et au Brésil, notamment par le commerce de pneus usagés qui constituent des gîtes larvaires pour le moustique (23). Ce moustique a acquis une capacité à s'adapter à des températures fraîches grâce à un phénomène de diapause hivernale. Ses œufs peuvent résister à la dessiccation et aux températures basses pendant plusieurs semaines ou plusieurs mois. Il est également capable de vivre dans des écosystèmes très variés et peut se retrouver dans des zones rurales, urbaines et périurbaines (25).

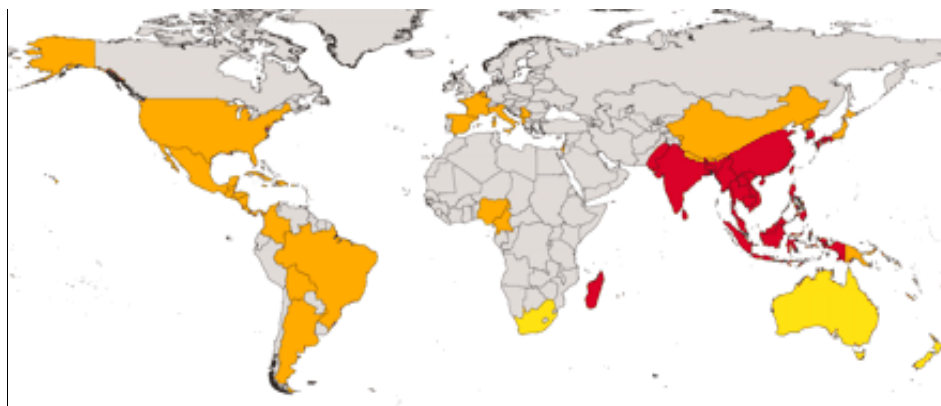


Figure 12 : aire de distribution globale d'*Aedes albopictus* (26).

En France métropolitaine le moustique *Aedes albopictus* s'est implanté sur le territoire depuis 2004. Initialement présent dans les départements du sud, il a maintenant étendu son implantation vers le nord et l'ouest. En mai 2017 *Aedes albopictus* était implanté dans 33 départements (27) (28).



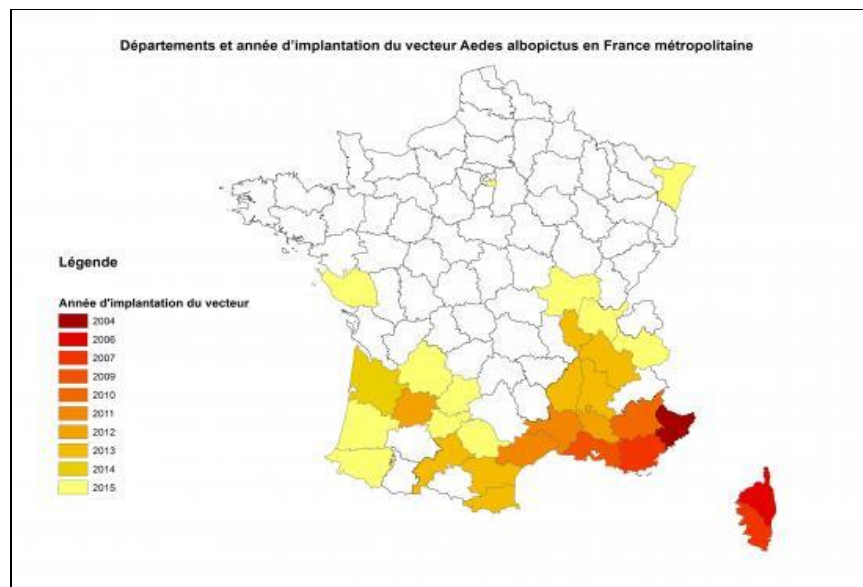


Figure 13 : Progression de l'implantation d'*Aedes albopictus* en France (27).

### 3.3 Progression des épidémies

A l'augmentation des cas de dengue, corrélée à la propagation géographique de la maladie, s'ajoute une intensification des épidémies de dengue et des flambées explosives. Avant 1970, seuls 9 pays avaient connu des épidémies de dengue sévère. La maladie est maintenant endémique dans plus de 100 pays.

En Europe, il existe désormais une menace de flambée de dengue et une transmission locale de la maladie a été rapportée pour la première fois en France et en Croatie en 2010. Des cas importés ont été détectés dans 3 autres pays européens. En 2012, l'archipel de Madère, au Portugal, a connu une flambée qui a provoqué plus de 2000 cas et des cas importés ont été détectés dans le pays et dans 10 autres pays européens.

En 2013, en Asie à Singapour une augmentation du nombre des cas a été enregistrée après une absence de signalements de plusieurs années.

En 2014, les cas de dengue ont augmenté en Asie et dans le Pacifique. Le sérotype 3 du virus a touché les îles du Pacifique après 10 d'absence. La dengue a été aussi signalée au Japon après une absence de plus de 70 ans.

En 2015, New Delhi (Inde) a connu la pire flambée de son histoire depuis 2006 avec plus de 15 000 cas signalés.

L'année 2016 a été marquée par d'importantes flambées de dengue dans le monde entier. Des millions de notifications ont été rapportées dans la Région des Amériques et le Brésil a lui seul a notifié un peu moins de 1,5 million de cas (environ 3 fois plus de cas qu'en 2014).

En 2017 des flambées de dengue ont été notifiées dans plusieurs pays de la Région du Pacifique occidental ainsi que la circulation des sérotypes 1 et 2 du virus (29).

## **PARTIE II**

### **DENGUE : MOYENS DE LUTTE**

## **PARTIE II**

### **1. Prophylaxie non vaccinale**

Avant la commercialisation d'un premier vaccin, les mesures de prophylaxie contre la dengue consistaient uniquement à lutter contre le vecteur responsable de la maladie ou à se protéger de ses piqûres. Les méthodes employées à cet effet visent soit à éliminer directement le moustique vecteur soit à limiter le contact entre l'homme et le vecteur.

#### **1.1 Protection personnelle antivectorielle (PPAV)**

La protection personnelle antivectorielle repose principalement sur :

- Le port de vêtements couvrants (hauts à manches longues, pantalons...), de couleurs claires, et dont le maillage est suffisamment serré pour empêcher les moustiques de piquer au travers.
- L'application de répulsifs cutanés :  
Les répulsifs sont des substances qui induisent un mouvement de retrait chez les arthropodes. Ces substances ont donc pour effet de limiter le contact homme-vecteur en repoussant les moustiques.

Les répulsifs sont appliqués sur toutes les parties du corps non couvertes, en évitant les muqueuses et les yeux. Leur durée de protection varie de 4 à 8 heures selon la nature de la substance active, sa concentration et les conditions d'utilisation (sudation, température, humidité ambiante, usage concomitant d'une crème solaire...). L'application est à renouveler après une baignade car le répulsif est éliminé par l'eau. L'utilisation de crèmes solaires diminue l'efficacité de protection des répulsifs. La crème solaire doit toujours être appliquée avant le répulsif cutané qui peut ensuite être utilisé après un délai minimum de 20 minutes (30).

Chez l'enfant et la femme enceinte l'usage de ces produits doit respecter un mode d'emploi précis. Chez l'enfant le répulsif ne doit pas être appliqué sur les mains.

Enfin, chez la femme allaitante le produit ne doit pas être appliqué au niveau du sein et un lavage des mains doit être réalisé avant la mise au sein (30).

Les répulsifs cutanés sont considérés comme des produits biocides et sont soumis à une autorisation de mise sur le marché (AMM). En France, une liste de répulsifs est fournie dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (Recommandations sanitaires pour les voyageurs) et par la Direction de la santé. Cette liste de substances actives comprend :

- le DEET (N<sub>1</sub>,N-diethyl-m-toluamide),
- le IR3535 (N-acétyle-N-butyle-β-alaninate d'éthyle),
- le KBR3023 (Carboxylate de Sec-butyle 2-(2-hydroxyéthyl) pipéridine-1/Icaridine),
- le PMDRBO (mélange de cis- et trans- para-menthane 3,8-diol ou 2-Hydroxy-α,α,4- trimethylcyclohexanemethanol).

Les conditions d'utilisation de ces produits sont résumées dans le tableau suivant :

Nombre maximal d'application(s) quotidienne(s)						
Substance active et concentration		A partir de 6 mois et tant que l'enfant ne marche pas	Dès que l'enfant marche et jusqu'à 24 mois	> 24 mois à 12 ans	> à 12 ans	Femmes enceintes
DEET (N <sub>1</sub> ,N-diethyl-m-toluamide)	20%	1	2	2	3	3
	30 à 50%			Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle  <i>Posologie en fonction des préconisations du fabricant</i>	<i>Posologie en fonction des préconisations du fabricant</i>	Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle  <i>Posologie en fonction des préconisations du fabricant</i>
IR3535 (N-acétyle-N-butyle-β-alaninate d'éthyle)	20%	1	2	2	3	3
	25 à 35%			2	3	
KBR3023 (Carboxylate de Sec-butyle 2-(2-hydroxyéthyl) pipéridine-1/ Icaridine)	20%			2	3	3
	25%			2	3	
PMDRBO (mélange de cis- et trans- para-menthane 3,8-diol ou 2-Hydroxy-α,α,4-trimethylcyclohexanemethanol).	19 à 20%	1	2	2	3	
	25%	1	2	2	3	

**Tableau 1 : répulsifs pour la protection contre les piqûres d'arthropodes (30)**

- L'utilisation de moustiquaires

L'efficacité d'une moustiquaire en journée pour se protéger des attaques de moustiques a prouvé son efficacité pour freiner la transmission de la maladie. La moustiquaire protège notamment les jeunes enfants qui ne marchent pas, les personnes alitées, les femmes enceintes, les personnes travaillant de nuit et qui dorment la journée...

La moustiquaire peut être imprégnée d'un insecticide. La perméthrine est la substance active couramment utilisée en imprégnation des tissus. En France la deltaméthrine n'est plus utilisable depuis le 30 septembre 2014 car aucune demande d'AMM n'a été déposée. Cependant, au cours de l'épidémie de Zika qui a sévit dans les départements français d'Amérique en 2016, l'Union Européenne a accordé une dérogation pour l'utilisation de moustiquaires imprégnées à la deltaméthrine longue durée (31).

- Autres méthodes : serpentins, diffuseurs électriques d'insecticides sont efficaces pendant les heures où le moustique est le plus actif (30).

Il est fortement recommandé de ne pas utiliser :

- les bracelets anti-insectes, même ceux imprégnés d'un répulsif efficace car ils n'ont qu'une action localisée aux alentours du bracelet et ne protègent pas d'une piqûre sur le reste du corps (30).
- les huiles essentielles en raison de leur durée d'action qui est insuffisante (inférieure à 20 minutes) (30)
- les appareils sonores à ultrasons (boîtiers, enregistrements sonores à télécharger sur l'ordinateur ou le portable). Ils ont été initialement conçus pour imiter le son du vol des moustiques mâles afin d'attirer les femelles. Cependant, plusieurs études ont montré que ceux sont les mâles qui sont en fait attirés par le son du vol des moustiques femelles. Ces dernières ont d'ailleurs une audition très faible par rapport aux mâles (32).

## **1.2 Lutte antivectorielle (LAV)**

La lutte antivectorielle a pour objectif le contrôle des populations de vecteurs moustiques responsables de la transmission de la maladie à l'homme. Elle permet d'éviter la prolifération des moustiques par des actions visant à supprimer les gîtes larvaires ou par des actions contre les moustiques adultes (13).

### **1.2.1 Suppression des gîtes larvaires**

Les gîtes larvaires peuvent être éliminés par diverses actions sur l'environnement ou par un effet larvicide induit grâce à des substances chimiques ou des organismes biologiques.

#### Les actions sur l'environnement :

Ces actions consistent à détruire, modifier, enlever ou recycler tous les récipients susceptibles de devenir des gîtes larvaires. Elles représentent la lutte antivectorielle mécanique.

Elles peuvent se concrétiser par la mise en place de systèmes de canalisation pour l'approvisionnement en eau des ménages afin de supprimer les récipients de stockage de l'eau. A défaut, l'ouverture de ces récipients de stockage doit être protégée (couvercle, grillages, billes de polystyrène). Tous les récipients pouvant contenir des eaux stagnantes doivent être régulièrement vidés et nettoyés (réservoirs d'eau, vases, soucoupes de pots de fleurs, gouttières...).

De nombreux gîtes larvaires proviennent de déchets solides non-biodégradables produits par l'activité humaine (vieilles bouteilles, boîtes de conserve, vieux pneus...) Une bonne gestion du stockage, de la collecte et de l'élimination des déchets est donc essentielle dans la suppression des gîtes larvaires. Les pneus usés doivent être collectés, recyclés ou éliminés par incinération.

Il faut aussi veiller à s'occuper de plantes se trouvant à proximité des habitations et pouvant retenir l'eau à l'aisselle de leurs feuilles (14).

### Les substances chimiques larvicides :

L'épandage de substances larvicides est pratiqué en complément des actions sur l'environnement lorsque la suppression des gîtes larvaires n'est pas possible. Les substances utilisées ne devraient pas altérer de façon significative le goût, l'odeur, la couleur de l'eau et elles devraient être faiblement toxiques pour d'autres espèces. Les eaux traitées peuvent servir à l'usage domestique et notamment à l'eau de boisson, des réticences à l'utilisation de ces substances sont donc possibles (14).

Parmi les produits utilisés on trouve :

- des substances de la famille des organophosphorés comme le chlorpyrifos. Le téméphos, qui a longtemps constitué un produit-phare de la lutte anti-larvaire n'est désormais plus autorisé. Globalement le recours aux organophosphorés a été abandonné car ces produits présentent des niveaux de résistance très élevés (33).
- des régulateurs de croissance tels que le diflubenzuron et le pyriproxifène. L'intérêt de ces produits est leur rémanence qui peut durer plusieurs semaines. Cependant ils ne sont pas sélectifs et agissent sur de nombreux insectes. Il est donc préférable de les employer pour des gîtes artificiels (33).

### Les organismes biologiques larvicides :

Les organismes biologiques utilisés sont en fait des prédateurs, des parasites ou des organismes qui entrent en compétition avec le vecteur ou parviennent à réduire la densité de moustique autrement. Dans ce groupe de larvicides on compte des poissons, des copépodes (crustacés) et des bactéries.

- Des poissons larvivores peuvent être relâchés dans des grands bassins, des réservoirs de stockage d'eau potable, des puits... Seul des poissons autochtones peuvent être utilisés (14).
- Des copépodes (petits crustacés d'eau douce) prédateurs ont été utilisés dans certains programmes de lutte antivectorielle et ont démontré leur efficacité dans l'élimination des moustiques vecteurs de la dengue (14).



- Des bactéries ont un effet toxique sur les larves de moustiques qui les ingèrent. Le Bti (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) est une formulation de bactéries larvicides largement utilisée pour tout type de gîtes naturels ou artificiels (33).

### **1.2.2 Action sur les moustiques adultes**

La lutte contre les moustiques adultes est délicate car les substances adulticides dont on dispose ne sont pas sélectives. A l'heure actuelle il n'existe qu'une seule famille d'insecticides autorisée, celle des pyréthrinoïdes qui comprend des substances comme la perméthrine et la deltaméthrine. Malheureusement l'emploi massif et continu de la deltaméthrine a engendré une résistance des moustiques envers ce produit et une diminution de son efficacité (33). En France l'usage de ce produit a été délaissée car il n'a fait l'objet d'aucune demande d'AMM. Il n'est donc plus autorisé à la vente depuis 2014.

En matière de lutte antivectorielle, l'élimination mécanique des gîtes larvaires et la protection individuelle sont les solutions à privilégier. Lorsque des produits biocides sont utilisés, les traitements larvicides doivent être priorisés. Les traitements adulticides sont des mesures qui doivent être employées ponctuellement afin d'éviter la propagation de la maladie autour des foyers de contamination dans un cadre bien défini, et en fonction du contexte épidémiologique et des conditions locales (34).

### **1.2.3 Perspectives futures**

L'utilisation de substances biocides occupe une grande place dans la lutte antivectorielle mais elle suscite de nombreuses interrogations liées notamment au problème du respect de l'environnement, à l'émergence de phénomènes de résistances...

Ces dernières années, le panel des molécules biocides insecticides a énormément diminué. Certaines substances actives ont été retirées du marché en raison de leur profil toxicologique mais aussi pour des raisons économiques. Il est désormais difficile d'alterner entre les produits biocides utilisés pour diminuer les phénomènes de résistance. L'Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation et de l'Environnement et du

travail (ANSES) a donc engagé des travaux pour évaluer et identifier certaines substances actives qui pourraient représenter des molécules alternatives à la deltaméthrine. Certaines substances ont suscité un réel intérêt mais elles pourraient présenter des risques pour les organismes non cibles de l'environnement. (34).

Des moustiques génétiquement modifiés ont pu être produits au cours de ces dernières années. Ils expriment par exemple des gènes qui rendent la descendance non viable. Des chercheurs ont déjà procédé à des lâchers de moustiques génétiquement modifiés au Brésil, dans les îles Caïmans et au Panama. Les scientifiques estiment que les résultats sont très encourageants (35). Des essais ont aussi été effectués avec des moustiques mâles stérilisés par irradiation et relâchés ensuite massivement dans la nature.

Une autre technique consiste à utiliser des moustiques mâles porteurs de la bactérie du genre *Wolbachia* qui empêche le virus de se répliquer à l'intérieur de l'insecte. Lorsque des femelles sauvages s'accouplent avec des mâles infectés, la bactérie *Wolbachia* est transmise à la descendance. Après des lâchers massifs de moustiques infectés, la plupart des moustiques seront porteurs de la bactérie *Wolbachia* et ne pourront plus transmettre le virus de la dengue (35).

### **1.3 Surveillance de la dengue et éducation de la population**

La prophylaxie de la dengue nécessite également la mise en place de systèmes de surveillance de la maladie ainsi qu'une éducation de la population. La surveillance va permettre un suivi des malades et des moustiques vecteurs notamment pour mettre en place des actions rapides et adaptées à la situation.

Le moustique *Aedes albopictus* s'est implanté dans le sud de la France depuis 2004 et son implantation n'a cessé de progresser. Face au risque de transmission de la dengue représenté par la présence du moustique en Métropole, un plan national anti-dissémination du chikungunya et de la dengue a été élaboré. Ce plan prévoit la mise en place d'un dispositif de lutte contre *Aedes Albopictus* en métropole et de surveillance des arboviroses transmises par le vecteur. Il faut noter que depuis 2016, la surveillance du virus Zika a été ajoutée au dispositif (28, 36).

### **1.3.1 Surveillance entomologique**

Les réseaux de surveillance entomologiques sont chargés de suivre l'évolution de la distribution géographique des populations de moustiques vecteurs. Des enquêtes sont réalisées pour déterminer la densité vectorielle dans certaines zones stratégiques ciblées. On obtient ainsi des informations permettant de suivre en continu la densité vectorielle des moustiques afin de détecter les aires ou les périodes de fortes densités vectorielles, les zones où le moustique n'est plus présent, les nouvelles zones d'infestations... (14).

Ces données facilitent la prise de décisions appropriées et la mise en œuvre de mesures pour ralentir l'implantation et la propagation des moustiques. Elles permettent également d'évaluer l'efficacité des programmes de lutte antivectorielle existants. Enfin ces informations sont aussi utiles pour évaluer la sensibilité des vecteurs aux insecticides (14).

En France, le dispositif de lutte contre *Aedes Albopictus* en métropole et de surveillance des arboviroses est activé chaque année du 1er mai au 30 novembre.

Au niveau entomologique il consiste notamment à surveiller l'activité du moustique dans les zones où il est présent ou susceptible de s'implanter afin d'agir le plus rapidement pour ralentir la progression de son implantation géographique. En complément de cette surveillance entomologique, un site de signalement de la présence de moustiques tigres a été mis en place pour les particuliers (36).

### **1.3.2 Surveillance épidémiologique**

C'est une surveillance effectuée sur la population humaine, elle vise à détecter les cas suspects et confirmés de dengue chez l'homme.

La surveillance épidémiologique est réalisée à partir du recueil des données suivantes :

- cas suspects de dengue et de dengue sévère (la suspicion est clinique : le malade présente certains signes cliniques définis);
- cas confirmés de dengue et de dengue sévère (la confirmation est réalisée par un diagnostic biologique);
- sérotypes des virus circulants (DENV-1,-2,-3 ou -4);
- nombre de cas de décès dus à la dengue ou à la dengue sévère;
- nombre de cas de décès parmi les cas de dengue sévère suspectés ou confirmés (37).

En France métropolitaine, la surveillance des cas humains est réalisée par la déclaration obligatoire (DO) des cas de dengue confirmés biologiquement dans l'ensemble du territoire métropolitain. Dans les zones où le moustique est implanté et où il existe un risque de transmission locale du virus, un dispositif de signalement précoce des cas suspects cliniques s'ajoute à cette DO. Lorsqu'il s'agit de cas suspects importés (personnes revenant d'un voyage dans une zone de circulation du virus) le signalement doit être effectué sans attendre de confirmation biologique (28).

Un cas suspect de dengue se définit comme un malade « ayant présenté une fièvre > à 38,5°C d'apparition brutale et au moins un signe parmi les suivants : céphalées, arthralgies, myalgies, lombalgies, ou douleur rétro-orbitaire, sans autre point d'appel infectieux » (28).

Un cas suspect est confirmé par un diagnostic biologique réalisé suivant les recommandations prévues par le plan ministériel anti-dissémination du chikungunya et de la dengue :

- Jusqu'à 5 jours après le début des signes cliniques : pratiquer une RT-PCR
- Entre J5 et J7 : pratiquer une RT-PCR et un diagnostic sérologique
- Après J7 : diagnostic sérologique uniquement (IgG et IgM) à confirmer par un second prélèvement à réaliser au plus tôt 10 jours après le premier prélèvement (21).

Un cas importé concerne un malade ayant séjourné en zone de circulation connue du virus dans les 15 jours qui précèdent le début des symptômes cliniques (28).

Un cas autochtone concerne un sujet n'ayant pas séjourné en zone de circulation connue du virus dans les 15 jours qui précèdent le début des symptômes (38).

Il est de la responsabilité du médecin ou du biologiste responsable du laboratoire de biologie médicale de signaler sans délai tous les cas suspects ou confirmés à la plateforme régionale de veille et d'urgences sanitaires de l'ARS (Agence Régionale de Santé). Le signalement s'effectue par tout moyen et de préférence au moyen d'un formulaire de signalement (voir annexe). Celui-ci est disponible auprès des ARS et des CIRE (Cellule Inter-Régionale d'Epidémiologie) concernées ainsi que de l'InVS (Institut national de Veille sanitaire).

Le signalement de cas suspects importés et de cas confirmés dans les zones où la présence du moustique est avérée déclenche la mise en œuvre de mesures de démoustication autour du domicile du malade, ainsi que le renforcement de la protection individuelle autour des cas recensés afin d'éviter la transmission de la maladie à d'autres personnes. Pour les cas suspects importés et les cas probables autochtones, les mesures de démoustication sont mises en place avant que le diagnostic ne soit confirmé (36).

### **1.3.3 Education sanitaire de la population**

Il est nécessaire d'intégrer pleinement la population à la stratégie de lutte antivectorielle pour réussir à se protéger efficacement de la dengue.

Les professionnels de santé doivent être informés, notamment ceux qui sont impliqués dans la surveillance humaine de la maladie (médecins, biologistes...).

La sensibilisation de la population est primordiale pour éviter la prolifération des moustiques vecteurs. Elle doit être notamment informée des gestes visant à supprimer les gîtes larvaires et des différents moyens de se protéger des piqûres de moustique. En France, le dispositif de lutte contre *Aedes albopictus* et de surveillance des arboviroses prévoit de sensibiliser les touristes et les personnes résidants dans les régions où le moustique est présent et actif par des actions d'information et de communication menées tout au long de la période estivale (36).



Figure 14 : campagne d'information du public sur l'élimination des gîtes larvaires (39).

## 2. Rappels sur la réponse immunitaire et la vaccination

### 2.1 Le système immunitaire

Le système immunitaire a pour fonction de protéger l'individu lors de l'intrusion d'un agent étranger dans l'organisme. On distingue l'immunité innée de l'immunité adaptative.

- Le système immunitaire inné

Il est mis en place très rapidement et implique la mise en jeu d'éléments variés comme la barrière cutanéomuqueuse, des mécanismes de phagocytose, la réaction inflammatoire, la mise en jeu du système du complément. Il nécessite la mobilisation de nombreuses cellules (cellules phagocytaires, natural killer [NK], endothéliales ...), des molécules solubles (les cytokines, protéines du complément, protéines inflammatoires...)

A la différence du système immunitaire adaptatif, le système inné n'est pas spécifique et ne fait pas intervenir de cellules mémoires. Cependant il joue un rôle essentiel dans l'activation de la réponse adaptative. En effet certaines cellules phagocytaires sont capables de présenter des molécules antigéniques aux lymphocytes T qui sont alors activés (figure 15).

- La réponse immunitaire adaptative

Elle se met en place secondairement après la réponse immunitaire innée mais elle est spécifique d'un agent infectieux déterminé. Elle implique la participation de lymphocytes T, responsables de la réponse immunitaire cellulaire et de lymphocytes B, impliqués dans la réponse immunitaire humorale.

Les lymphocytes T et B sont activés par des antigènes présents soit sur l'agent infectieux lui-même, soit sur des cellules présentatrices d'antigènes ou sur des cellules ayant été infectées. Après activation ces différents lymphocytes se multiplient et se différencient pour certains.

Dans la population des lymphocytes T on a :

- Des lymphocytes T cytotoxiques (TCD8) qui reconnaissent des antigènes présents sur des cellules infectées et peuvent ensuite détruire ces cellules.

- Des lymphocytes T auxiliaires (TCD4) qui reconnaissent des antigènes présents sur des cellules présentatrices d'antigènes. Ils agissent en sécrétant des cytokines qui auront différentes actions comme la stimulation de cellules phagocytaires, de lymphocytes TCD8 qui élimineront ensuite les cellules infectées. Les lymphocytes TCD4 peuvent se différencier en lymphocytes TH1 et TH2. Les cellules TH2 ont la capacité d'activer la prolifération, la différenciation des lymphocytes B et leur production d'anticorps (figure 15).

Les lymphocytes B peuvent :

- Se différencier en plasmocytes capables de sécréter des immunoglobulines (anticorps) solubles spécifiques d'un antigène. Un complexe anticorps-antigène est formé, et l'agent infectieux pourra par la suite être neutralisé ou phagocyté (figure 15).

Après avoir éliminés les agents pathogènes, ces lymphocytes T et B activés meurent par apoptose. Cependant une sous population de lymphocytes T et B mémoires seront produits et vont perdurer. Au cours d'une prochaine infection par un même agent pathogène ces cellules mémoires seront activées très rapidement et de manière plus efficace.

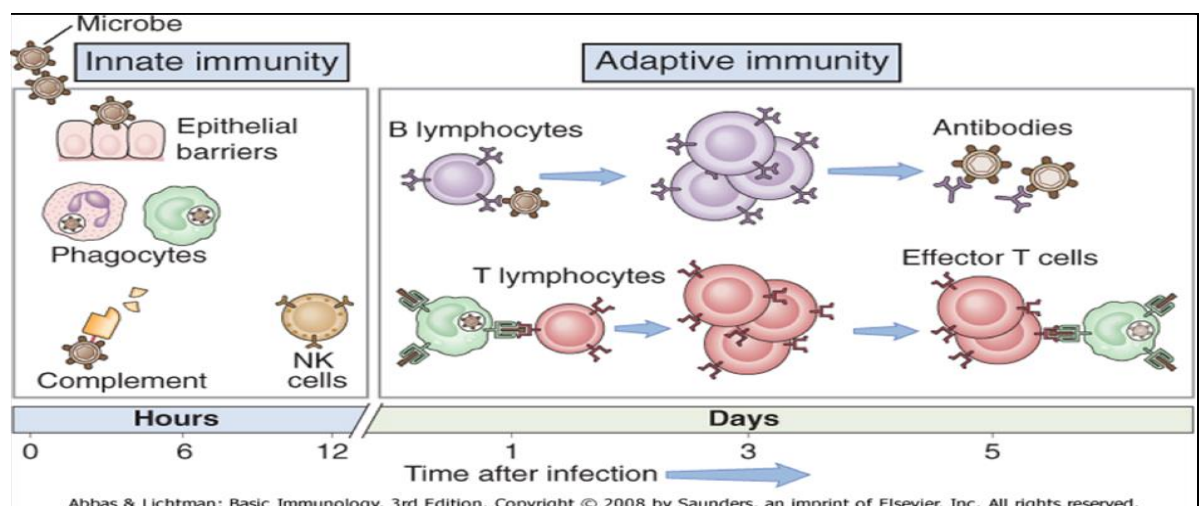


Figure 15 : Réponse immunitaire innée et adaptative (40)



## **2.2 Principe de la vaccination et types de vaccins**

### **2.2.1 La vaccination : principe**

Le principe de la vaccination a été établi par Edward Jenner et ensuite développé de manière rationnelle par Louis Pasteur et son école.

La vaccination consiste à introduire dans l'organisme une préparation antigénique dérivée ou proche d'un agent infectieux déterminé. L'agent administré a une virulence diminuée et ne provoque pas de maladie grave. Cependant il est capable d'induire une réponse immunitaire spécifique conduisant à la production de lymphocytes T et B mémoires. Au cours d'une infection naturelle post-vaccinale, ces cellules mémoires seront stimulées et produiront une réponse immunitaire rapide et efficace pour protéger l'individu.

### **2.2.2 Les différents types de vaccins**

Les vaccins peuvent être composés d'une bactérie ou d'un virus entier ou seulement d'un fragment d'agent pathogène (antigènes bactériens capsulaires ou membranaires, fraction de particules virales). D'autres agents vaccinaux sont seulement des protéines (anatoxine, exotoxine). Des antigènes peuvent aussi être obtenus par génie génétique.

On distingue des vaccins vivants constitués d'un agent infectieux dont la virulence a été atténuée mais dont la viabilité a été maintenue. A l'inverse il existe des vaccins inertes incapables de se répliquer.

#### ○ Les vaccins vivants :

Ces vaccins sont composés d'un agent infectieux, complet et vivant, capable de se multiplier dans l'organisme. Ce type de vaccin est obtenu par deux voies principales :

- A partir d'un agent pathogène naturel existant dont la virulence a été diminuée par plusieurs passages sur un hôte non naturel ou un milieu peu favorable.

- Les vaccins chimères composés d'agent infectieux atténués créés par génie génétique. Ceux sont des vaccins recombinants obtenus en introduisant des gènes d'un agent pathogène donné dans le génome d'un agent infectieux atténué. Le Dengvaxia® a été obtenu suivant ce procédé.
- Les vaccins inertes :

Ils sont composés d'agents infectieux incapables de se multiplier. Dans ce groupe on trouve :

  - Des agents infectieux entiers, inactivés par différents procédés chimiques ou physiques.
  - Des fractions antigéniques d'un agent pathogène (particules virales fractionnées, antigènes capsulaires ou membranaires) ou des toxines.

Les vaccins vivants atténués ont l'avantage d'induire une réponse immunitaire proche de celle visible au cours d'une infection naturelle. Elle met en jeu la réponse innée, la réponse adaptative humorale et cellulaire T CD4 et CD8.

Les vaccins inactivés induisent une réponse essentiellement de type anticorps associée aux lymphocytes TH2 pour obtenir une réponse des lymphocytes B optimale.

Les vaccins à base de fractions antigéniques induisent majoritairement la production d'anticorps (41).

### **2.2.3 Composition des vaccins**

En dehors de l'agent antigénique qui possède des propriétés immunogènes, un vaccin contient d'autres substances ayant des actions diverses. Certains produits visent à garantir la stabilité du vaccin (lactose, saccharose, glycine, albumine...) ou sa conservation en évitant la prolifération bactérienne ou fongique.

Des adjuvants peuvent également être ajoutés afin d'augmenter l'immunogénicité des préparations vaccinales. C'est notamment le cas des vaccins inactivés, qui sont des produits plus purifiés ce qui limite leurs propriétés immunogènes.

De nombreux adjuvants de nature diverse existent, leur mode d'action est aussi très variable. Ainsi des adjuvants classiques (à base d'alun, de lipide) permettent un relargage progressif de l'antigène, une meilleure prise en charge par les cellules présentatrices d'antigène et une réponse immunitaire innée plus efficace. Certains adjuvants sont des protéines couplées à l'antigène vaccinal. Ce couplage permet par exemple d'activer les lymphocytes TCD4 qui stimuleront ensuite la réponse des lymphocytes B (vaccin du pneumocoque). Les adjuvants de type agonistes des Toll-Like Receptors (TLR) sont utilisés pour leur rôle majeur dans la maturation des cellules dendritiques (41) ...

### **3. Le vaccin CYD-TDV, Dengvaxia®**

#### **3.1 Difficultés spécifiques au développement d'un vaccin contre la dengue**

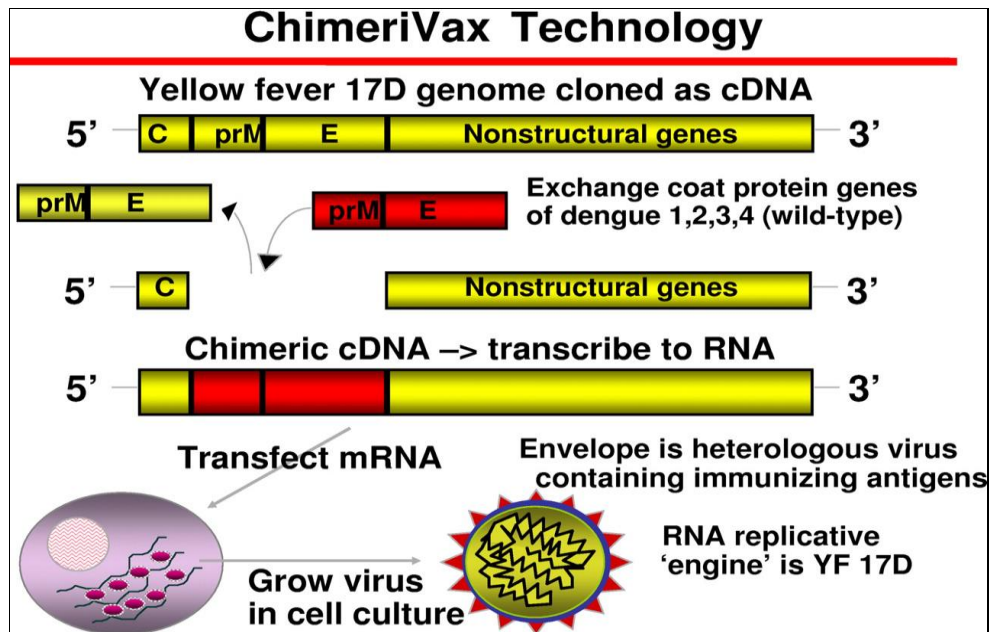
L'expansion géographique de la dengue, l'augmentation de son incidence et les limites de la lutte antivectorielle, ont suscité un vif intérêt et un réel espoir de la part des organismes de santé publique, pour la mise au point d'un vaccin contre la dengue. Les chercheurs ont commencé à travailler à l'élaboration d'un vaccin contre la dengue dès les années 1940. Des vaccins contre d'autres *Flavivirus* comme le vaccin anti-amaril ou le vaccin contre l'encéphalite japonaise ont pu être mis au point. Cependant pour la dengue, les nombreuses difficultés rencontrées dans les différentes étapes du développement ont retardé la mise au point d'un vaccin.

##### **3.1.1 Construction d'un vaccin unique actif sur quatre sérotypes différents**

Un des premiers défis dans la mise au point d'un vaccin contre la dengue réside dans l'existence de quatre sérotypes du virus. Comme nous l'avons décrit précédemment, ces quatre sérotypes viraux constituent chacun une

entité virale distincte possédant chacune des propriétés antigéniques différentes. De plus ils peuvent induire des phénomènes d'immunité hétérologue au cours d'une seconde infection et être à l'origine d'une dengue sévère. Les chercheurs ont donc pensé à mettre au point un vaccin qui induise simultanément une réponse immunitaire protectrice efficace contre les quatre sérotypes du virus de la dengue, en concevant des vaccins tétravalents.

Le CYD-TDV est un vaccin vivant atténué tétravalent chimérique. Il utilise la technologie chimeriVax, originaire de l'Université de St Louis et développée pour l'élaboration d'un vaccin pour l'encéphalite japonaise (42). Le vaccin contre la dengue a été construit à partir du virus de la fièvre jaune, c'est la souche vaccinale YF 17D qui a été utilisée. Les gènes codant pour les protéines structurales prM et E du virus de la fièvre jaune ont été substitués par ceux du virus de la dengue. On obtient un vaccin chimère fièvre jaune/dengue (CYD) (voir figure 15). Quatre vaccins chimériques correspondant à chacun des différents sérotypes du virus de la dengue ont été construits. Ils ont ensuite été combinés dans une même préparation vaccinale (43).



Construction du vaccin chimère de la dengue à partir de l'ADNc (ADN complémentaire) du virus de la fièvre jaune (ici de couleur jaune).

Les gènes des protéines de surface prM et E de cet ADNc sont remplacés par les gènes prM et E du virus de la dengue (de couleur rouge). On obtient un ADN chimérique fièvre jaune/dengue. L'ADN chimère est transcrit en ARN qui est ensuite transféré dans des cultures cellulaires. Elles vont produire des virus chimères qui seront introduits dans le vaccin.

**Figure 16 : Construction d'un vaccin chimérique tétravalent (44)**

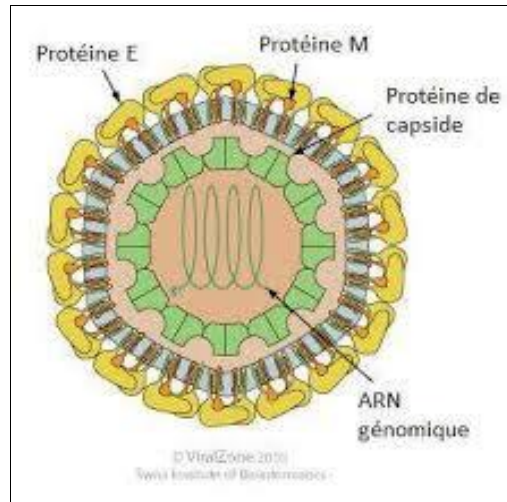
Chaque sérotype viral du vaccin chimérique a été cultivé sur cellules Vero avec un milieu sans sérum ni aucun produit d'origine animale et produit à haut titre. Les gènes des protéines prM et E proviennent de différentes souches virales de type sauvage qui n'ont subi aucune modification.

La construction d'un vaccin tétravalent chimérique a constitué une première étape dans la mise au point d'un vaccin contre la dengue. Mais la nature du vaccin obtenu présente certaines caractéristiques qui pourraient influencer sur l'efficacité et la sécurité du produit.

#### *Les protéines antigéniques du vaccin*

Le Dengvaxia® est un vaccin élaboré à partir des protéines structurales du virus de la dengue (protéine pré-membranaire prM et protéine d'enveloppe E). Comme nous l'avons vu auparavant ces protéines se trouvent à la surface de la particule virale et représentent des cibles majeures pour les anticorps produits au cours de la réponse humorale. Ceux sont donc les

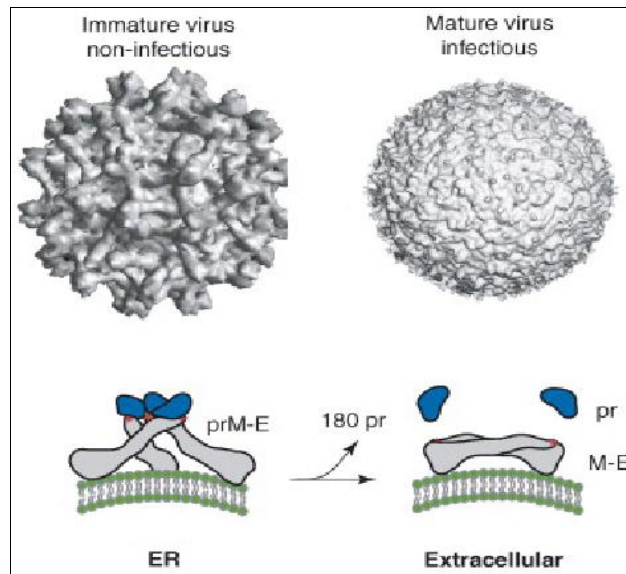
protéines structurales prM et E incluses dans la préparation vaccinale qui doivent induire une réponse immunitaire post-vaccinale.



Protéines de surface M et E du virus de la dengue présentes dans le vaccin CYD-TDV. Elles devront induire une réponse immunitaire après vaccination.

**Figure 17 : virus de la dengue et ses protéines de surface M et E.**

- La protéine pré-membranaire prM est présente à la surface du virus dans sa forme immature. Le clivage de la protéine prM après son passage dans l'appareil de Golgi produira la protéine M du virus mature. Or le clivage de la protéine prM n'est pas optimal et une partie des virus sécrétés par les cellules infectées sont en fait des virus immatures reconnus par des anticorps humains.



A gauche forme immature du virus de la dengue avec à sa surface la protéine prM. Le clivage de la protéine prM donne une protéine M présente à la surface du virus mature.

**Figure 18 : formes immature et mature du virus de la dengue (46)**

Les Ac anti-prM sont généralement non neutralisants, ils ont la capacité de réagir de façon croisée avec d'autres sérotypes viraux et ont un fort potentiel facilitant.

Rappelons également que les complexes immuns formés par ces anticorps et les virus immatures sont reconnus par les cellules possédant un récepteur Fc. Les complexes immuns sont ensuite internalisés dans les cellules qui se retrouvent alors elles aussi infectées par le virus de la dengue.

Les anticorps anti-prM pourraient donc être impliqués dans la pathogénèse en participant au phénomène d'ADE. Il serait donc plus intéressant de développer des vaccins pour lesquels la production d'anticorps anti-prM soit limitée (47). Mais d'après les études menées par le laboratoire produisant le Dengvaxia<sup>®</sup>, leur vaccin chimère génèrerait une réponse immunitaire humorale majoritairement dirigée contre la protéine d'enveloppe E et la réponse anti-prM serait minoritaire (43).

- La protéine E est le principal antigène exposé à la surface du virus, c'est la cible d'anticorps neutralisants. La glycoprotéine E comprend une région

transmembranaire et un ectodomaine divisé en trois domaines DI, DII (qui contient la boucle de fusion) et DIII.

Chez la souris on a observé que les anticorps dirigés contre le domaine DIII avaient un haut pouvoir neutralisant et étaient sérotype spécifiques. Cependant chez l'homme ces anticorps anti-DIII ne représentent qu'une faible proportion des anticorps induits au cours de la réponse humorale et sont donc peu impliqués dans l'activité neutralisante spécifique. Le domaine DIII n'est donc pas immunodominant chez l'homme.

En fait les anticorps neutralisants humains reconnaissent principalement la région charnière DI/DII de la protéine E (48). Dans la région DII, la boucle de fusion FL est une cible majeure pour les anticorps. Cependant comme c'est une région hautement conservée au sein des quatre sérotypes viraux de la dengue, les anticorps anti-FL ne sont pas sérotype spécifiques, ils ont une activité faiblement neutralisante et un potentiel élevé pour induire des phénomènes d'ADE (46, 49).

Les études récentes ont aussi mis en évidence qu'une grande majorité des anticorps neutralisants sérotype spécifiques étaient capables de se lier au virus entier. Ces anticorps reconnaissent des épitopes de structure quaternaire complexes situés sur tout le virus et sur d'autres protéines comme la protéine de surface E (48). Il est donc nécessaire de préserver les structures quaternaires dans les vaccins contre la dengue (50).

Globalement la plupart des anticorps produits après une infection sont faiblement neutralisants et ne sont pas sérotypes spécifiques (48). Il est donc possible que les anticorps dirigés contre les protéines E du vaccin soient pour la plupart non sérotypes spécifiques et faiblement neutralisants. Des recherches sont encore nécessaires pour localiser et identifier les épitopes de la protéine E, ciblés par des anticorps neutralisants et sérotypes spécifiques.



- Les protéines non structurales du virus n'étant pas exprimées, elles ne sont pas censées entrer en jeu dans la réponse vaccinale. Or de récentes études ont montré que les lymphocytes TCD8+ ont principalement pour cible des épitopes localisés sur les protéines non structurales NS3 et NS5. Ces données soulignent le rôle important des protéines non structurales du virus dans la réponse immunitaire à médiation cellulaire au cours d'une infection naturelle.

Les lymphocytes TCD4+, quant à eux, ciblent majoritairement des épitopes situés sur la protéine d'enveloppe E, la capsid et la protéine NS1. Mais ils interagissent *in vivo* avec les lymphocytes B et contribuent ainsi à la production d'anticorps et à la clairance du virus (51). L'absence de protéines non structurales pourrait donc constituer une limite dans la capacité du vaccin à induire une réponse immunitaire cellulaire protectrice de qualité.

#### *Les souches virales utilisées pour la préparation du vaccin*

Le choix d'une souche virale de référence fait partie des points sensibles touchant au développement préclinique. La souche à utiliser pour la formulation d'un vaccin doit être standardisée mais par ce procédé de standardisation, les souches du vaccin risquent de ne plus être représentatives des souches sauvages (52). Or les virus de la dengue se caractérisent par une grande variabilité génétique tant au niveau spatial que temporel. De plus, les vaccins actuels ont été élaborés à partir de virus prototypes anciens datant des années 1980. Ainsi les souches virales collectées lors du développement du vaccin pourraient ne plus correspondre aux souches circulantes aujourd'hui (53).

#### *Interférences éventuelles entre les différents sérotypes viraux du vaccin*

Naturellement un individu est infecté successivement par un sérotype viral après l'autre. Lorsque les quatre sérotypes viraux sont administrés en une seule fois dans une même formulation, des interférences entre les différents virus pourraient se produire.

Des vaccins induisant une immunité pour différents sous types viraux existent déjà, cependant pour certains d'entre eux on a parfois observé des interférences entre les divers types viraux présents dans la préparation. Ce fut notamment le cas du vaccin polio oral trivalent contenant trois sérotypes différents du virus polio. Ces interférences virales se sont traduites par une diminution des taux de séroconversion dans la formulation trivalente par rapport à la formulation monovalente. Ce problème a été résolu en réduisant la concentration du sérotype viral dominant en termes de virémie, et de séroconversion. Il a fallu également administrer 3 doses de vaccin pour que le sérotype 3 atteigne des taux de séroconversion acceptables (54). Dans le cas de la dengue, au risque d'interférence s'ajoute le risque d'aggravation de la maladie après exposition d'un individu à un virus de sérotype différent, qui pourrait provoquer l'apparition de symptômes graves de la dengue. L'hypothèse émise lors de l'élaboration des vaccins tétravalents est que chaque sérotype viral agirait indépendamment, sans interférence, pour fournir chacun une solide protection immunitaire homotypique.

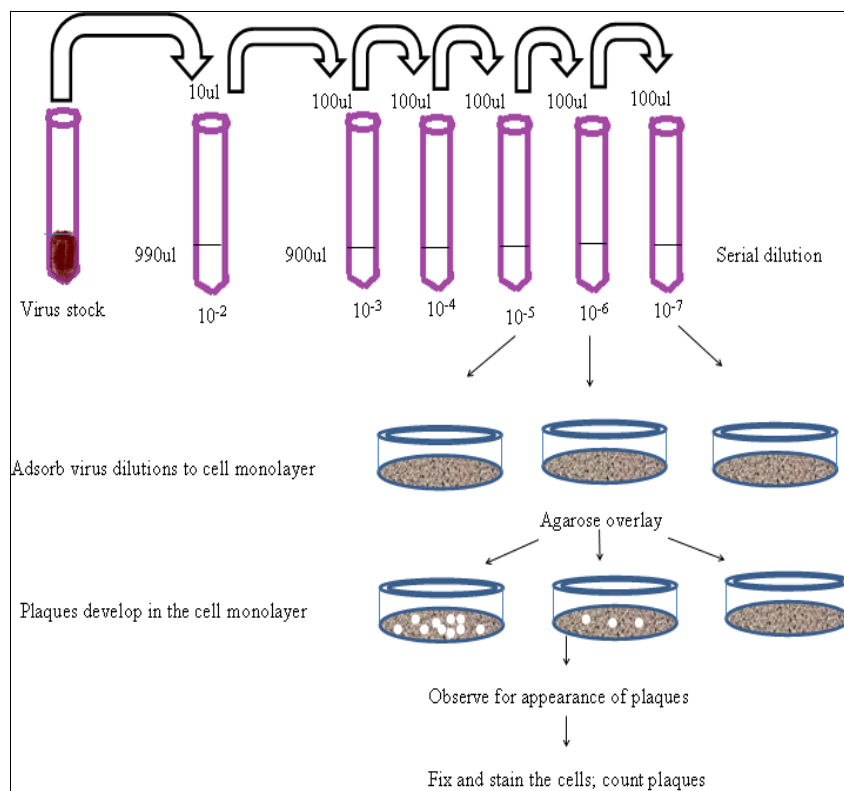
### **3.1.2 Absence de corrélat de protection pour l'étude de l'efficacité des vaccins**

#### *Le test de neutralisation PRNT*

Actuellement l'efficacité des candidats vaccins contre la dengue est évaluée au moyen du test de réduction des plages de lyse (PRNT). Il est considéré par l'OMS comme le test de référence pour quantifier le taux d'anticorps neutralisants spécifiques à chacun des quatre sérotypes du virus de la dengue (43).

Le test est réalisé à partir d'un échantillon de sérum dilué puis mélangé à une suspension virale. Le mélange est ensuite coulé sur une monocouche de cellules et mis en incubation. Chaque particule infectieuse produit une zone circulaire (appelée plaque) sur la monocouche cellulaire, lorsqu'elle est neutralisée par les anticorps présents dans le sérum. Le pouvoir

neutralisant du sérum est défini par la dilution qui neutralise 50% ou 90% de la suspension de virus ajoutée (55).



Test PRNT réalisé à partir d'un échantillon de sérum dont on veut déterminer le taux d'Ac anti-dengue. L'échantillon est dilué plusieurs fois puis mélangé à une suspension virale. Les différentes dilutions du mélange sont coulées dans de l'agarose. On détermine ensuite le nombre de plages de lyse virales pour chaque dilution.

**Figure 19 : Test PRNT pour quantifier le taux d'Ac neutralisants spécifique à chaque sérotype du virus de la dengue (56).**

### *Détermination d'un corrélat de protection contre la maladie à partir du test PRNT*

Pour évaluer l'efficacité des vaccins vivants atténués, des études sont nécessaires afin de déterminer leur corrélat de protection. Un corrélat de protection est un marqueur indirect de l'existence d'une protection (immunité) contre une maladie. Il représente par exemple, une concentration limite en anticorps à partir de laquelle on considère qu'un individu a acquis une protection contre la maladie étudiée (57).

Pour les virus de l'encéphalite virale japonaise, de la fièvre jaune, ou de la méningoencéphalite à tiques, on a pu déterminer un corrélat de protection avec le test de neutralisation PRNT. Il correspond à des titres de dilutions de 1 :10 ou moins pour lesquels 50% de la suspension virale est neutralisée, soit un  $PRNT_{50} \geq 10$ . Mais pour le virus de la dengue, à ce jour, le corrélat de protection n'a toujours pas pu être déterminé avec exactitude et il est admis que le corrélat de protection du virus de la dengue est similaire à celui des virus cités auparavant (55).

#### *Variabilité de la performance du test de neutralisation PRNT*

Le test de neutralisation présente une grande variabilité de performance en fonction des lignées cellulaires et des virus types utilisés pour sa réalisation. L'OMS recommande d'utiliser une lignée cellulaire d'origine mammifère, telle que des cellules Vero pour effectuer le test de neutralisation PRNT (58). Or ces lignées cellulaires se caractérisent par une absence de récepteurs Fc à leur surface. Comme nous l'avons vu auparavant ces récepteurs sont impliqués dans les phénomènes d'ADE susceptibles de faciliter l'aggravation de la maladie. L'emploi de cellules Vero pourrait donc intensifier la réponse des anticorps neutralisants tout en faisant abstraction des phénomènes d'ADE (55).

D'autre part, la diversité des génotypes du virus de la dengue peut induire des variations significatives dans la séropositivité du test de neutralisation. En incluant dans le test de multiples génotypes reflétant la diversité existant au sein d'un même sérotype, on pourrait obtenir de plus robustes corrélats de protection contre ce sérotype viral (55).

Le seuil choisi pour considérer que le test de neutralisation est positif est fixé à  $PRNT_{50} \geq 10$ . Il est possible que ce seuil ne soit pas optimal et qu'il puisse varier en fonction du sérotype analysé. En effet, pour les vaccins contre le virus de l'encéphalite japonaise on a constaté que les valeurs seuil du  $PRNT_{50}$  variaient suivant les génotypes existants. Il serait, peut-être, nécessaire de disposer de différents seuils pour affirmer la séropositivité du test (55).

En outre, le test PRNT de neutralisation ne fait pas de distinction entre les anticorps homotypiques à activité neutralisante protectrice et les anticorps hétérotypiques ayant une activité facilitant les phénomènes d'ADE à l'origine d'une aggravation de la maladie (59).

Globalement, les résultats du test PRNT ne reflètent pas exactement la réponse humorale induite par les vaccins.

### **3.1.3 Absence de modèle animal pertinent pour l'étude des symptômes cliniques**

Le développement d'un modèle animal approprié pour l'étude de l'infection par le virus DENV est difficile car il n'existe pas d'animal qui exprime la maladie comme chez l'homme. Chez les souris de type sauvage, la réplication virale est absente ou faible, et la réponse immunitaire peut être sous-estimée avec ce modèle animal (60). Chez les primates non humains, on retrouve une virémie qui présente une cinétique très proche de celle de l'homme, mais ces animaux ne développent pas ou très peu de manifestations cliniques (59). La manipulation du virus et de l'hôte a permis le développement de modèles animaux mieux adaptés à l'étude de la pathogenèse (60).

Les modèles de souris initiaux ont été obtenus par inoculation intracranienne de fortes doses de virus qui ont provoqué la survenue d'une encéphalite et d'une paralysie chez l'animal (60).

Des modèles de souris chez lesquels la virémie a pu être détectée, ont été mis au point par modification génétique de leur système immunitaire pour maintenir l'état d'infection (61). La réplication du virus de la dengue a été mise en évidence pour la première fois chez une souris déficiente pour le récepteur interféron (IFN)-  $\alpha/\beta$  et le récepteur  $\gamma$  (modèle de souris AG 129). La génération de souches virales adaptées à la souris a permis d'améliorer ce modèle de souris immunocompétentes. On a pu ainsi entreprendre l'étude de la pathogenèse et l'évaluation d'anticorps thérapeutiques et de substances antivirales (60). Toutefois, en l'absence

des deux récepteurs IFN- $\alpha/\beta$  et  $-\gamma$ , les souris sont incapables de développer une réponse immunitaire complète (61).

Des souris immunodéficientes, souris SCID (severe combined immunodeficiency) ont été mises au point par mutation génétique. La greffe de progéniteurs hématopoïétiques humains chez ces animaux a permis le développement de souris humanisées, qui présentent des symptômes cliniques proches de ceux retrouvés chez les personnes infectées par le virus DENV (60). Le tableau suivant présente des modèles de souris utilisés actuellement pour l'évaluation des vaccins contre la dengue :

Paramètre	Modèle					
	Souris immunocompétente			Souris immunodéficiente/Knockout		
	BALB/c	A/J	AG129	SCID-PBL	SCID Lignées cellulaires	NOD/SCID-hu
Présence de cellules humaines	n/a	n/a	n/a	++	+++	+
Disponibilité du modèle de souris	+++	+++	+++	+	+	+
Approprié à l'infection par le virus de la dengue	+	++	++	++	+	+++
Evaluation du système immunitaire inné	+	+	+++	+	+	+++
Evaluation d'un vaccin/antiviral	+	+	++	++	++	+++

BALB/c : souris albinos de pelage blanc

AG129 : souris déficiente en récepteur pour l'IFN  $\alpha/\beta$  et récepteur  $\gamma$

A/J : souris de lignée coosanguine

Souris SCID : souris avec une immunodéficiência sévère combinée

SCID-PBL : souris SCID transplantées avec des lymphocytes de sang périphérique humain

SCID lignées cellulaires : souris SCID transplantées avec des lignées de cellules humaines

NOD/SCID-hu : souris SCID non-obèse-diabétique humanisée

**Tableau 2 : Modèles de souris infectés par le virus de la dengue (61)**

L'usage de primates non humains comme modèles expérimentaux présentent plusieurs limites. Outre le fait qu'ils ne développent pas de signes cliniques de la maladie, ceux sont des modèles pour lesquels le coût est élevé et qui sont difficiles à manager. Les modèles à base de rongeurs sont donc utilisés en premier (60). Les primates non humains sont employés au cours des études pré-cliniques pour tester la capacité des vaccins à réduire la virémie induite après une infection virale. Ils sont également utilisés dans les études visant à évaluer l'étendue et la spécificité de la réponse immunitaire (61). En effet les modèles de primates non humains sont capables de générer une réponse humorale similaire à celle induite par l'homme après une infection par le virus de la dengue (60).

Parmi les modèles de primates non humains utilisés on trouve le macaque rhésus et le chimpanzé. Le macaque rhésus développe une réponse immunitaire incluant une réponse cellulaire T et certains signes de la maladie comme une lymphadénopathie, une splénomégalie, une hépatomégalie, une déshydratation et un rash modéré. Par contre, les chimpanzés ne développent pas de signes cliniques de la maladie (61).

D'autres modèles animaux sont à l'étude. Le porc est un animal connu pour présenter de nombreuses similitudes physiologiques avec l'homme et qui est beaucoup moins coûteux qu'un modèle de primate non humain. Des modèles porcins miniatures Yucatan ont été mis au point. Ils ont des propriétés cardiovasculaires, immunologiques, métaboliques et dermatologiques similaires à celles de l'homme. L'injection sous-cutanée du sérotype 1 du virus de la dengue chez plusieurs porcs a induit une virémie, des IgM et des IgG anti-dengue et des anticorps neutralisants chez tous les porcs. Mais aucun d'entre eux n'a développé de symptômes. Lorsque le virus est injecté par voie intraveineuse quelques signes cliniques apparaissent (rash, œdème de la peau). De plus des complexes immuns liés au virus de la dengue ont également été retrouvés dans les sérums porcins ce qui suggère que des phénomènes d'ADE se sont

éventuellement produits. Le tableau suivant résume les caractéristiques des modèles animaux employés dans l'étude des vaccins contre la dengue (61).

Espèces	Statut immunitaire	Nom	Voie d'infection	Dose infectieuse	Virémie détectable	Réponse immunitaire Anti-DENV	Infection au virus DENV induite
Souris	Humanisé immunocompétent	BALB/c	IP	10 <sup>5</sup>	-/+	Ac (-/+), cellules T	-
		hNOD/SCID	SC	10 <sup>4</sup>	+	Ac (-/+)	Fièvre, rash, thrombocytopénie
		hNOD/SCID/IL2 R $\gamma^{null}$	SC	10 <sup>5</sup>	+	Ac (-/+)	Fièvre, rash, thrombocytopénie
		hRAG2 <sup>-/-</sup> $\gamma_c^{-/-}$	IP, SC	10 <sup>6</sup>	+	Ac	Fièvre, rash, choc
		SCID-HuH7	IP	10 <sup>5</sup>	+	-	-
Porc	Immunocompétent	Porc miniature Yucatan	SC, IV	10 <sup>7</sup>	+(SC)	Ac	Rash (+/-)
Primate non humain	Immunocompétent	Macaque rhésus	SC, ID	10 <sup>5</sup>	+	Ac, cellules T	Lymphadénopathie, splénomégalie, hépatomégalie, déshydratation modérée, rash modéré, virémie augmentée (+/-)
	Immunocompétent	Chimpanzé	SC, ID	10 <sup>3</sup> -10 <sup>6</sup>	+	Ac	-

DENV, virus de la dengue ; IP, intrapéritonéal; SC, sous-cutané; IV, intraveineux; ID, intradermique.

BALB/C souris albinos de pelage blanc utilisée classiquement en laboratoire

SCID : souris avec une immunodéficience sévère combinée

hNOD/SCID : souris SCID non-obèse-diabétique humanisée

**Tableau 3 : caractéristiques des modèles animaux utilisés pour évaluer les vaccins contre la dengue (61)**



### 3.2 Caractéristiques du Dengvaxia®

Dengvaxia®, CYD-TDV, est actuellement le seul vaccin ayant reçu une autorisation de mise sur le marché pour la prévention de la dengue chez des populations se trouvant dans des régions endémiques. Il est jusqu'à présent enregistré dans vingt pays en Amérique latine, dans la région Asie-Pacifique, en Australie (62). Il a été employé dans deux pays, le Brésil et les Philippines, pour des programmes de vaccination chez les enfants à partir de 9 ans. Mais depuis décembre 2017, les autorités philippines ont décidé de suspendre la vente et la distribution du vaccin dans leur pays durant une année et d'arrêter le programme de vaccination suite au signalement d'effets indésirables graves survenus chez des patients vaccinés (63,64).

Dengvaxia® est un vaccin vivant atténué produit par le laboratoire Sanofi Pasteur. C'est un vaccin recombinant tétravalent composé de quatre virus chimères correspondants à chacun des quatre sérotypes de la dengue. Chaque virus recombinant a été obtenu par la technologie Chimerivax exposée auparavant. Le vaccin contient 4,5-6,0 log<sub>10</sub> de la dose infectieuse médiane en culture cellulaire (DI<sub>50</sub> en CC) des virus vaccinaux vivants atténués de chacun des quatre sérotypes (65).

Le CYD-TDV est conditionné sous forme de flacon monodose ou multidoses (5 doses). Il est composé d'une substance lyophilisée, à reconstituer avant injection à l'aide d'une solution stérile de chlorure de sodium à 0,4% (flacon monodose) ou à 0,9% (flacon multidoses). Le diluant est fourni dans une seringue préremplie (présentation monodose) ou dans un flacon (présentation multidoses). Le Dengvaxia® ne contient ni agent adjuvant et ni agent conservateur. Sa durée de conservation est de 36 mois à une température comprise entre 2 °C et 8 °C. Après reconstitution, le vaccin doit être conservé entre 2 °C et 8 °C, à l'abri de la lumière. Toute dose reconstituée non utilisée doit être jetée immédiatement après la vaccination du patient ou dans les 6 heures suivant l'ouverture et la reconstitution de la préparation vaccinale (65).

Le vaccin est indiqué chez les personnes âgées de 9 ans à 45 ans ou 60 ans (selon l'enregistrement) qui vivent dans des zones endémiques. (Ce vaccin n'est pas indiqué chez les voyageurs). Le calendrier vaccinal est de 3 injections de 0,5 ml administrées par voie sous-cutanée avec un intervalle de 6 mois (0-6-12 mois) (65).

Le fabricant a mentionné que le Dengvaxia® est contre-indiqué chez :

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

Le fabricant a également précisé que la vaccination devrait être retardée chez les personnes présentant un état fébrile modéré à sévère ou une maladie aiguë (65).

### **3.2.1 Données précliniques**

Les études précliniques évaluent la sécurité et l'immunogénicité du vaccin (capacité du vaccin à induire une réponse immunitaire) *in vitro* et *in vivo* sur des animaux. Pour le vaccin CYD-TDV, ces études ont d'abord montré que les souches utilisées pour le vaccin étaient compétentes pour la répllication (43). Les essais menés pour évaluer la stabilité, la sécurité, l'immunogénicité et l'effet protecteur du vaccin sont les suivants.

### *Stabilité génétique et phénotypique du virus.*

Pour un vaccin vivant atténué la stabilité des isolats excrétés doit être prouvée. La stabilité génétique de tous les composants du CYD-TDV a été évaluée au cours de plusieurs études *in vitro*. L'évaluation de cette stabilité s'est basée sur celle du génome du virus de la fièvre jaune YFD 17D qui est remarquablement stable. Cette stabilité pourrait être attribuée au faible taux d'erreurs de la RNA polymérase du virus. Or cette même enzyme assure également la réplication des virus recombinants CYD et l'on peut s'attendre à une stabilité aussi importante. La séquence complète des génomes de chacun des virus recombinants a été établie à différentes étapes du processus de fabrication du vaccin, et chaque virus CYD a montré une haute stabilité génétique sur culture cellulaire (voir tableau 3) (66).

En fait, un séquençage complet du génome n'apporte que peu d'informations sur les conséquences potentielles d'une mutation. Mais les mutations qui influent sur l'efficacité de l'infection virale, ou la croissance et la transmission du virus dans la culture cellulaire modifient en général le phénotype de la plaque. Pour le Dengvaxia<sup>®</sup>, le phénotype de la taille de la plaque des quatre virus CYD a prouvé sa stabilité pour chacun des virus. Une évaluation de la stabilité phénotypique a aussi été réalisée sur des modèles animaux (66).

<b>Souches Parentales</b>	<b>Stabilité phénotypique</b>	<b>Stabilité génotypique</b>
DENV : Sérotype 1 : souche Thai, PUO-359/TVP-1140  Sérotype 2 : souche Thai, PUO-218  Sérotype 3 : souche Thai, PaH881/88  Sérotype 4 : souche indonésienne, 1228 (TVP-980)	Phénotype de la taille de la plaque des quatre sérotypes viraux chimériques ChimeriVax (CYD) : stable à toutes les étapes de la production.  Morphologie virale par EM, caractéristique des flavivirus : observée de la Phase 1 à la Phase 3 des lots  Teneur en particules : rapport constant entre les particules non-infectieuses et infectieuses, à toutes les étapes de la production.	Haute stabilité génomique dans les cultures cellulaires. Seulement 9 mutations pour l'ensemble des quatre sérotypes : 5 dans les derniers passages (entre p10 and p21), 3 dans une population mixte avec la séquence originale et 1 silencieuse. A l'exception d'une mutation sur E, toutes les mutations se situent dans les régions NS (adaptation aux cellules Vero ?)  Le Vaccin purifié par plaque sur des cellules Vero et produit au passage 10

**Tableau 4 : stabilité génétique et phénotypique du CYD-TDV (42)**

### *Sécurité du vaccin.*

Le vaccin s'est montré moins neurovirulent que le virus parental fièvre jaune, chez le souriceau et dans des modèles de singe. Le vaccin ne présente pas de tropisme hépatique chez les singes, les virus recombinants CYD n'infectent pas les moustiques par voie orale et ils ne peuvent donc pas être transmis par les arthropodes. Dengvaxia® ayant été construit au moyen de manipulations génétiques, le vaccin a dû également prouver qu'il se conformait aux réglementations spécifiques relatives aux organismes génétiquement modifiés (43, 66).

### *Immunogénicité et effet protecteur du vaccin.*

- Etudes précliniques *in vitro*

Des études précliniques menées sur des cellules dendritiques humaines dérivées de monocytes ont permis d'évaluer l'immunogénicité du vaccin. Les quatre virus recombinant du vaccin ont montré leur capacité à infecter les cellules dendritiques puis à induire leur stimulation de façon contrôlée (64). Or les cellules dendritiques sont des cellules présentatrices d'antigène capables de stimuler l'immunité spécifique.

- Etudes précliniques chez l'animal

Ces études ont été réalisées sur des macaques cynomolgus afin d'évaluer l'immunogénicité de différentes formulations du vaccin. Les quatre formulations mises au point se différenciaient par la concentration respective de chacun des virus chimériques DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4, présents dans le vaccin. Pour certaines formulations ces concentrations étaient égales : formulations à fortes doses (5, 5, 5, 5) log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub> (Dose infectieuse médiane en culture de tissus) et formulations à faibles doses (3, 3, 3, 3) log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub>. Pour une formulation les concentrations en virus chimériques DEN-1 et DEN-4 étaient inférieures (3, 5, 5, 3) log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub>, enfin la dernière formulation était moins dosée en virus chimérique DEN-4 (5, 5, 5, 3) log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub>. Ces préparations ont été administrées par voie sous-cutanée en une seule dose à quatre

groupes de singes. On a ensuite mesuré la virémie post-vaccinale et les concentrations en anticorps induites par le vaccin chez chacun des singes.

Tous les singes ont développé des taux de virémie post-vaccinaux faibles ou absents. Ce résultat est en faveur d'une sécurité du vaccin car ils laissent penser que les virus chimériques se répliquent faiblement dans l'organisme. Les singes ayant reçu les formulations (5, 5, 5, 5) et (3, 3, 3, 3) ont tous développé une séroconversion qui devrait être le signe d'une protection contre le virus (67).

Six mois plus tard, on a évalué le vaccin après une infection d'épreuve (challenge), c'est-à-dire que les macaques ont été infectés par un virus sauvage et on a ensuite déterminé l'immunité post-vaccinale qu'ils ont développé. Aucune virémie en post-challenge n'a été détectée pour 92% des singes, et on suppose qu'ils sont donc protégés par le vaccin (67). Cependant, pour les singes auxquels on a administré la souche sauvage de sérotype 4, les taux d'anticorps n'étaient significativement pas plus élevés que ceux du groupe témoin n'ayant reçu aucune dose de vaccin. Ces résultats suggèrent une immunodominance du virus chimérique 4

Les essais précliniques sur les singes ont donc démontré la bonne tolérance du vaccin tétravalent et sa capacité à induire une certaine immunité. Des essais cliniques ont lors été mis en place.

### **3.2.2 Données cliniques**

Les essais cliniques pratiqués chez l'homme pour commercialiser un vaccin se déroulent traditionnellement en trois phases (I, II, III).

- Les essais de phase I : ils sont réalisés sur un petit nombre de sujets. Ceux sont des études portant sur la tolérance (locale et systémique) du vaccin et sur une évaluation préliminaire de l'immunogénicité
- Les études de phase II : elles sont conduites sur une population limitée (plus de 100 sujets). Elles permettent le recueil de données

concernant la sécurité du produit, les doses préférables à utiliser et l'efficacité du vaccin dans la population cible.

- Les essais de phase III : ils sont réalisés à grande échelle (plusieurs centaines à plusieurs milliers de sujets). Ils sont conduits afin de déterminer l'efficacité du vaccin. Généralement, ceux sont des essais comparatifs avec un groupe témoin (traitement comparé à un médicament de référence ou à un placebo), randomisés (traitement attribué par tirage au sort), en double aveugle (médecin et patients ignorent le traitement attribué) (52).

A l'issue de la phase III, les résultats des différents essais peuvent être présentés pour une demande d'autorisation de commercialisation du produit dans divers pays.

Après l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché, le vaccin est surveillé pour détecter d'éventuels effets secondaires pouvant apparaître au cours de sa commercialisation. Cette étape constitue la phase IV ou phase de pharmacovigilance.

Au cours des essais cliniques, l'efficacité d'un vaccin est établie à partir de deux types critères d'évaluation. Les premiers sont des critères d'évaluation de nature immunologiques et les seconds sont de types cliniques.

L'évaluation immunologique consiste à identifier et à quantifier la réponse en anticorps induite par le vaccin. En pratique cette réponse est exprimée par :

- Le pourcentage de sujets répondeurs qui correspond au taux de séroconversion. Ce paramètre permet de quantifier le nombre d'individu ayant développé une réponse en anticorps.
- La moyenne géométrique des titres en anticorps retrouvés au sein d'un groupe d'individus. Ce paramètre permet de quantifier l'intensité de la réponse en anticorps.

Il faut cependant préciser que la réponse en anticorps est considérée comme un critère d'évaluation seulement lorsque son intensité est en corrélation avec l'intensité de la réponse clinique développée par les individus après vaccination. En l'absence de corrélation, comme c'est le cas pour les vaccins anti-dengue, l'évaluation de l'efficacité du vaccin est réalisée uniquement à partir de critères cliniques (68).

L'OMS a publié un ensemble de lignes directrices pour l'évaluation des vaccins contre la dengue. Comme la dengue présente de nombreuses manifestations cliniques qui rendent difficile l'établissement d'un diagnostic, l'OMS préconise de confirmer la présence du virus de la dengue chez les individus présentant des symptômes de la maladie. Suivant ces recommandations, le critère clinique primaire d'évaluation choisi pour le Dengvaxia<sup>®</sup> était : l'efficacité du vaccin dans la prévention des cas de dengue symptomatique virologiquement confirmées (69).

#### *Etudes de phase I*

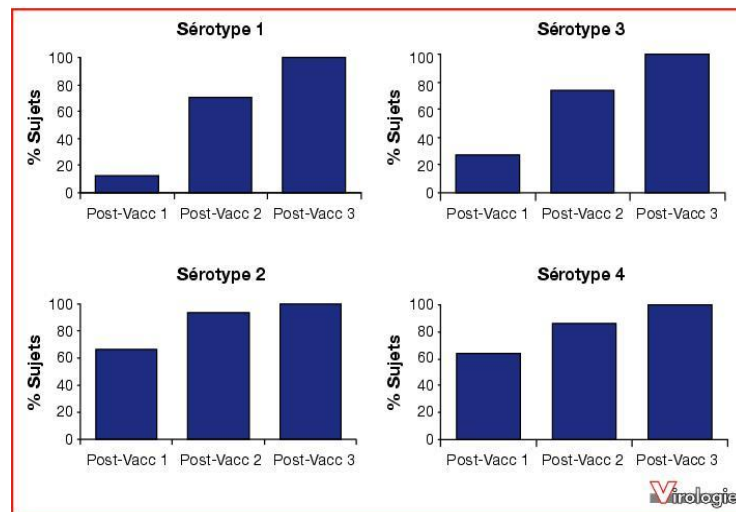
Un premier essai clinique de phase I a été réalisé avec un vaccin monovalent chimérique contenant uniquement le sérotype 2, sur des adultes sains âgés de 18 à 45 ans. Il a démontré son immunogénicité et sa sécurité (43, 48).

La tolérance et l'immunogénicité d'une formulation tétravalente a donc ensuite été évaluée au cours de 3 essais différents. La première étude a été menée auprès d'adultes américains sains et naïfs (non immunisés contre les flavivirus) âgés de 18 à 45 ans. Les deux autres études ont été conduites dans une zone où la population est faiblement exposée aux flavivirus (Mexique) et en zone endémique (Philippines), sur des adultes et des enfants. Pour chacune des études les sujets ont été divisés en deux groupes. Un premier groupe était constitué de sujets vaccinés ayant reçu 3 injections à 0, 3-4 et 12 mois, le second groupe témoin a reçu une première injection de placebo (essai sur sujets naïfs) ou de vaccin contrôle (vaccin fièvre jaune au Mexique et vaccin contre la typhoïde aux Philippines) puis deux doses de vaccin tétravalent. Dans les deux dernières études incluant des

enfants, les participants ont été répartis en 4 cohortes d'âge (2-5 ans, 6-11 ans, 12-17 ans, 18-45 ans) (43).

Le vaccin a été bien toléré chez tous les patients. Il a induit des taux de virémie post-vaccinaux nuls ou faibles pour le sérotype 4. Les taux de séroconversion ont augmenté après la deuxième et la troisième injection (43, 48).

Chez les sujets américains non immunisés contre les flavivirus, tous les candidats ont développé une séroconversion pour les quatre sérotypes après administration de trois doses de vaccin (43, 48).



**Figure 20 : Taux de séroconversion chez les adultes non immuns contre les flavivirus (États-Unis) (43)**

Après trois doses de vaccin, les taux de séroconversion chez les patients mexicains étaient de 77-92% pour les quatre sérotypes. Pour les enfants de 2 à 5 ans les taux de séroconversion étaient de 88-100% (43).



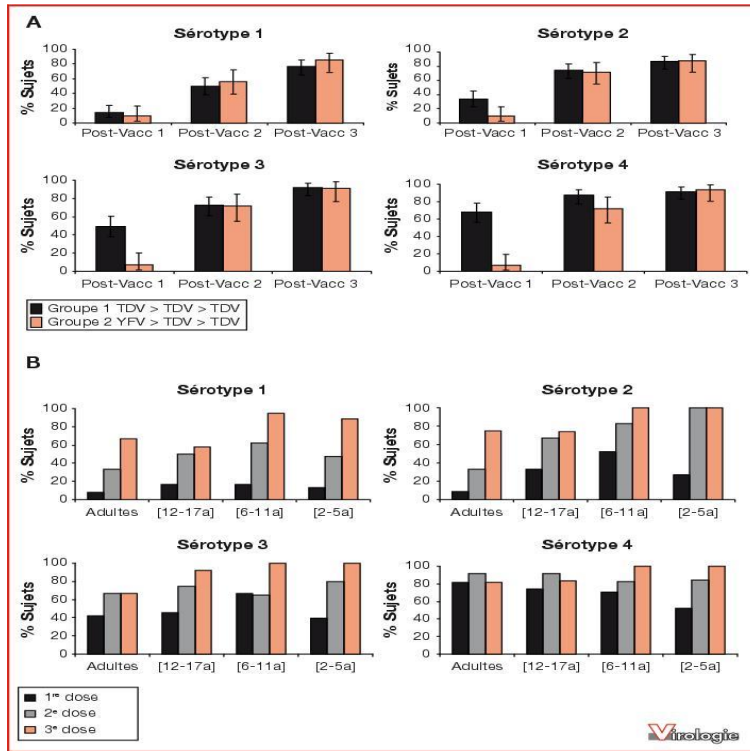


Figure 21 : Taux de séroconversion chez des sujets vaccinés au Mexique en zone non-endémique (43).

Chez les sujets philippins les taux de séroconversion étaient de 88 à 100% après 3 injections de vaccin, pour l'ensemble des 4 sérotypes. Le vaccin a eu un plus grand impact chez les enfants après les deux dernières doses.

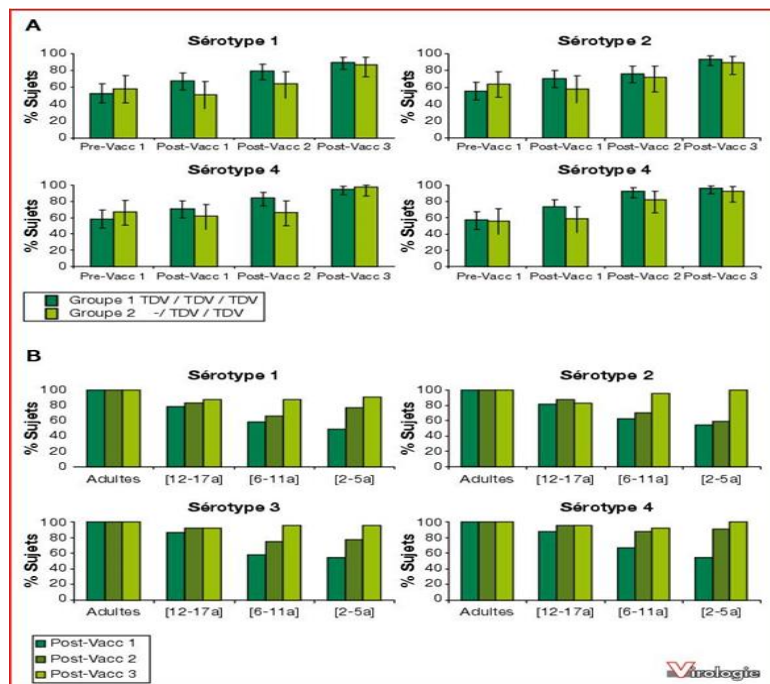


Figure 22 : Taux de séroconversion chez des sujets vaccinés aux Philippines en zone endémique (43)

Le vaccin a démontré sa sécurité et son immunogénicité chez des populations naïves vivants en zone non-endémique et chez des populations se trouvant en zone endémique. L'immunogénicité du vaccin s'est également manifestée chez les enfants qui représentent la principale population cible (43).

#### *Etudes de phase II et IIb*

Un premier essai de phase II, multicentrique randomisé en double aveugle a été conduit aux USA sur des adultes sains pour tester différentes formulations du vaccin. La formulation contenant 5 log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub> pour chaque sérotype viral a démontré la meilleure immunogénicité et a été utilisée pour les essais ultérieurs (48).

Un essai IIb (CYD23), randomisé et contrôlé a été conduit en Thaïlande sur 4002 enfants âgés de 4 à 11ans. L'objectif principal de l'étude était d'évaluer l'efficacité du vaccin dans la prévention des cas de dengue symptomatiques et confirmés virologiquement survenant au moins 1 mois après la troisième injection, quels que soient la gravité ou le sérotype (66, 71).

Durant l'étude 134 cas de dengue confirmés virologiquement ont été recensés. L'efficacité globale du CYD-TDV a été seulement de 30,2% (IC à 95% : -13,4%-56,6%) (71).

L'efficacité du vaccin était très variable suivant le sérotype 61,2% (DENV1) ; 3,5% (DENV2) ; 81,9% (DENV3) ; 90,0% (DENV4). Le vaccin a donc montré une bonne efficacité pour les sérotypes 4 et 3 du virus de la dengue. L'efficacité contre le sérotype 1 était moyenne. Par contre le vaccin n'offrait pas de protection contre le sérotype 2 du virus (70, 71).

En dépit de la variation de l'efficacité, les titres d'anticorps neutralisants développés pour les quatre sérotypes après la troisième dose étaient très élevés en particulier ceux du sérotype 2. Les titres géométriques moyens

(GMT) étaient de 146 (DENV-1) ; 310 (DENV-2) ; 405 (DENV-3) et 155 (DENV-4). Il y a donc une discordance entre les marqueurs *in-vitro* de neutralisation et l'efficacité clinique du vaccin (71).

Le vaccin a été bien toléré aucun évènement grave n'a été détecté (71).

Taux de séroconversion* %				Titres d'anticorps neutralisants* GMTs (95% CI)				Efficacité vaccinale % (95% CI)					
Sérotypes				Sérotypes				VCD globale	DEN 1	DEN2	DEN3	DEN4	Réduction du % d'hospitalisation (95% CI)
1	2	3	4	1	2	3	4						
95	99	100	98	146	310	405	155	30,2%	61,2%	3,5%	81,9%	90,0%	45,5%
				(98,5 -216)	(224 -431)	(307 -534)	(123 -196)	(-13,4 -56,6)	(17,4 -82,1)	(59,8 -40,5)	(38,8 -95,8)	(10,6 -99,8)	

\*28 jours après la troisième injection.

GMT= (geometric mean titer) moyenne géométrique des titres

CI = intervalle de confiance

VCD = dengue virologiquement confirmée

Dose de vaccin utilisée dans l'essai CYD23 : 5,0 log10 de dose infectieuse médiane de culture cellulaire (CCID50) par sérotype.

**Tableau 5 : Taux de séroconversion, titres d'anticorps neutralisants, efficacité du CYD-TDV au cours de l'essai de phase IIb CYD 23 (71)**

Une autre étude clinique de phase II, randomisée, aveugle, contrôlée a été menée en Amérique Latine. Les vaccinés étaient séropositifs pour au moins deux, trois ou quatre sérotypes à des niveaux élevés respectifs de 100% ; 90,6% et 93,4% (48).

Les contrastes élevés entre les résultats des deux dernières études s'expliqueraient par des différences au niveau épidémiologiques et au niveau des souches virales circulants dans les deux pays (48).

### *Etudes de phase III*

Deux études cliniques de phase III de large échelle, conduites chez plus de 30 000 enfants âgés de 2 à 14 ans ou de 9 à 16 ans, ont été menées en zones endémiques dans la région Asie-Pacifique (essai CYD 14) et en Amérique latine (essai CYD 15) (20).

Les deux essais devaient examiner l'efficacité du vaccin CYD-TDV pour la prévention de la dengue symptomatique confirmée virologiquement pendant une période de 12 mois à partir de 28 jours après la troisième dose (71).

Dans ces deux études, les candidats ont été répartis de manière aléatoire en deux groupes suivant un ratio de 2 :1. Un groupe a reçu le vaccin et l'autre un placebo (une solution à 0,9% de chlorure de sodium). Selon les protocoles d'étude, les participants ont bénéficié d'une surveillance active de 13 mois après la dernière dose de la série de vaccination (c'est-à-dire 25 mois après la première dose) pour évaluer le critère primaire qui est l'efficacité du vaccin. Ils ont aussi été suivis en milieu hospitalier durant 4 ans (65).

Une analyse détaillée pour évaluer l'état sérologique au moment de l'inclusion dans l'essai a été réalisée dans un sous-groupe pour chacune des 2 cohortes d'étude. Les participants chez lesquels on a retrouvé des résultats de PRNT<sub>50</sub> >10 contre un ou plusieurs sérotypes étaient considérés comme séropositifs en début d'étude, ce qui signifie qu'ils avaient déjà été exposés à au moins 1 des sérotypes du virus de la dengue (65).

L'essai CYD 14 a été conduit dans 5 pays de la région Asie-Pacifique (Indonésie, Malaisie, Philippines, Thaïlande et Viet Nam). Dans cette étude de phase III, randomisée, multicentrique et contrôlée, on a inclus 10 275 enfants âgés de 2 à 14 ans. Ces enfants ont reçu 3 doses de vaccin ou 3 doses de placebo à 0, 6 et 12 mois (48, 71).

L'efficacité moyenne du vaccin contre la dengue virologiquement confirmée était de 56,5% (IC à 95% : 43,8%-66,4%) (70).

L'efficacité était la plus élevée pour les sérotypes 3 (78,4%) et 4 (75,3%), la plus faible avec le sérotype 2 (35,0%) et intermédiaire contre le sérotype 1 (50%) (70).

L'efficacité était également plus élevée chez les enfants de 12 à 14 ans (74,4%) que chez les enfants âgés de 6 à 11 ans (59,5%) et elle était la moins élevée chez ceux âgés de 2 à 5 ans (33,7%) (71).

Chez les individus séropositifs au début de l'essai l'efficacité était plus grande (74,3%) comparativement aux individus qui étaient séronégatifs au départ (35,5%) (71).

Malgré les variations de l'efficacité protectrice du vaccin, on a constaté qu'il générait des taux élevés d'anticorps neutralisants contre les quatre sérotypes. Les GMT mesurés étaient de 166 pour DENV-1 ; 355 pour DENV-2 ; 207 pour DENV-3 et de 151 pour DENV-4 (70).

L'un des principaux effets bénéfiques du vaccin est qu'il a montré une bonne efficacité pour prévenir la dengue grave (80,8%), la dengue hémorragique (88,5%) et pour réduire les cas d'hospitalisation (67,2%) (voir tableau 5) (71).

Au total 647 évènements indésirables graves ont été détectés, dont 402 (62%) ont été enregistrés dans le groupe vaccin et 245 (38%) dans le groupe témoin. Chez les enfants, 55 (1%) évènements indésirables graves ont été recensés dans le groupe vaccin et 33 (1%) dans le groupe témoin. Ces évènements indésirables étaient principalement des infections et sont apparus dans les 28 jours suivant la vaccination (72).

Age	Titres d'anticorps neutralisants* GMTs (95% CI)				Efficacité vaccinale % (95% CI)								
					Sérotypes				VCD global	DEN1	DEN2	DEN3	DEN4
	1	2	3	4									
<b>2-14 ans</b>	166 (150 ; 183)	355 (327 ; 386)	207 (189 ; 226)	151 (141 ; 162)	56,5% (43,8- 66,4)	50% (24,6- 66,8°)	35,0% (-9- 60)	78,4% (52,9- 90,8)	75,3% (54,5- 87)	67,2% (50,3- 78,6)	80,8% (42,7- 94,7)	88,5% (58,2- 97,9)	
<b>2-5 ans</b>					33,7% (11,7- 50,0)								
<b>6-11 ans</b>					59,5% (48,9- 68,0)								
<b>12-14 ans</b>					74,4% (59,2- 68,0)								
<b>Séropo- sitif au départ</b>					74,3% (53,2- 86,3)								
<b>Séroné- gatif au départ</b>					35,5% (- 26,8- 66,7)								

\*28 jours après la troisième injection.

GMT= (geometric mean titer) titres géométriques moyens ; CI = intervalle de confiance ; VCD = dengue virologiquement confirmée ; DS = dengue sévère ; DHF = dengue hémorragique

Dose de vaccin utilisée dans l'essai CYD14 : 5,0 log10 de dose infectieuse médiane en culture cellulaire (CCID50) par sérotype.

**Tableau 6 : Taux de séroconversion, titres d'anticorps neutralisants, efficacité du CYD-TDV au cours de l'essai de phase III CYD 14 (71)**

En Amérique latine, l'essai CYD 15 a été mené dans 5 pays (Colombie, Brésil, Mexique, Porto Rico et Honduras) auprès de 20 869 participants. Il correspondait à un essai de phase III, randomisé, multicentrique, et contrôlé. Les participants étaient des enfants sains âgés de 9 à 16 ans ayant reçu 3 doses de vaccin ou de placebo à 0, 6 et 12 mois (70).

L'efficacité globale du vaccin contre la dengue virologiquement confirmée était de 60,8% (IC à 95% : 52,0%-68,0%) (70).

L'efficacité vaccinale était la plus élevée pour le sérotype 4 (77,7%), suivie du sérotype 3 (74,0%), puis du sérotype 1 (50,3%). Une fois de plus, l'efficacité était la plus faible pour le sérotype 2 (42,3%) (71).

Les titres de GMT étaient les plus élevés pour le sérotype 2 (574) et le sérotype 3 (508) et les plus faibles pour le sérotype 1 (395), et le sérotype 4 (241).

Comme pour l'essai précédent, l'efficacité vaccinale était élevée contre la dengue sévère (95,5%), la dengue hémorragique (95,0%) et la réduction des cas d'hospitalisation (80,3%) (tableau 6) (71).

La sécurité du vaccin était similaire chez les sujets vaccinés et les sujets témoins, avec des taux d'évènements indésirables faibles dans les deux groupes (72) (tableau 7).

Age	Titre d'anticorps neutralisants* GMTs (95% CI)				Efficacité vaccinale % (95% CI)								
	Sérotypes				VCD global	DEN1	DEN2	DEN3	DEN4	Réduction du % d'hospitalisation (95% CI)	Réduction du % de DS (95%)	Réduction du % de DHF 95%	
1	2	3	4										
<b>9-16 ans</b>	395 (353-441)	574 (528-624)	508 (465-555)	241 (226-258)	60,8% (52,0-68,0)	50,3% (9,1-65,2)	42,3% (14-61,1)	74,0% (61,9-82,4)	77,7% (60,2-88)	80,3% (64,7-89,5)	95,5% (68,8-99,9)	95,0% (64,9-99,9)	
<b>9-11 ans</b>					61,7% (52,3-69,3)								
<b>12-16 ans</b>					67,6% (59,3-74,3)								
<b>Séropositif au départ</b>					83,7% (621,5-80,0)								
<b>Séronégatif au départ</b>					43,2% (-26,8-66,7)								

\*28 jours après la troisième injection.

GMT= (geometric mean titer) moyenne géométrique des titres ; CI = intervalle de confiance ; VCD = dengue virologiquement confirmée ; DS = dengue sévère ; DHF = dengue hémorragique

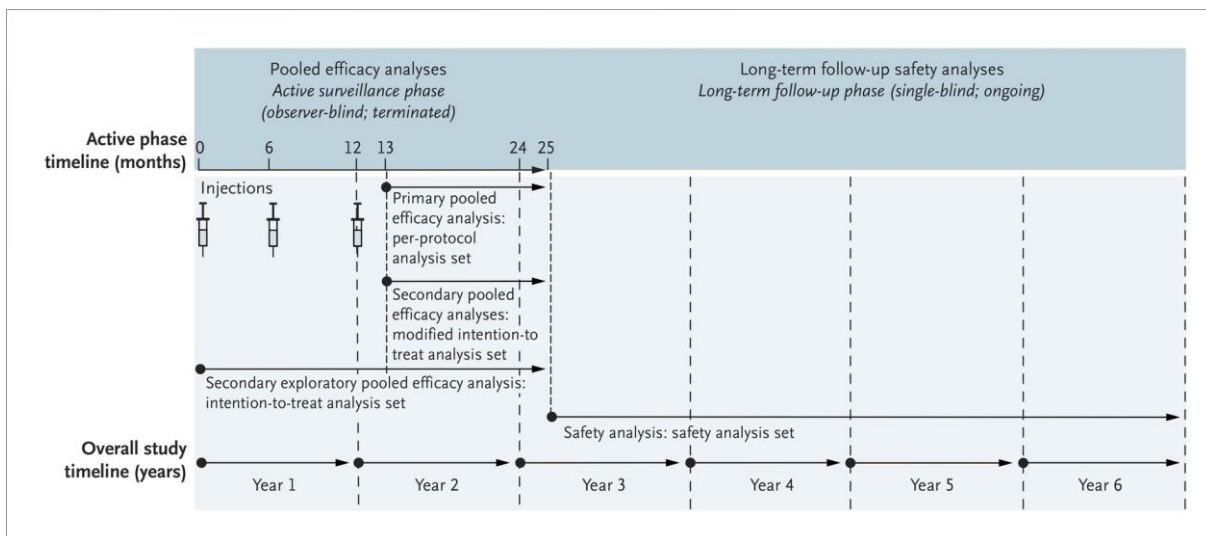
Dose de vaccin utilisée dans l'essai CYD15 : 5,0 log<sub>10</sub> de dose infectieuse médiane en culture cellulaire (CCID<sub>50</sub>) par sérotype.

**Tableau 7 : Taux de séroconversion, titres d'anticorps neutralisants, efficacité du CYD-TDV au cours de l'essai de phase III CYD 15 (71).**

### *Suivi à long terme*

A la surveillance active des sujets qui a eu lieu durant les 25 mois des essais cliniques, le programme de développement clinique du candidat vaccin CYD-TDV comprend aussi un suivi à long terme des participants durant quatre ans (73).





**Figure 23 : Phase de surveillance à long terme qui suit les essais cliniques (73).**

La surveillance à long terme des participants vise à évaluer la sécurité à long terme du vaccin. Elle se base sur les données recueillies au cours de la troisième année des deux essais de phase III CYD14 (en zone Asie - Pacifique) et CYD15 (en Amérique latine) et celles recensées durant la troisième et la quatrième année de l'essai de phase IIb CYD23 (en Thaïlande) (73).

Cette surveillance comprend l'évaluation de l'incidence de l'hospitalisation pour la dengue confirmée virologiquement, le suivi de la survenue d'une dengue sévère et d'une dengue hémorragique. Enfin les événements indésirables graves qui se sont produits ont aussi été enregistrés (73).

Pour l'essai CYD 14, les analyses ont montré qu'au cours de la troisième année de suivi, le risque relatif d'hospitalisation pour une dengue confirmée virologiquement était nettement plus élevé dans le groupe des enfants âgés de 2 à 5 ans (73).

Ce risque relatif était de 7,45 (IC à 95% 1,15-313,80) chez ce groupe de vaccinés alors qu'il n'était pas plus élevé dans les autres tranches d'âge (ce risque était de 0,63 chez les enfants de 6 à 11 ans et de 0,25 chez ceux âgés de 12 à 14 ans) (73).

Par conséquent, la demande d'homologation du vaccin a exclu cette Par  
conséquent, la demande d'homologation du vaccin a exclu cette tranche  
d'âge et le vaccin n'est indiqué que pour les enfants de 9 ans et plus (1).

**PARTIE III**

**DENGAVAXIA<sup>®</sup>,**

**LECONS A TIRER TROIS ANS APRES**

**HOMOLOGATION**

## **PARTIE III**

### **1. CYD-TDV : une efficacité et une sécurité variable**

Les essais cliniques menés à travers différentes régions du monde, et dans divers groupes d'âge, pour commercialiser le Dengvaxia® constituent les premières sources d'informations permettant d'évaluer l'efficacité et la sécurité du vaccin.

- En matière de performance vaccinale, le CYD-TDV a montré une efficacité globale modérée de 60,3 % (IC à 95 % : 55,7 % à 64,5 %). Ce chiffre représente l'efficacité du vaccin dans la prévention des cas de dengue symptomatiques confirmés virologiquement, chez les enfants de 2 à 16 ans durant les 25 mois suivant la première dose de vaccin (74). Cependant de nombreuses disparités ont été observées en ce qui concerne la performance du vaccin.
- Concernant la sécurité vaccinale, globalement les effets secondaires du vaccin CYD-TDV étaient identiques à ceux d'autres vaccins vivants atténués. Les effets secondaires les plus fréquemment rapportés étaient des céphalées (> 50%), des malaises (> 40%), des myalgies (> 40%) et de la fièvre (5-16%). Des réactions locales (en particulier des douleurs) ont été enregistrées chez 45 à 49% des participants (63).

Cependant, dans le long terme on ne pouvait pas écarter la possibilité d'un risque d'exacerbation de la maladie causée par des phénomènes d'ADE chez les sujets vaccinés. Ainsi dès 2012, l'Organisation Mondiale de la Santé avait établi des lignes directrices sur le développement clinique des vaccins contre la dengue. Elles comprenaient un plan de suivi des sujets vaccinés pendant au moins 3 à 5 ans après administration des premières doses de vaccin.

S'agissant du Dengvaxia®, au cours des 25 mois qui ont suivi les premières administrations du vaccin, celui-ci a présenté une bonne tolérance et une grande efficacité pour la prévention des cas de dengue grave et pour les hospitalisations dues à la dengue. Toutefois, après 3 ans de suivi des participants à l'essai, des incertitudes concernant la sécurité du vaccin se sont manifestées chez certaines catégories d'individus.

## **1.1 Variabilité de l'efficacité du CYD-TDV**

Les divers essais cliniques ont mis en évidence une grande variabilité de l'effet protecteur du CYD-TDV. L'efficacité du vaccin variait notamment selon la zone géographique, le sérotype infectieux, l'âge au moment de la première dose de vaccin, l'état sérologique du patient au début des essais (74)

### **1.1.1 Variation de l'efficacité du vaccin selon la zone géographique**

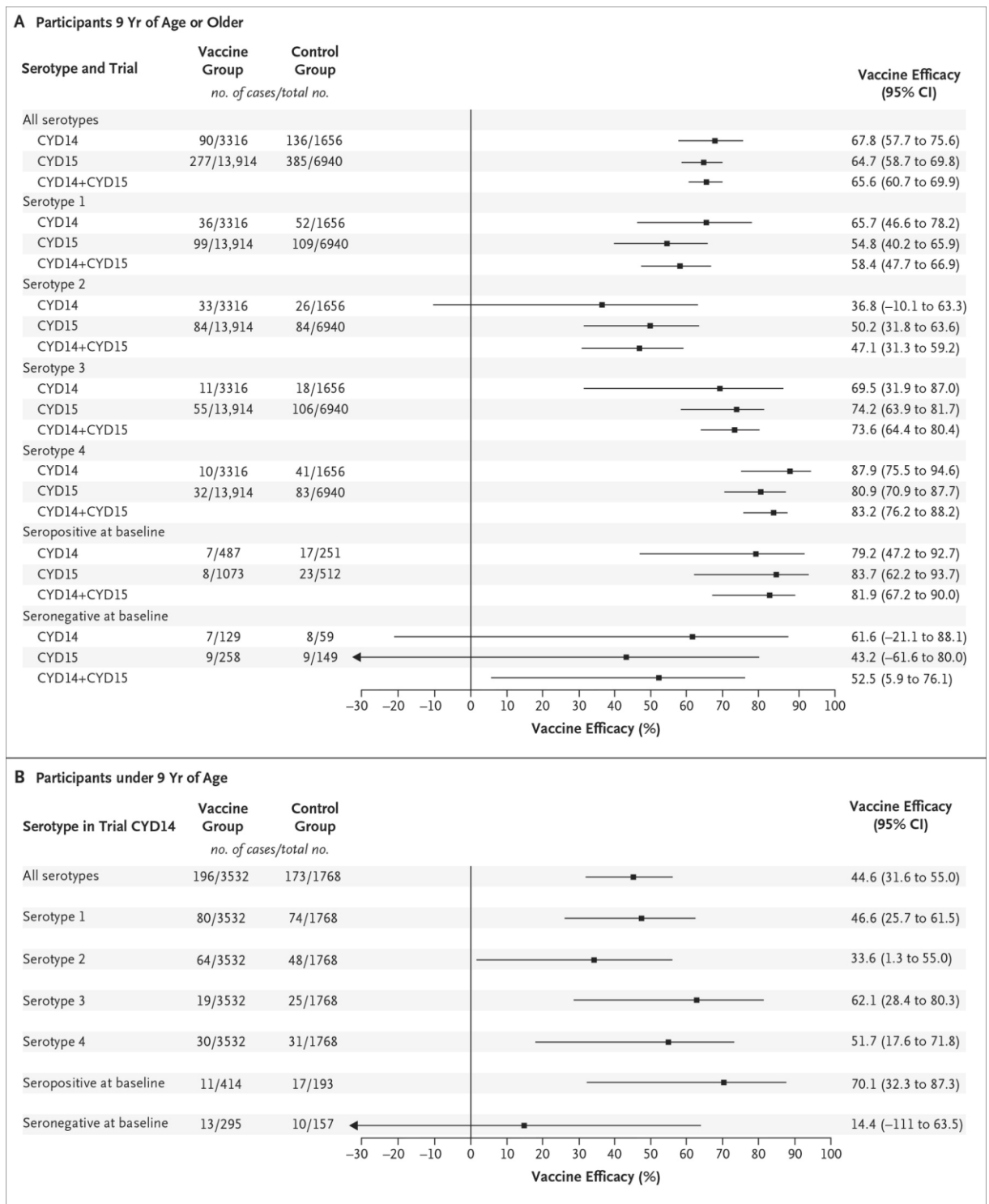
D'une région à l'autre, l'efficacité du vaccin pouvait varier de 31,3% (IC à 95 % : 1,3%-51,9%) au Mexique à 79,0% (IC à 95% : 52,3%-91,5%) en Malaisie (65).

Vraisemblablement, ces différences reflèteraient, plus ou moins partiellement, le statut sérologique de base des patients et les sérotypes viraux circulant. En effet, ces deux facteurs influent sur la performance du vaccin (65).

D'ailleurs, il faut aussi préciser que l'incidence de la dengue dans une région donnée influe sur l'efficacité du vaccin. Des études ont montré que la performance du vaccin dépendait fortement de l'intensité de la transmission locale du virus (75). D'autre part des études prédictives, utilisant plusieurs modèles mathématiques, ont été réalisées pour l'OMS afin d'éclairer ses recommandations sur l'utilisation optimale du Dengvaxia®. Dans les zones où la transmission du virus était élevée (niveau de séroprévalence chez les enfants de 9 ans  $\geq 70\%$ ), les différents modèles mathématiques ont prédit que la vaccination systématique des enfants de 9 ans avec une couverture vaccinale de 80% pouvait induire une diminution de l'incidence des cas de dengue symptomatique et celle des hospitalisations pour dengue. A l'inverse, dans les milieux à très faible intensité de transmission du virus (le taux de séroprévalence chez les enfants de 9 ans est d'environ 10 %), la plupart des modèles prévoient une augmentation des cas symptomatiques de dengue en cas de vaccination de masse (76). Ces études ont mis en évidence que malgré l'efficacité globale modérée du Dengvaxia®, dans les zones où l'incidence de la dengue est élevée, une vaccination de masse pouvait être profitable.

### **1.1.2 Variation de l'efficacité du vaccin selon le sérotype**

Les diverses études cliniques ont montré que l'effet protecteur du vaccin variait considérablement d'un sérotype à l'autre. En général, le vaccin offrait une meilleure protection contre les sérotypes 3 et 4 que contre les sérotypes 1 et 2. Globalement pour toutes les tranches d'âges, les taux d'efficacité contre chacun des sérotypes de la dengue étaient les suivants : DENV-3 (71,6%) ; DENV-4 (76,9%) ; DENV-1 (54,7%) et DENV-2 (43%) (63) (voir tableau 7).



Résultats des essais cliniques de phase 3 (CYD 14 et CYD 15) pour évaluer l'efficacité du CYD-TDV. L'efficacité a été évaluée suivant le sérotype viral. En haut le tableau rapporte les résultats de l'ensemble des 2 études pour les individus âgés de plus de 9 ans. En bas les résultats concernent les individus de moins de 9 ans. Dans ce dernier groupe seul l'essai CYD14 a été rapporté car l'essai CYD15 a été conduits chez des enfants âgés de 9 à 16 ans alors que l'essai CYD14 a été conduit chez des enfants âgés de 2 à 18 ans.

**Tableau 7 : efficacité du CYD-TDV selon le sérotype viral (73).**

Ces différences dans l'efficacité du vaccin pourraient être le résultat de problèmes d'interférences entre les différents sérotypes viraux de la préparation vaccinale. Le vaccin tétravalent était supposé induire une protection équilibrée pour tous les sérotypes. Cependant les études cliniques menées pour le CYD-TDV semblent mettre en évidence une répllication virale déséquilibrée des quatre sérotypes du virus. Lorsque le vaccin serait sous une formulation tétravalente, un des sérotypes du virus présenterait une immunodominance liées à ses épitopes (77).

Depuis le début du développement du Dengvaxia<sup>®</sup>, plusieurs résultats laissaient penser que l'infectiosité des divers sérotypes viraux était inégale. Au cours d'un essai clinique de phase 1 mené dans la ville de Mexico sur des enfants, des adolescents et des adultes, après administration d'une dose de vaccin, les titres d'anticorps neutralisants dirigés contre le sérotype 4 étaient plus élevés que pour les autres sérotypes. Après administration d'une seconde dose de vaccin, les titres d'anticorps chez les sérotypes 1, 2 et 3 ont été stimulés à l'inverse du sérotype 4. Ces résultats confortent l'hypothèse d'une infectiosité de départ insuffisante pour ce qui est des sérotypes 1, 2 et 3. L'infectiosité des sérotypes viraux 1, 2 et 3 aurait été « boostée » par des doses ultérieures de vaccin (19).

En outre, l'étude clinique de phase IIb (CYD-23), menée en Thaïlande sur des enfants, a également mis en évidence que le CYD-TDV n'offrait qu'une faible protection contre le virus DENV-2. La faible efficacité contre DENV-2 pourrait être attribuée aux raisons suivantes :

- Le test PRNT ne reflèterait pas vraiment l'efficacité du vaccin car les cellules Vero utilisées pour le test ne possèdent pas de récepteurs Fc : les phénomènes d'ADE se produisant *in vivo* ne seraient donc pas pris en compte (48).
- Comme le vaccin contiendrait plusieurs épitopes responsables de réactions croisées, il est possible qu'*in vivo* les phénomènes d'ADE prennent le dessus sur les réactions de neutralisation ce qui expliquerait cette faible efficacité (48).
- L'absence de réponse des lymphocytes T CD8+ (50).



- L'existence de discordances entre le génotype du virus DENV-2 circulant en Thaïlande et celui du vaccin. Ces discordances pourraient être causées par des mutations se produisant au niveau de la protéine E (48).

### **1.1.3 Variation de l'efficacité du vaccin selon le statut sérologique**

La variation de l'efficacité du CYD-TDV en fonction du statut sérologique a été analysée à partir d'un petit échantillon d'individus parmi les participants des essais cliniques de phase III. Au sein de ce sous-ensemble des prélèvements sanguins ont été effectués à l'inclusion des essais afin de déterminer le statut sérologique de base des sujets.

Chez les participants séropositifs, l'efficacité était beaucoup plus élevée que chez les sujets séronégatifs. L'efficacité globale du vaccin chez les participants séropositifs âgés de 9 ans ou plus était de 81,9 % (IC à 95 %, 67,2 à 90,0) alors qu'elle n'était que de 52,5% chez les sujets séronégatifs (73, 63). Dans la tranche d'âge des enfants de moins de 9 ans, le vaccin s'est montré également moins performant chez les sujets séronégatifs (voir tableau 7).

Les sujets séropositifs ont développé des titres d'anticorps qui étaient jusqu'à dix fois supérieurs à ceux des patients séronégatifs après chaque dose de vaccin. En outre, chez les sujets naïfs, les titres d'anticorps diminuaient plus rapidement. Cela suggère que le vaccin contribue plutôt à renforcer l'immunité préexistante qu'à augmenter l'immunité de protection nouvellement acquise (63). Il faut toutefois rappeler que ces résultats ont été obtenus à partir d'un nombre limité de sujets.

### **1.1.4 Variation de l'efficacité du vaccin selon l'âge**

Durant les essais cliniques, l'efficacité du vaccin a augmenté avec l'âge des participants. L'efficacité était de 66% pour les enfants de plus de 9 ans, de 45% pour les enfants de moins de 9 ans et de 33,7% pour les enfants de 2 à 5 ans (63).

Ces écarts observés chez les jeunes sujets vaccinés pourraient s'expliquer par le fait que les enfants plus jeunes ont une physiologie vasculaire moins développée et des réponses

immunitaires partiellement immatures (69). En outre, de nombreux enfants plus jeunes étaient séronégatifs au moment de la vaccination (63).

## **1.2 Variabilité de la sécurité du CYD-TDV**

Comme cela avait été recommandé par l’OMS, un suivi à long terme des participants vaccinés au cours des essais cliniques, a été mis en place par le laboratoire Sanofi Pasteur afin d’évaluer la sécurité du CYD-TDV.

L’analyse des données de ce suivi continu a mis en évidence des risques accrus de survenu de dengue sévère à long terme chez certaines catégories de la population.

### **1.2.1 Variation de la sécurité du vaccin suivant l’âge**

La surveillance à long terme des participants a été réalisées à partir des données recueillies durant la troisième année des deux essais de phase III (CYD14, en zone Asie-Pacifique et CYD15, en Amérique latine) et celles obtenues au cours de la troisième et la quatrième année de l’essai de phase IIb CYD57, en Thaïlande (cet essai correspond au suivi à long terme des patients inclus initialement dans l’essai CYD23) (73) (Tableau 8).

L’innocuité du vaccin a été évaluée en mesurant l’incidence des hospitalisations pour dengue confirmée virologiquement. Parmi les participants hospitalisés, un suivi de l’incidence des cas de dengue sévère et de dengue hémorragique a aussi été réalisé. Le risque relatif d’hospitalisations pour dengue a ensuite été calculé, il correspond au rapport annuel entre les taux d’incidence des hospitalisations dans le groupe vacciné et celui du groupe témoin (tableau 8).

Les résultats de ce suivi à long terme des patients vaccinés par le CYD-TDV ont montré un excès des cas d’hospitalisés pour dengue et de cas de dengue grave au cours de la troisième année dans certains groupes de patients.

Pour les essais cliniques de phase III (CYD14 et CYD15), l’excès a surtout été observé chez les enfants vaccinés âgés de 2 à 5 ans en Asie. Le risque relatif d’hospitalisation

pour dengue chez les vaccinés était de 7,45 (IC à 95 % : 1,15 à 313,80) la troisième année ce qui correspond à 15 cas dans le groupe CYD-TDV contre 1 cas dans le groupe témoin (voir tableau 8).

Pour l'essai clinique de phase IIb (CYD57), un risque élevé a également été observé au cours de la troisième année, dans le groupe d'âge le plus jeune. Le risque relatif était de 2,44 (IC à 95% : 0,27 à 115,54) chez les participants vaccinés âgés de 4 à 5 ans ce qui correspond à 5 cas dans le groupe CYD-TDV contre un cas dans le groupe témoin. Ce risque n'est cependant pas statistiquement significatif. D'autre part, au cours de la quatrième année de suivi, ce risque élevé n'a plus été détecté (Tableau 8).

Chez les individus plus âgés de 9 à 16 ans, aucune augmentation du risque d'hospitalisation n'a été signalée. La gravité clinique des cas hospitalisés était semblable dans le groupe CYD-TDV et le groupe témoin (voir tableau 8).

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ces résultats. L'excédent de cas d'hospitalisation pour dengue pourrait être lié à l'âge des patients, à leur statut sérologique ou à ces deux facteurs. En effet, les sujets naïfs, n'ayant jamais été infectés par le virus de la dengue seraient plus nombreux dans le groupe des enfants âgés de 2 à 5 ans. La vaccination agirait comme qu'une infection primaire asymptomatique qui rendrait les jeunes enfants plus susceptibles de développer une maladie sévère au cours d'une première infection naturelle par un virus circulant.

**Table 1. Annual Incidence of Hospitalization for Virologically Confirmed Dengue, According to Trial, Age Group, and Study Period.\***

Trial, Age Group, and Study Period	Vaccine Group			Control Group			Relative Risk (95% CI)
	Cases of Dengue	Total Participants†	Annual Incidence Rate‡	Cases of Dengue	Total Participants†	Annual Incidence Rate‡	
	no.	no.	% (95% CI)	no.	no.	% (95% CI)	
<b>CYD14</b>							
All participants§	27	6,778	0.4 (0.3–0.6)	13	3387	0.4 (0.2–0.7)	1.04 (0.52–2.19)
2–5 yr	15	1,636	1.0 (0.6–1.6)	1	813	0.1 (0.0–0.7)	7.45 (1.15–313.80)
6–11 yr	10	3,598	0.3 (0.1–0.6)	8	1806	0.5 (0.2–1.0)	0.63 (0.22–1.83)
12–14 yr	2	1,544	0.1 (0.0; 0.5)	4	768	0.6 (0.2–1.4)	0.25 (0.02–1.74)
<9 yr	19	3,493	0.6 (0.4–0.9)	6	1741	0.4 (0.1–0.8)	1.58 (0.61–4.83)
≥9 yr	8	3,285	0.3 (0.1–0.5)	7	1646	0.5 (0.2–1.0)	0.57 (0.18–1.86)
<b>CYD15</b>							
All participants¶	16	13,268	0.1 (0.1–0.2)	15	6630	0.2 (0.1–0.4)	0.53 (0.25–1.16)
9–11 yr	10	6,029	0.2 (0.1–0.3)	9	3005	0.3 (0.1–0.6)	0.55 (0.20–1.54)
12–16 yr	6	7,239	<0.1 (0.0–0.2)	6	3625	0.2 (0.1–0.4)	0.50 (0.13–1.87)
<b>CYD57</b>							
All participants							
Year 3	22	2,131	1.1 (0.7–1.7)	11	1072	1.1 (0.6–2.0)	1.01 (0.47–2.30)
Year 4	16	2,131	0.8 (0.4–1.2)	17	1072	1.6 (0.9–2.5)	0.47 (0.22–1.00)
4 or 5 yr							
Year 3	5	393	1.4 (0.5–3.2)	1	192	0.6 (0.0–3.1)	2.44 (0.27–115.54)
Year 4	5	393	1.3 (0.4–2.9)	3	192	1.6 (0.3–4.5)	0.81 (0.16–5.24)
6–11 yr							
Year 3	17	1,738	1.1 (0.6–1.7)	10	880	1.2 (0.6–2.3)	0.86 (0.37–2.10)
Year 4	11	1,738	0.6 (0.3–1.1)	14	880	1.6 (0.9–2.7)	0.40 (0.16–0.94)
<9 yr							
Year 3	19	1,338	1.5 (0.9–2.4)	6	665	1.0 (0.4–2.1)	1.57 (0.60–4.80)
Year 4	13	1,338	1.0 (0.5–1.7)	12	665	1.8 (0.9–3.1)	0.54 (0.23–1.29)
≥9 yr							
Year 3	3	793	0.4 (0.1–1.2)	5	407	1.3 (0.4–3.1)	0.31 (0.05–1.58)
Year 4	3	793	0.4 (0.1–1.1)	5	407	1.2 (0.4–2.8)	0.31 (0.05–1.58)

\* CYD14 and CYD15 are two phase 3 randomized efficacy studies involving a total of more than 31,000 participants between the ages of 2 and 16 years in Asian–Pacific and Latin American countries, respectively. In addition, 3203 of 4002 participants (80%) who were between the ages of 4 and 11 at initial enrollment in the phase 2b CYD23 trial in Thailand are being followed in the CYD57 trial. The trials had similar designs. Listed are virologically confirmed cases of any serotype of dengue during year 3 in the CYD14 and CYD15 trials and in years 3 and 4 in the CYD57 trial.

† Listed is the number of participants at the beginning of each year or the mean number of participants who were followed during the years included in the period.

‡ Since data were collected for 11 months during year 3 (from month 25 to month 36), the annual incidence was calculated as the number of cases divided by the total number of participants divided by 11 times 12.

§ During year 3 in the CYD14 trial, the numbers of participants with disease caused by each serotype at baseline in the vaccine group versus the control group (with patients randomly assigned in a 2:1 ratio) were as follows: serotype 1, 11 vs. 1; serotype 2, 3 vs. 0; serotype 3, 13 vs. 7; and serotype 4, 0 vs. 5.

¶ During year 3 in the CYD15 trial, the numbers of participants with disease caused by each serotype at baseline in the vaccine group versus the control group were as follows: serotype 1, 5 vs. 5; serotype 2, 8 vs. 11; serotype 3, 3 vs. 0; and serotype 4, 0 vs. 0.

|| During years 3 and 4 in the CYD57 trial, the numbers of participants with disease caused by each serotype at baseline in the vaccine group versus the control group were as follows: year 3: serotype 1, 5 vs. 5; serotype 2, 17 vs. 4; serotype 3, 1 vs. 1; and serotype 4, 0 vs. 0; year 4: serotype 1, 4 vs. 3; serotype 2, 4 vs. 6; serotype 3, 6 vs. 3; and serotype 4, 2 vs. 4.

**Tableau 8 : incidence des hospitalisations pour dengue suivant l'âge des individus vaccinés par CYD-TDV (73).**

### **1.2.2 Variation de la sécurité du vaccin suivant le statut sérologique**

Les données concernant le suivi des sujets séronégatifs ont été obtenues à partir d'un petit sous-groupe de patients dont le statut sérologique a été évalué au début des essais cliniques de phase III. Ces données limitées n'ont pas montré de risque accru de dengue sévère chez les individus séronégatifs âgés de 9 ans et plus.

Toutefois, l'OMS a mentionné la possibilité d'une faible efficacité et d'un risque élevé de dengue sévère chez les individus vaccinés séronégatifs en raison des observations faites dans le groupe d'âge plus jeune (1).

L'OMS a donc considéré qu'il était prioritaire de poursuivre des études visant à surveiller les risques de survenue de dengue grave chez les sujets séronégatifs afin de disposer de plus amples données sur l'innocuité du vaccin dans cette population d'individus (1).

## **2 Analyses complémentaires apportées par Sanofi en post-hoc**

### **2.1 Test utilisés pour l'analyse des données en post-hoc**

Sanofi Pasteur a réanalysé les données des essais de phase III en fonction du statut sérologique des participants avant la vaccination, grâce à un nouveau test de diagnostic sérologique. En effet, le statut sérologique de la plupart des participants n'avait pas été déterminé à l'inclusion. Les tests pour évaluer l'exposition antérieure des participants au virus de la dengue n'étant pas des tests de diagnostic rapides seul un sous-groupe de participants avait pu être évalué. Ce petit échantillon ne permettait pas d'analyser correctement les données d'efficacité et d'innocuité à long terme du Dengvaxia® en fonction de l'état sérologique de l'ensemble des sujets.

Pour réaliser cette réanalyse des données cliniques, un nouveau test mis au point par l'Université de Pittsburgh a été utilisé. Il a permis de déterminer l'état sérologique avant la vaccination à partir d'échantillons prélevés sur tous les participants à l'essai, 13 mois après la première dose correspondant au mois qui a suivi l'administration de la troisième dose de vaccin.

Après vaccination les participants avaient des anticorps contre la dengue au 13e mois, mais on ne pouvait pas déduire si ces anticorps avaient été induits par le vaccin, par une infection par des virus de la dengue avant la vaccination, ou les deux.

Or le Dengvaxia<sup>®</sup> est un vaccin recombinant qui exprime les protéines non structurales du virus de la fièvre jaune et les protéines pré-membranaires et d'enveloppe du virus de la dengue. Ainsi le vaccin n'exprime pas la protéine de structure NS1 du virus de la dengue et il ne pourrait pas induire d'anticorps anti-NS1 chez les sujets vaccinés. Par contre, chez les patients séropositifs ayant été infectés par le virus de la dengue avant la vaccination, les anticorps anti-NS1 du virus de la dengue sont présents.

Les IgG spécifiques de la protéine NS1 du virus de la dengue ont donc été utilisés comme des marqueurs d'une exposition antérieure au virus. Ces IgG ont été dosées par un dosage immunoenzymatique quantitatif ELISA.

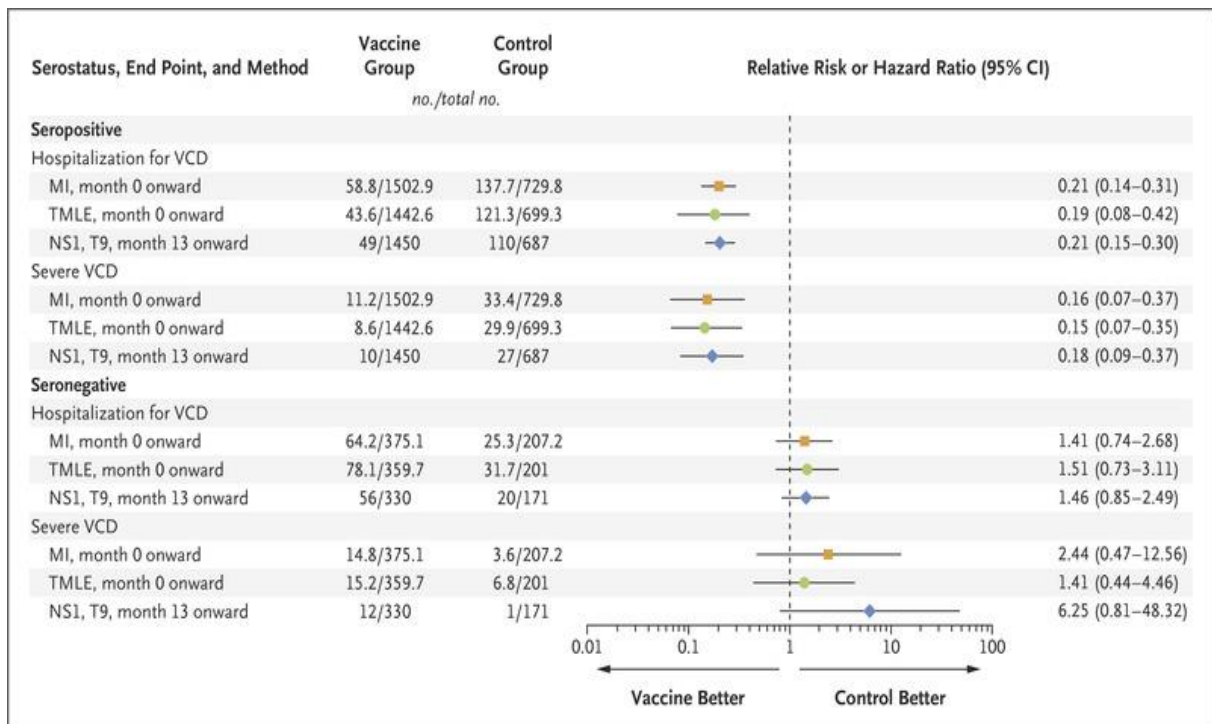
Le test ELISA a été pratiqué sur une sous-cohorte échantillonnée au hasard, et il a ensuite été combiné à des méthodes statistiques d'imputation de données manquantes pour déduire l'état sérologique de base de l'ensemble des participants. Deux méthodes statistiques différentes ont été utilisées : une technique MI (méthode d'imputation multiple) et une méthode TMLE (Targeted Minimum Loss-based Estimation). Les données des essais cliniques ont pu ainsi être analysées en post-hoc en fonction du statut sérologique des participants.

## **2.2 Résultats des analyses complémentaires**

Les analyses complémentaires ont montré que, le vaccin apportait un bénéfice global sur la population mais que son action différait suivant que les individus aient été infectés ou pas auparavant par le virus (78).

La nouvelle étude a montré que les participants vaccinés, présumés séropositifs, ont été protégés de la survenue d'une dengue sévère et d'une hospitalisation pour dengue pendant toute la période d'observation de 5 ans (voir tableau 9) (78).

Par contre, les participants présumés séronégatifs vaccinés ont présenté un risque de dengue sévère et d'hospitalisation pour dengue significativement plus élevé que les participants non vaccinés (tableau 9) (78).



VCD : dengue virologiquement confirmée

Le statut sérologique de la dengue a été déterminé soit :

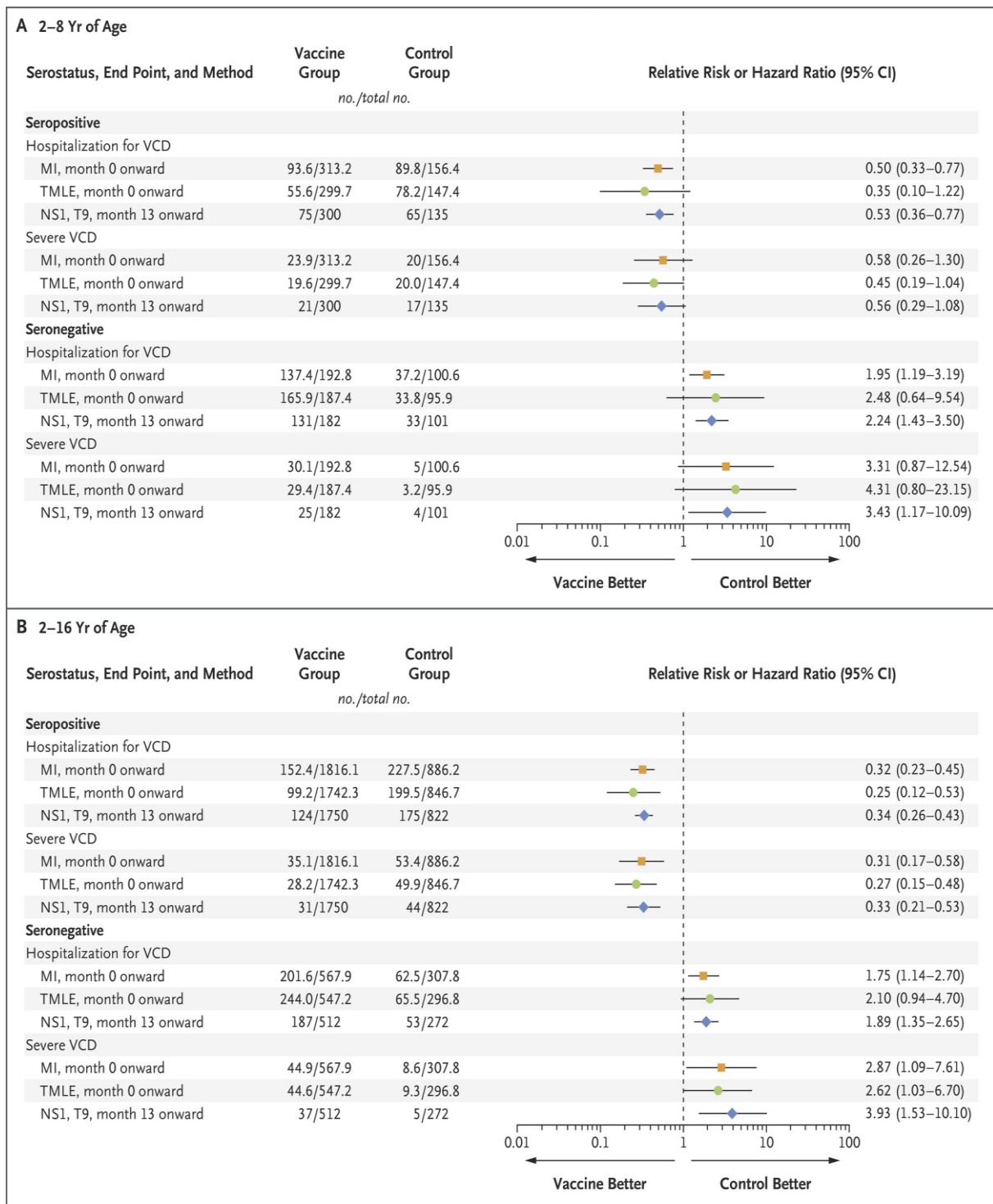
\_ par la méthode statistique d'imputation multiple (MI) à partir du mois 0,

\_ par la méthode statistique d'estimation TMLE (Targeted Minimum Loss-based Estimation) à partir du mois 0

\_ à partir des titres de protéine anti-NS1 (le seuil pour positivité est de 9 unités ELISA par ml[T9]) au mois 13 et plus.

**Tableau 9 : risque relatif de dengue sévère et d'hospitalisations pour dengue en fonction du statut sérologique (78)**

Ce risque accru de dengue et d'hospitalisations chez les sujets séronégatifs s'est confirmé quel que soit l'âge des sujets vaccinés au début de l'essai (voir tableau 10) (78).



VCD : dengue virologiquement confirmée

Le statut sérologique de la dengue a été déterminé soit :

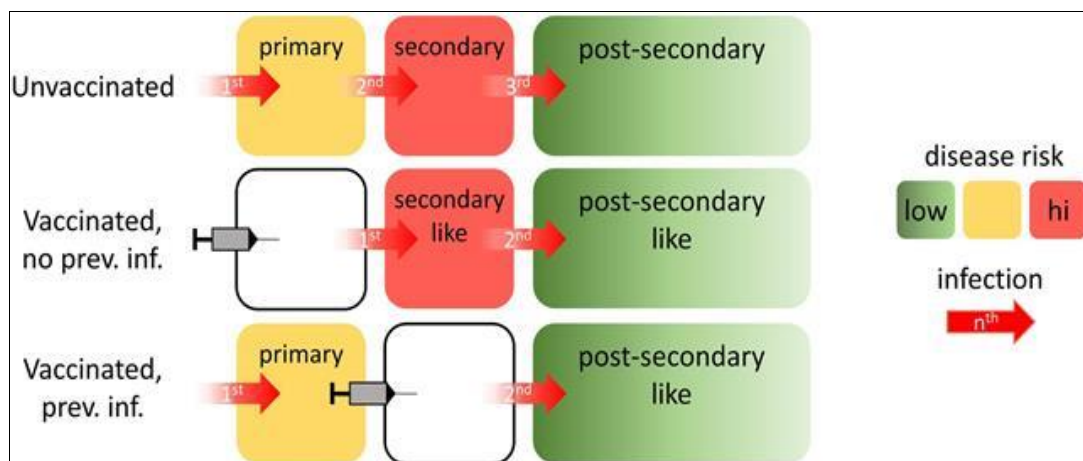
- \_ par la méthode statistique d'imputation multiple (MI) à partir du mois 0,
- \_ par la méthode statistique d'estimation TMLE (Targeted Minimum Loss-based Estimation) à partir du mois 0
- \_ à partir des titres de protéine anti-NS1 (le seuil pour positivité est de 9 unités ELISA par ml[T9]) au mois 13 et plus.

**Tableau 10 : risque de dengue sévère et d'hospitalisations pour dengue en fonction du statut sérologique et de l'âge (78)**



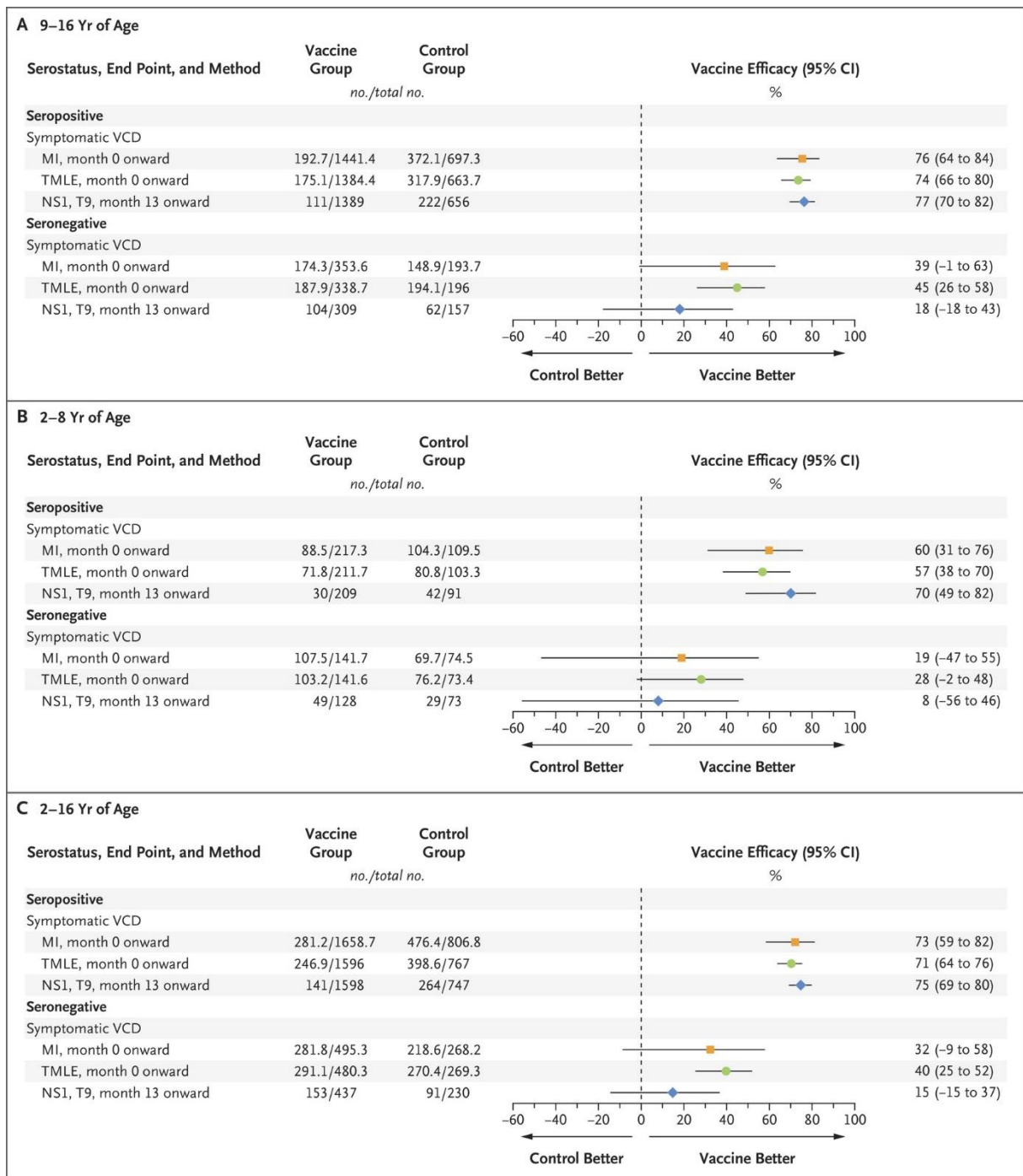
En fait, les sujets séronégatifs ont d'abord bénéficié d'une période de protection initiale au cours des deux premières années, mais à partir de la troisième année le risque était plus élevé que chez les sujets séropositifs. Le risque élevé a persisté tout au long de la période de suivi des participants, soit environ cinq ans après la première dose de vaccin. Toutefois c'est durant la troisième année que ce risque a été le plus important puis il a diminué au cours des années suivantes (78).

Les raisons de l'excès de cas de dengue grave et d'hospitalisations pour dengue ne sont pas bien comprises, mais il est possible que le vaccin agisse comme une primo-infection par le virus de la dengue. Une infection naturelle post-vaccinale correspondrait alors à une infection secondaire pour laquelle le risque de dengue sévère serait augmenté. La figure ci-dessous illustre cette hypothèse (74).



**Figure 21 : phénomènes pouvant expliquer l'augmentation du risque de dengue sévères chez les individus séronégatifs (74)**

La nouvelle analyse de Sanofi a également réévalué l'efficacité du vaccin en fonction du statut sérologique des patients. Elle a montré que chez les personnes séropositives, l'efficacité du vaccin était élevée (jusqu'au mois 25), alors qu'elle n'était que modeste chez les sujets séronégatifs vaccinés. Ces résultats concordent avec les observations antérieures retrouvées avec le sous-ensemble formé au début des essais cliniques de phase III (voir tableau 11).



VCD : dengue virologiquement confirmée

Le statut sérologique de la dengue a été déterminé soit :

\_ par la méthode statistique d'imputation multiple (MI) à partir du mois 0,

\_ par la méthode statistique d'estimation TMLE (Targeted Minimum Loss-based Estimation) à partir du mois 0

\_ à partir des titres de protéine anti-NS1 (le seuil pour positivité est de 9 unités ELISA par ml[T9]) au mois 13 et plus.

**Tableau 11 : efficacité du CYD-TDV suivant le statut sérologique et l'âge (78).**

### **3 Recommandations des institutions internationales et actions du fabricant**

#### **3.1 Actions du laboratoire Sanofi**

En Novembre 2017, Sanofi a informé les agences réglementaires nationales des résultats des analyses complémentaires réalisées sur le Dengvaxia<sup>®</sup>. L'entreprise a proposé de mettre à jour les informations médicales destinées aux médecins et aux patients. Les nouvelles données et les modifications proposées devaient être examinées par les agences réglementaires nationales des différents pays où le vaccin était enregistré ou en cours d'enregistrement pour pouvoir être approuvées.

Aux professionnels de santé, l'entreprise a expliqué que la vaccination n'était pas recommandée pour les personnes n'ayant jamais été infectées auparavant par le virus de la dengue. L'utilisation du vaccin ne devrait être recommandée que lorsque les bénéfices potentiels l'emportaient sur les risques potentiels, c'est-à-dire dans les pays où l'incidence de la dengue est élevée.

#### **3.2 Recommandations des institutions internationales et des instances nationales**

En matière de politique de santé publique mondiale, l'OMS joue un rôle d'information et d'aide aux Etats membres pour l'élaboration et la mise en place de politiques vaccinales.

Au sein de l'institution, un groupe consultatif indépendant, le SAGE (Groupe stratégique consultatif d'experts sur la vaccination), est chargé de formuler des recommandations au sujet de toutes les maladies à prévention vaccinale et des programmes de vaccination à tous les âges.

L'efficacité modérée du CYD-TDV et l'insuffisance de données concernant sa tolérance chez les sujets naïfs, ont amené l'OMS et le groupe SAGE à émettre des recommandations afin de mieux définir le cadre dans lequel l'utilisation du vaccin était à envisager.

- Les premières recommandations émises sont liées au degré d'endémicité de la zone d'introduction éventuel du vaccin :

En avril 2016, le groupe SAGE a émis un avis en se basant sur les données des essais cliniques du vaccin et sur une modélisation mathématique visant à évaluer l'impact de la vaccination en termes de santé publique dans différentes populations (76).

Le groupe d'experts a recommandé de n'envisager l'introduction du vaccin que dans les contextes géographiques de forte endémicité où le taux de séroprévalence de la dengue est supérieur ou égale à 70%.

De plus, en cas d'épidémie, le groupe a considéré que la vaccination n'était pas une mesure à envisager, mais qu'elle pouvait être considérée comme un outil supplémentaire à la disposition des Etats pour contrôler une épidémie de dengue dans des zones de forte endémicité.

Dans tous les cas, l'introduction du vaccin ne devait pas empêcher un maintien des actions de lutte anti-vectorielle et de surveillance épidémiologique de la maladie (65).

- En France, le Haut Conseil en Santé Public, HCSP, a rendu un premier avis en juillet 2016, concernant l'instauration d'une vaccination contre la dengue à la Réunion, Mayotte et les territoires français d'Amérique. A cette période, le Dengvaxia<sup>®</sup> était encore en cours d'évaluation à l'Agence européenne du médicament et la question d'une utilisation précoce du vaccin dans ces territoires où la dengue sévit sur un mode endémo-épidémique se posait.

En se référant à l'avis du groupe SAGE et aux données épidémiologiques des régions concernées, le HCSP a estimé que l'introduction de la vaccination contre la dengue n'était pas recommandée à la Réunion et à Mayotte. En effet d'après les données de séroprévalence, ces régions ne pouvaient pas être considérées comme des zones de haute ou moyenne endémicité (80).

Par contre, le HSCP a estimé que les territoires français d'Amérique étaient quant à eux des zones de haute/moyenne incidence de la dengue pouvant être touchées par une épidémie dans un futur proche. Cependant il a préféré

disposer d'un délai supplémentaire pour décider de la nécessité d'introduire une vaccination anti-dengue précoce (80).

En octobre 2016, un avis complémentaire a été rendu par le Haut Conseil. Il a considéré qu'une vaccination généralisée de la population des territoires français d'Amérique ne pouvait être recommandée avant que l'agence européenne du médicament n'ait donné son avis sur l'octroi d'une éventuelle AMM au Dengvaxia®.

Cette décision du conseil reposait notamment sur le fait que les taux de séroprévalence de la dengue n'étaient pas connus pour toutes les tranches d'âge de la population dans certains territoires. Le conseil a d'ailleurs recommandé la mise en place d'études de séroprévalence afin d'obtenir ces informations.

Le HCSP a aussi jugé que la vaccination ciblée des personnes atteintes de diabète et de drépanocytose n'était pas pertinente bien que ces pathologies pourraient favoriser la survenue de cas de dengue sévère. Toutefois, il a recommandé la mise en place d'un essai clinique sur la vaccination contre la dengue chez les patients présentant un syndrome drépanocytaire majeur (81).

Suite à l'annonce des données de réanalyse de Sanofi Pasteur, de nouvelles recommandations ont été émises par le groupe SAGE et l'OMS.

En avril 2018, le groupe d'experts SAGE a proposé d'employer le Dengvaxia® suivant deux types de stratégies vaccinales afin d'optimiser les bénéfices du vaccin et minimiser les risques liés à son utilisation.

La première stratégie consiste à faire une sélection des personnes à vacciner, à l'aide d'un test biologique, pour identifier les individus séropositifs qui seront les seuls à être vaccinés. La deuxième option consisterait à vacciner en masse des populations pour lesquelles l'incidence de la dengue serait supérieure ou égale à 80 %.

L'option privilégiée par le groupe SAGE est celle nécessitant de sélectionner au préalable les sujets à vacciner suivant leur statut sérologique. Le groupe a précisé que tous les tests sérologiques disponibles actuellement pouvaient être utilisés.

Malheureusement, les tests sérologiques dont on dispose ne sont pas entièrement fiables : leur spécificité peut être diminuée par des réactions croisées avec d'autres flavivirus et leur sensibilité est variable notamment selon le moment du prélèvement des échantillons.

Le manque de spécificité des tests engendre des faux positifs au sein des personnes séronégatives qui pourraient alors faire partis des individus à vacciner bien qu'elles soient plus à risque de développer une dengue sévère.

De plus, la gestion de la mise en place de ces tests avant l'administration du vaccin complique et augmente le coût de la vaccination contre la dengue.

Le développement de tests de diagnostic rapides, peu coûteux, très sensibles et spécifiques, constitue un enjeu majeur pour encore optimiser l'utilisation du Dengvaxia®.

#### **4 Les futurs vaccins**

Le Dengvaxia® a été le premier vaccin contre la dengue à avoir obtenu une autorisation de mise sur le marché mais plusieurs autres candidats vaccins sont actuellement en cours d'évaluation clinique et préclinique. Dans ce paragraphe, nous donnerons un aperçu des différentes approches technologiques utilisées pour le développement des futurs vaccins contre la dengue, puis nous présenterons brièvement les vaccins les plus avancés.

## **4.1 Stratégies de développement de vaccins contre la dengue**

### **4.1.1 Vaccins vivants**

Cette approche reste la voie royale pour le développement de nouveaux vaccins. Elle permet d'induire une réponse vaccinale proche des défenses immunes naturelles. Elle intègre notamment des propriétés d'activation de la réponse immune que miment les adjuvants. Ce groupe de vaccins comprend en fait des vaccins vivants atténués. Les méthodes utilisées pour diminuer la virulence de l'agent pathogène inclus dans la préparation vaccinale diffèrent et on distingue des vaccins atténués par :

- passages successifs sur culture cellulaire.
- mutagénèse
- virus chimériques vivants

Ces vaccins vivants atténués ont l'avantage d'induire une réponse immunitaire robuste, large, de longue durée tout en nécessitant des coûts de productions moindres. Par contre il est difficile d'atténuer la virulence des agents pathogènes entrant dans la composition des préparations vaccinales. De plus, cette catégorie de vaccins présente une instabilité génétique, un risque de retour à la virulence et d'interférences en cas de vaccins multivalents (48).

### **4.1.2 Vaccins inertes**

Cette classe de vaccins est composée d'agents pathogènes incapables de se multiplier ce qui confère aux sujets vaccinés une immunité sans risque d'infection. Dans ce groupe on retrouve entre-autre :

- Des vaccins à base de virus inactivés
- Des vaccins obtenus à partir de sous-unités protéïques
- Des vaccins à ADN
- Des vaccins à base de vecteurs d'expression viraux
- Particules pseudo-virales (VLP)

Ce type de vaccins est moins réactogène et convient mieux aux individus immunodéprimés. Dans les formulations tétravalentes, la réponse immunitaire induite par ces vaccins est plus équilibrée, mais elle est moins solide, moins large et moins

longue que celle des vaccins vivants atténués. Des phénomènes d'ADE sont également plus susceptibles de se produire. Pour améliorer la réponse immunitaire, il est souvent nécessaire d'ajouter des adjuvants, ce qui augmente le coût de ces vaccins (48).

## 4.2 Présentation de quelques candidats vaccins en cours de développement

### 4.2.1 Vaccins vivants atténués en cours de développement

Parmi les vaccins en cours de développement pour lutter contre la dengue, les vaccins vivants atténués sont les plus avancés. Dans cette catégorie de vaccins on trouve notamment le TDV (DENVax<sup>®</sup>) et le TV003/TV005.

- *Le TDV : DENVax<sup>®</sup>*

Le TDV est un vaccin vivant atténué tétravalent chimérique. Il est développé par le laboratoire Takeda et se compose d'un virus DEN-2 atténué et de trois virus chimériques. Le squelette de base des souches chimériques est le virus DEN 2 précédent auquel on a greffé les protéines pré-membranaires et d'enveloppe des virus de la dengue de sérotype 1, 3 et 4. La souche virale de sérotype 2 qui a été utilisée est une souche sauvage provenant d'un patient symptomatique en Thaïlande. Elle a été atténuée après 53 passages sur des cellules rénales de chien. On a ainsi obtenu la souche DENV-2 PDK53 (82). Le vaccin TDV actuel présente trois mutations d'atténuation dans le génome viral (85).

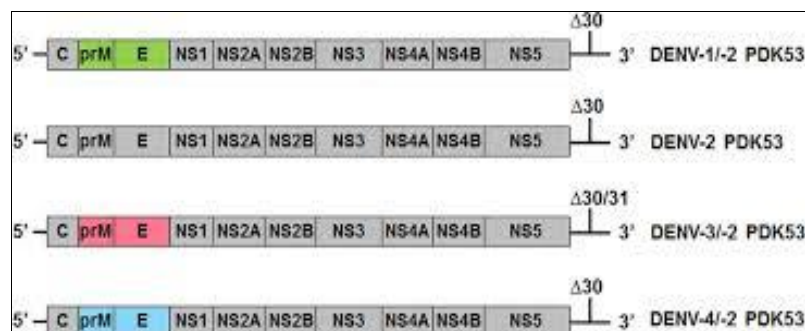


Figure 22 : le vaccin tétravalent chimérique DENVax<sup>®</sup> (86)

Au cours des études cliniques, DENVax<sup>®</sup> a été bien toléré, aussi bien chez les enfants que chez les adultes et quel que soit leur exposition antérieure au virus de la dengue. Le



vaccin s'est avéré capable d'induire des anticorps neutralisants puissants et une réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T de type croisée pour les quatre sérotypes viraux de la dengue. Cependant, les taux de séroconversion mesurés contre les quatre virus de la dengue étaient déséquilibrés. Les taux de séroconversion développés contre le virus DENV-4 étaient beaucoup plus faibles que ceux produits contre les trois autres sérotypes. Des phénomènes d'interférence pourraient donc aussi se produire avec le vaccin DENVax<sup>®</sup> (84, 86).

Le développement du vaccin s'est poursuivi et en septembre 2016, Takeda a démarré une large étude de phase III (TIDES) afin d'évaluer l'efficacité, l'innocuité et l'immunogénicité de son candidat vaccin chez des enfants en bonne santé, âgés de 4 à 16 ans en Amérique latine et en Asie (87).

- *Le TV003 et le TV005*

Le TV003 et le TV005 ont d'abord été mis au point par le National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). Ils ont ensuite été développés par divers laboratoires comme Merck aux Etats Unis ou Butantan au Brésil, via des licences. Le programme initial du NIAID avait notamment pour but de mettre au point un vaccin administrable en une dose unique.

Le TV003/TV005 est un vaccin vivant chimérique atténué par mutations génétiques. Chaque souche spécifique d'un sérotype viral a subi la même mutation génétique pour tenter d'obtenir des souches ayant une cinétique similaire au niveau de l'évolution des titres d'anticorps. La réponse humorale ainsi développée devrait être équilibrée et les interférences immunitaires diminuées (84).

Pour les virus DEN-1 et DEN-4, la mutation génétique qui a été pratiquée est une délétion de 30 nucléotides dans la région 3' UTR (untranslated region) de leurs génomes respectifs. On obtient alors les virus recombinants rDEN1-Δ30 et rDEN4-Δ30.

Le virus DEN-3 a été atténué par deux délétions de 30 et 31 nucléotides dans la région 3' UTR. On a ainsi obtenu le virus rDEN3-Δ30,31.

Pour la souche virale DEN-2, la délétion de 30 nucléotides n'a également pas permis d'atténuer suffisamment le virus. Un virus chimérique a donc été construit en remplaçant les gènes prM et E du virus rDEN4- $\Delta$ 30 par celle du virus DEN-2. Le virus obtenu est rDEN2/4- $\Delta$ 30 (71).

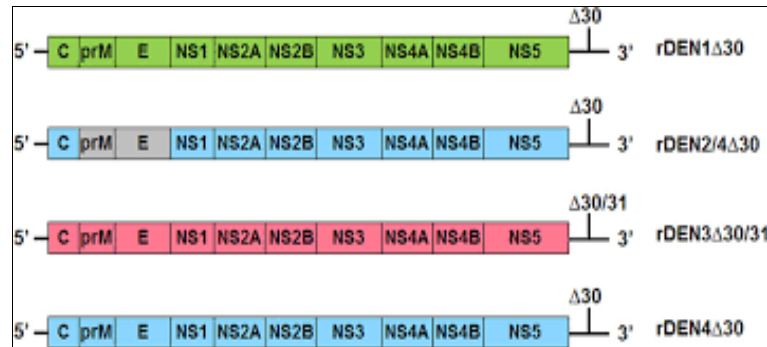


Figure 23 : le TV003 et le TV005, vaccins vivants atténués par mutation génétique (84)

TV003 est la première formulation du vaccin produite : chacun des vaccins recombinant du virus de la dengue s'y retrouve à la même dose. Au cours des essais cliniques le TV003 a été capable d'induire une solide réponse humorale par la production de taux d'anticorps neutralisants élevés et une réponse immunitaire cellulaire large et multi-spécifique.

Cependant le taux d'anticorps dirigés contre le virus de sérotype 2 était inférieurs à ceux des autres sérotypes viraux. De plus, bien qu'aucun vacciné n'ait développé la dengue, un nombre important de vaccinés a présenté une éruption maculo-papuleuse diffuse (80% des vaccinés) et une neutropénie (40%).

Une seconde formulation du vaccin, TV005, a été élaborée. Elle contient une proportion de virus DEN-2 supérieure aux autres types viraux. Les taux de séroconversion des sujets vaccinés avec la seconde formulation étaient élevés même contre le virus DEN-2. Toutefois des réactions à type d'éruptions maculo-papuleuses ont continué à être observées chez de nombreux participants vaccinés (60% des volontaires vaccinés) (71) (86).

Au Brésil, le TV003 est entré dans un large essai clinique de phase III en avril 2015. L'étude vise à évaluer l'efficacité et la sécurité du vaccin lorsqu'il est administré en une seule dose à des enfants et des adultes en bonne santé âgés de 2 à 59 ans (86).

#### 4.2.2 Vaccins inertes en cours de développement

- *Le DEN-80E (V180®)*

DEN-80E est un vaccin recombinant composé de la sous-unité protéique d'un des virus de la dengue. Ce vaccin développé par Merck contient une protéine E tronquée au niveau de l'acide aminé 395. La sous-unité protéique recombinante obtenue contient 80 % de l'extrémité N terminale de la protéine d'enveloppe E du virus de la dengue. L'absence de l'extrémité N-terminale a permis d'améliorer la sécrétion, la purification et l'immunogénicité de la glycoprotéine E. La protéine DEN-80E de chacun des sérotypes viraux a été obtenue par expression dans le système d'expression *Drosophila* S2 pour produire un vaccin tétravalent (71).



Figure 24 : vaccin recombinant à base d'une sous-unité protéique (71)

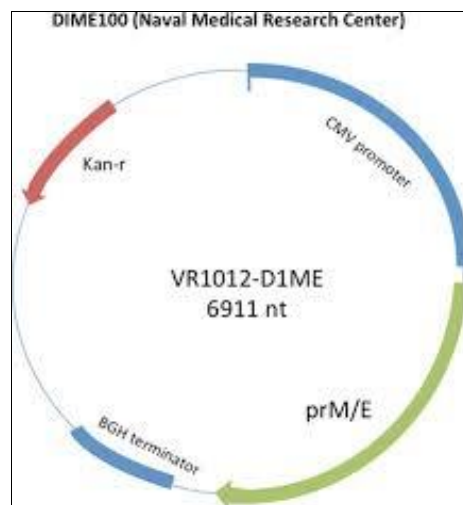
Une étude de phase I a été menée pour évaluer la sécurité et l'immunogénicité du vaccin à des doses faibles, moyennes et élevées. Dans l'ensemble le vaccin a été bien toléré et aucun vacciné n'a développé de réaction indésirable grave. Les taux de séroconversion étaient élevés mais 26 semaines après la troisième dose les taux d'anticorps ont décliné rapidement. Des adjuvants ont donc été utilisés pour renforcer l'immunogénicité du vaccin. Un large essai de phase I a été proposé avec la sous-unité protéique DEN-80 à laquelle a été ajouté un adjuvant afin de déterminer si la réponse immunitaire induite serait plus forte et plus durable (71).

- *D1ME100*

D1ME100 est un vaccin monovalent à ADN actuellement à l'étude au US Naval Medical Research Center (NMRC). Il est constitué d'un vecteur plasmidique (pVR1012) dans lequel sont inclus les gènes codant pour les protéines pré-membranaires et d'enveloppe du virus DENV-1. L'expression des gènes est sous le contrôle du promoteur du cytomégalovirus humain.

Le plasmide administré pourra être ingéré par les cellules présentatrices d'antigènes de l'hôte qui activeront les lymphocytes T. Ainsi ce procédé permet d'activer aussi une réponse immunitaire cellulaire.

Le premier vaccin produit contenait un gène E tronqué qui ne codait que 92 % de la protéine E. Mais il s'est révélé moins immunogène que le vaccin contenant 100 % des gènes de la protéine E. Le vaccin anti-dengue D1ME finalement produit est donc un vaccin plasmidique codant pour la protéine prM et la totalité de la protéine E du virus DENV-1 (71, 86).



**Figure 25 : Vaccin plasmidique à ADN monovalent (71)**

Une étude de phase I visant à évaluer la tolérance et l'immunogénicité du vaccin chez des adultes sains naïfs aux flavivirus a été conduite. Pour améliorer l'immunogénicité du D1ME100, il a été formulé avec un adjuvant à base de lipides, Vaxfectin®.

Le D1EM100 a été bien toléré. Toutefois, pour des doses faibles de vaccin il n'y a pas eu de réponse humorale. Aux fortes doses seulement 41,6 % des participants ont produit des anticorps qui n'ont pas persisté longtemps (71).

- *TDEN-PIV*

TDEN-PIV est un vaccin tétravalent à base de virus purifié inactivé conjointement développé par GSK et le Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) et l'institut de technologies immunologiques Fiocruz. Le TDEN-PIV est constitué de particules virales entières produites sur cellules Vero et inactivé par de la formaline. Ce type de vaccin présente l'avantage d'induire moins de phénomènes d'interférences (84).

Un essai de phase I a évalué l'innocuité et l'immunogénicité du vaccin à des doses élevées et faibles chez des adultes naïfs aux flavivirus aux Etats-Unis. Les participants ont reçu 2 injections de vaccin à quatre semaines d'intervalle. Plusieurs adjuvants ont été testés.

Les diverses formulations vaccinales ont montré que le vaccin avait un profil de tolérance acceptable et induisait des taux d'anticorps élevés et équilibrés contre les 4 sérotypes du virus de la dengue. Cependant, les titres d'anticorps ont diminué au cours des six premiers mois qui ont suivi la seconde dose de vaccin. Une dose de rappel a été nécessaire pour stimuler à nouveau la réponse immunitaire (89).

## CONCLUSION

La dengue est l'arbovirose la plus répandue dans le monde et on estime que 50% de la population mondiale vit dans des zones à risque d'infection. La mise au point d'un vaccin afin de lutter contre l'infection était attendu depuis longtemps. Mais la complexité de la maladie a considérablement ralenti le travail des chercheurs.

Le virus de la dengue se présente sous quatre sérotypes distincts. Un sérotype infectant confère une immunité protectrice qui lui est spécifique mais qui ne protège pas contre les autres sérotypes. Au contraire, une infection secondaire augmente le risque de développer une dengue sévère. Les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la survenue de ces formes graves de dengue sont encore mal connus. De plus, l'étude de la maladie chez les animaux est difficile car ils développent très peu de symptômes. A toutes ces difficultés, il faut aussi ajouter le fait qu'il n'existe pas de test adéquat pour évaluer l'efficacité des vaccins contre la dengue.

Tous ces éléments pourraient expliquer la protection modérée de 60%, conférée par le Dengvaxia<sup>®</sup>, premier vaccin commercialisé pour la prévention de la dengue. Le vaccin a présenté une bonne tolérance mais chez les individus séronégatifs il est déconseillé car il augmente le risque de survenue de dengue sévère. De plus le vaccin ne peut être administré aux enfants de moins de neuf ans alors que les formes sévères de dengue sont plus fréquentes chez les enfants en bas âge.

Face à ces résultats, la communauté scientifique s'est divisée quant à l'utilité du Dengvaxia<sup>®</sup>. De son côté, l'OMS a émis plusieurs avis afin d'encadrer l'utilisation du vaccin pour lui garantir une efficacité et une sécurité optimale. Les recommandations proposées par l'OMS présentent toutefois des limites du fait du manque de certains outils de diagnostic biologiques efficaces, d'une plus grande difficulté de la mise en place de la vaccination et d'une augmentation de son coût. D'autre part les personnes séronégatives et les jeunes enfants restent exclus des programmes de vaccination.

La commercialisation du Dengvaxia<sup>®</sup> a permis de mettre en avant tous les problèmes qu'il reste à résoudre pour mettre au point un vaccin efficace. De nouveaux vaccins devraient arriver sur le marché prochainement et on espère que leur performance sera améliorée.

## BLIOGRAPHIE

1. WHO. Dengue vaccine safety update. Weekly epidemiological record. 2018, 93 (3) : 17-32.
2. Kato F, Hishiki T. Dengue Virus Reporter Replicon is a Valuable Tool for Antiviral Drug Discovery and Analysis of Virus Replication Mechanisms. *Viruses* 2016 ;8 (5) :122. doi:10.3390/v8050122
3. Fragnoud R, Paranhos-Baccalà G, Bedin F. Dengue sévère : des hypothèses de la pathogénicité aux outils de pronostic. *Virologie* 2014 ;18 (2) :59-74.
4. Hottz E, Tolley ND, Zimmerman GA, Weyrich AS, Bozza FA. Platelets in dengue infection. *Haematology* 2011 ;8 (1-2) : e1-e52. doi.org/10.1016/j.ddmec.2011.09.001
5. Courageot MP, Deprès P. La pathogénicité du virus de la dengue et la mort cellulaire par apoptose. *Virologie* 2001 ;5 (6) :397-407.
6. Creative Diagnostics. Dengue virus. [Internet]. [Cité le 9 avril 2018]. Disponible sur <https://www.creative-diagnostics.com/Dengue-Virus.htm>
7. Sim S, Hibberd ML. Genomic approaches for understanding dengue : insight from the virus, vector and host. *Genome Biology* 2016 ;17 :38.
8. Dussart P, Cesaire R, Sall A. Dengue, fièvre jaune et autres arboviroses. EMC- Maladies infectieuses. 2012 ;9 (2) : 1-24. [Article 8-062-A-10].
9. OMS. Le moustique. [Internet]. [cité le 10 avril 2018]. Disponible sur <http://www.who.int/denguecontrol/mosquito/fr/>
10. WHO. Comprehensive guidelines for prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever. Revised and expanded edition. 2011.
11. Institut Louis Malardé, Polynésie française. La dengue. [Internet]. [cité le 9 avril 2018]. Disponible sur <https://www.ilm.pf/infodengue>.
12. OMS. Guide pour la prise en charge clinique de la dengue. 2013.
13. HAS. Rapport d'évaluation technologique. Diagnostic biologique direct précoce de la dengue par détection génomique du virus avec RT-PCR. Janvier 2013.
14. WHO. Dengue : guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New Edition 2009.
15. Devignot S, Tolou H, Couissinier-Paris P. Le syndrome de choc de dengue : vers un décryptage de la physiopathologie. *Med Trop* 2010 ;70 :288-301.
16. Institut Pasteur. CNRS. INRIA. Dengue : comprendre les mécanismes permettant de ne pas développer les symptômes suite à une infection. Service de presse de l'Institut Pasteur. 25 Sept 2017.

17. Gathsaurie N M, Graham SO. T cells responses in dengue viral infections. *Journal of Clinical Virology* 58 (2013) : 605-611.
18. Whitehead SS, Blaney JE, Durbin AP, Murphy BR. Prospects for a dengue virus vaccine. *Nat Rev Microbiol.* 2007 Jul ;5 (7) :518-28.
19. Whitehead SS, Subbaro K. Which dengue vaccine is the most promising, and should we be concerned about enhanced disease after vaccination. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* Nov 13, 2017.
20. Jonas N, Conde, Silva EM, Angela S, Mohana-Boges B, Ronaldo Mohana-Borges. The complement system in flavivirus infection. *Front. Microbiol.* 2017 ; 8 :213. doi :10.3389/fmicb.2017.00213
21. INVS. Dengue\_ Points sur les connaissances. [Internet]. [cité le 3 mai 2018]. Disponible sur <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr./layout/set/print/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle/Dengue/Points-sur-les-connaissances>
22. INSERM. Dengue : Une maladie virale transmise par les moustiques en pleine expansion. [Internet] [cité le 10 avril 2018]. Disponible sur <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/dengue>
23. Moritz UG, Kraemer and al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. *Elife.* 2015 ; 4 : e08347.
24. Lim S-K, Lee YS, Namkung S, Lim JK, Yoon I-K. Prospects for dengue vaccines for travelers. *Clin Exp Vaccine Res* 2016 ; 5 :89-100.
25. INRS. La dengue : un problème de santé publique lié à des activités professionnelles. Documents pour le Médecin du Travail. N°94 2<sup>e</sup> semestre 2003.
26. Tatem AM, Hay SI, Rogers DJ. Global traffic and disease vector dispersal. *PNAS* April 2006, 103 (16) :6242-6247. doi.org/10.1073/pnas.0508391103
27. INVS. Dengue : les contextes épidémiologiques. [Internet]. [Cité le 3 mai 2018]. Disponible sur <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr./layout/set/print/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle/Dengue/Les-contextes-epidemiologiques>
28. INVS. Dengue : dispositifs de surveillance et partenaires. [Internet]. [Cité le 3 mai 2018]. Disponible sur <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr./layout/set/print/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle/Dengue/Dispositifs-de-surveillance-et-partenaires>
29. OMS. Dengue et dengue sévère. [Internet]. [Cité le 6 mai 2018]. Disponible sur <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
30. INVS. Recommandations sanitaires pour les voyageurs, 2017. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire.* 6 juin 2017.



31. ANSES. Avis de l'ANSES sur l'opportunité de permettre l'utilisation par dérogation de moustiquaires imprégnées à la deltaméthrine dans les départements français d'Amérique dans le contexte de l'épidémie de Zika. Anses – Saisine « n°2016-SA-0024 ». 12 février 2016.
32. Enayati A, Garner P, Hemingway J. Electronic mosquito repellents for preventing mosquito bites and malaria infection. Cochrane systemic Review-Intervention-Protocol. 20 July 2005. doi10.1002/14651858.CD0054343
33. CNEV. Guide à l'attention des collectivités souhaitant mettre en œuvre une lutte contre les moustiques urbains vecteurs de dengue, de chikungunya et de Zika. 2016.
34. ANSES. Insecticides utilisables pour la lutte anti-vectorielle. [Internet]. [Cité le 2 juin 2018]. Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/content/insecticides-utilisables-pour-la-lutte-anti-vectorielle>
35. WHO. Promising new tools to fight Aedes mosquitoes. Bulletin World Health Organisation 2016 ; 94 :562-563. doi: <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.16.020816>
36. Ministère des solidarités et de la santé. Lutte contre la dissémination du moustique "Aedes albopictus" en France métropolitaine. [Internet] [cité le 9 juin 2018] Disponible sur : [solidarites-sante.gouv.fr/archives/archives-presse/archives-communiqués-de-presse/article/lutte-contre-la-dissemination-du-moustique-aedes-albopictus-en-france-417337](http://solidarites-sante.gouv.fr/archives/archives-presse/archives-communiqués-de-presse/article/lutte-contre-la-dissemination-du-moustique-aedes-albopictus-en-france-417337)
37. OMS. Lutte contre la dengue\_ Surveillance de la dengue. [Internet]. [Cité le 5 juin 2018]. Disponible sur [www.who.int/denguecontrol/monitoring/disease\\_surveillance/fr/](http://www.who.int/denguecontrol/monitoring/disease_surveillance/fr/)
38. Ministère des affaires sociales, de la santé et des droits des femmes. Guide relatif aux modalités de mise en œuvre du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole. Mise à jour de 2015. [Internet]. [Cité le 4 juillet]. Disponible sur [solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/instruction\\_et\\_guide\\_chik\\_dengue\\_16\\_avril\\_2015.pdf](http://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/instruction_et_guide_chik_dengue_16_avril_2015.pdf)
39. Information du public sur l'élimination des gîtes larvaires. [Internet]. [Cité le 9 juillet 2018]. Disponible sur : [www.meylan.fr/uploads/Image/3b/WEB\\_CHEMIN\\_16896\\_1467287237.jpg](http://www.meylan.fr/uploads/Image/3b/WEB_CHEMIN_16896_1467287237.jpg)
40. Institut français de l'éducation. De la réponse immunitaire au principe de la vaccination. [Internet]. [Cité le 22 janvier 2019]. Disponible sur <http://acces.ens-lyon.fr/acces/logiciels-e-librairie/immunité-et-vaccination/immunité-et-vaccination>
41. Association des collègues des enseignants d'immunologie des universités de langue française. Mécanisme d'action des vaccins, rôle des adjuvants. [Internet]. [Cité le 22 janvier 2019]. Disponible sur : [www.afed.refer.org/colleges/colleges/styled/files/page80-13.10.vaccins.pdf](http://www.afed.refer.org/colleges/colleges/styled/files/page80-13.10.vaccins.pdf)
42. Guy B and al. Preclinical and clinical development of YFV 17D-based chimeric vaccines against dengue, West Nile and Japanese encephalitis viruses. Vaccine 2010 ; 28 :632-649. doi :10.1016/j.vaccine.2009.09.098.

43. Guy B, Saville M, Lang J. Développement d'un vaccin tétravalent contre la dengue. *Virologie* 2010 ; 14 (5) :311-321.
44. Stanley AP. Vaccines : the Fourth Century. *Clin Vaccine Immunol* 2009 ; 16 (12) :1709-1719.
45. Futura Santé. Le vaccin contre la dengue verra le jour en 2015. [Internet]. [Cité le 25 novembre 2018]. Disponible sur : <https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/medecine-vaccin-dengue-verra-jour-2015-25115/>
46. Wahala WMPB, De Silva AM. The Human Antibody Response to Dengue Virus Infection. *Viruses* 2011, 3(12), 2374-2395 ; doi:10.3390/v3122374.
47. Smith and al. Dengue virus prM-specific human monoclonal antibodies with virus replication-enhancing properties recognize a single immunodominant antigenic site. *Journal of Virology*. 90 : 780-789. doi :10.1128/JV.01805-15.
48. Khetarpal N, Khanna I. Dengue fever : Causes, complications and vaccine strategies. *Journal of Immunology Research*. Volume 2016, Article ID 6803098, 14 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6803098>.
49. Rouvinsky A and al. Covalently linked dengue virus envelope glycoprotein dimers reduce exposure of the immunodominant fusion loop epitope. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 15411.
50. Flipse J, Smit JM. The complexity of a dengue vaccine : A review of the human antibody response. *PLoS Negl Trop Dis* 2015, 9(6) : e0003749. doi : 10.1371/journal.pntd.0003749.
51. Simmons CP and al. Recent advances in dengue pathogenesis and clinical management. *Vaccine* 2015 ; 33 :7061-7068.
52. INSERM. Développement des vaccins tests précliniques et cliniques. [Internet]. [cité le 12 juin 2018]. Disponible sur : [www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/197/?sequence=30](http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/197/?sequence=30)
53. Endy TP. Human immune responses to dengue virus infection : lessons learned from prospective cohort studies. *Front Immunol* 2014 ; 5 (183) :1-6. doi : 10.3389/fimmu.2014.00183
54. Anderson KB and al. Interference and facilitation between dengue serotypes in a tetravalent live dengue virus vaccine candidate. *The journal of infectious diseases* 2011 ; 204 (3) :442-50. doi: 10.1093/infdis/jir279.
55. Flipse J, Smit JM. The complexity of a dengue vaccine : A review of the human antibody response. *PLoS Negl Trop Dis* 2015, 9 (6) : e0003749. doi : 10.1371/journal.pntd.0003749.

56. Kumar P. Methods for Rapid Virus Identification and Quantification. Internet [cité le 18 juin 2018]. Disponible sur <https://www.labome.com/method/Methods-for-Rapid-Virus-Identification-and-Quantification.html>
57. Mes vaccins.net. Les vaccins grippaux sont-ils efficaces et bien tolérés. [Internet] [Cité le 26 juin 2018]. Disponible sur <https://www.mesvaccins.net/web/news/3546-les-vaccins-grippaux-sont-ils-efficaces-et-bien-toleres>
58. WHO. Guidelines for plaque reduction neutralization testing of human antibodies to dengue viruses. 2007.
59. Gosh A, Dar L. Dengue vaccines : Challenges, development, current status and prospects. Indian J Med Microbiol 2015 ;33 :3-15.
60. Zompi S, Harris E. Animal Models of Dengue Virus Infection. Viruses 2012 ;4 (1) : 62-82.
61. Na W and al. Animal models for dengue vaccine development and testing. Clin Exp Vaccine Res 2017 ;6 (2) : 104-110.
62. Sanofi Pasteur. Dengue.info\_ Dengue Vaccine Registration. [Internet]. [Cité le 6 juillet 2018]. Disponible sur [dengue.info/dengue-vaccine-registered-in-20-countries/](http://dengue.info/dengue-vaccine-registered-in-20-countries/)
63. Vax Info. Voyages, migrants\_ Dengue : le développement des vaccins. [Internet]. [Cité le 15 juin 2018]. Disponible sur <http://www.vaxinfo.be/spip.php?article2382>
64. Sciences et Avenir. Santé\_ Vaccin contre la dengue de Sanofi : un scandale sanitaire se profile-t-il aux Philippines ? [Internet] [cité le 15 juin 2018]. Disponible sur [https://www.sciencesetavenir.fr/sante/le-vaccin-contre-la-dengue-de-sanofi-est-il-a-l-origine-de-trois-morts-aux-philippines\\_119897](https://www.sciencesetavenir.fr/sante/le-vaccin-contre-la-dengue-de-sanofi-est-il-a-l-origine-de-trois-morts-aux-philippines_119897)
65. WHO. Dengue vaccine : WHO position paper – July 2016. Weekly epidemiological record 2016 ; 91 (30) :349-364.
66. Guy B and al. Development of Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine. Human vaccines 2010 ; 6 (9) : 696-705.
67. Guirakoo F and al. Safety and efficacy of chimeric yellow fever-dengue virus tetravalent vaccine formulations in nonhuman primates. J Virol 2004 ; 4761-4775.
68. Fritzell B. Développement clinique des vaccins. [Internet]. [Cité le 22 décembre 2019]. Disponible sur : <https://slideplayer.fr/slide/3354107/>
69. WHO. Guidelines for the clinical evaluation of dengue vaccines in endemic areas. 2008.

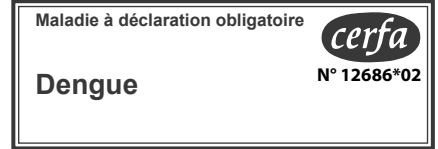
70. Guy B, Briand O, Lang J, Saville M, Jackson N. Development of the Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine : One more step forward. *Vaccine* 2015 ; 33 :7100-11. doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.09.108
71. Torresi J, Ebert G, Pellegrini M. Vaccines licensed and clinical trials for the prevention of dengue. *Hum Vaccine Immunother* 2017 ;13 (5) :1059-1072. doi :10.1080/21645515.2016.1261770
72. Haas H. Vaccination contre la dengue en 2015. *Mt pédiatrie* 2015 ;18 (3) :139-144 doi :10.1684/mtp.2015.0563
73. Hadenigoro SR and al. Efficacy and long-term safety of a dengue vaccine in regions of endemic disease. *N Engl J Med* 2015 ;373 :1195-1206. doi:10.1056/NEJMoa1506223
74. Flashe S, Jit M, Rogriguez-Barraquer I, Coudeville L, Recker M, Koelle K, and al. The long-term safety, public health impact, and cost-effectiveness of routine vaccination with a recombinant, live-attenuated dengue vaccine (Dengvaxia) : a model comparison study. *PLoS Med* 2016 ;13 (11) : e1002181. doi.org/10.1371/journal.pmed.1002181.
75. Ferguson NM. Benefits and risks of the Sanofi-Pasteur dengue vaccine : modeling optimal deployment. *Science* 2016 ;353 (6303) :1033-1036. doi :10.1126/science.aaf9590
76. Flasche S and al. Comparative modelling of dengue vaccine public health impact (CMDVI). [Internet]. [Cité le 10 octobre 2018]. Disponible sur [http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2016/april/2\\_CMDVI\\_Report\\_FINAL.pdf](http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2016/april/2_CMDVI_Report_FINAL.pdf)
77. Pang EL, Loh H-S. Towards development of a universal dengue vaccine – how close are we ? *Asian Pacific journal of tropical medicine* 2017 ;10 (3) :220-228. doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.03.003
78. Sridhar IS and al. Effect of dengue serostatus on dengue vaccine safety and efficacy. *N Engl J Med* 2018 ;379 :327-340. doi :10.1056/NEJMoa1800820.
79. OMS. Vaccination, vaccins et produits biologiques\_ Recommandations. [Internet]. [Cité le 1er octobre 2018]. Disponible sur <http://www.who.int/immunization/policy/fr/>
80. HCSP. Avis relatif à la vaccination contre la dengue dans les Territoires français d'Amérique et à la réunion. 22 juin 2016.
81. HCSP. Avis relatif à un accès précoce avant l'AMM du vaccin contre la dengue dans les Territoires français d'Amérique (TFA). 7 octobre 2016.
82. WHO. Dengue vaccine : WHO position paper – September 2018. *Weekly Epidemiological Record*. 7 sept 2018 ;93 (36) :457-476.

83. Mavin G. Classification of dengue virus vaccine candidates. [Internet]. [Cité le 11 octobre 2018]. Disponible sur <https://gurumavin.com/study-experimental-dengue-vaccine-protects-all-recipients-in-virus-challenge/>
84. Schwartz L.M. The dengue vaccine pipeline : Implications for the future of dengue control. *Vaccine* 2015 ; 33 (29) :3293-3298.
85. Lim CS, Poh CL. Development of dengue vaccines. *AMJ* 2018 ;11 (6) :370-380. doi.org/10.21767/AMJ.2018.3451.
86. Thomas SJ. Developing a dengue vaccin : progress and future challenges. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2014 ; 1323 :140-159. doi: 10.1111/nyas.12413.
87. ClinicalTrials.gov. Efficacy, Safety and Immunogenicity of Takeda's Tetravalent Dengue Vaccine (TDV) in Healthy Children (TIDES) [Internet]. [Cité le 15 octobre 2018]. Disponible sur <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02747927>
88. ClinicalTrials.gov. Phase III Trial to Evaluate Efficacy and Safety of a Tetravalent Dengue Vaccine. [Internet]. [Cité le 15 octobre 2018]. Disponible sur <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT0729>
89. Schmit AC and al. Phase 1 Randomized Study of a Tetravalent Dengue Purified Inactivated Vaccine in Healthy Adults in the United States. *Am J Trop Hyg* 2017 ; 96 (6) :1325-1337. doi : 10.4269/ajtmh.16-034.

## **ANNEXE**

# République française

<b>Médecin ou biologiste déclarant (tampon)</b> Nom : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____ Signature : _____	<b>Si notification par un biologiste</b> Nom du clinicien : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____
---	--



**Important** : tout cas de dengue doit être signalé immédiatement par tout moyen approprié (téléphone, télécopie...) au médecin de l'ARS.

Initiale du nom : [ ] Prénom : ..... Sexe :  M  F Date de naissance : [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]

Code d'anonymat : [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ] (A établir par l'ARS) **Date de la notification** : [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]

Code d'anonymat : [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ] (A établir par l'ARS) **Date de la notification** : [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]

Sexe :  M  F Date de naissance : [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ] Code postal du domicile du patient : [ ][ ][ ][ ][ ][ ]

**Résultats biologiques :**

Type d'examen	1 <sup>er</sup> prélèvement		2 <sup>e</sup> prélèvement	
	Date	Résultats	Date	Résultats
PCR	[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]	<input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> ne sait pas	[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]	<input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> ne sait pas
NS1	[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]	<input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> ne sait pas	[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]	<input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> ne sait pas
IgM	[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]	<input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> ne sait pas	[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]	<input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> ne sait pas
IgG	[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]	<input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> ne sait pas	[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]	<input type="checkbox"/> positif <input type="checkbox"/> négatif <input type="checkbox"/> ne sait pas

Dengue	
<b>SEROTYPE</b> DEN-1 <input type="checkbox"/> DEN-2 <input type="checkbox"/> DEN-3 <input type="checkbox"/> DEN-4 <input type="checkbox"/> Inconnu <input type="checkbox"/> ou non-fait <input type="checkbox"/>	<b>Critères de notification</b> Fièvre >38,5 °C de début brutal ET au moins un signe algique (myalgies ± arthralgies ± céphalées ± lombalgies ± douleur retro-orbitaire) ET au moins un des critères biologiques suivants : RT-PCR ou test NS 1 ou IgM positifs OU séroconversion OU augmentation x4 des IgG sur deux prélèvements distants.

**Clinique :**  
Date du début des signes : [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]

Fièvre :  oui  non  ne sait pas  
Signes algiques :  oui  non  ne sait pas

- myalgies :  oui  non  ne sait pas  
- arthralgies :  oui  non  ne sait pas  
- lombalgies :  oui  non  ne sait pas

- céphalées :  oui  non  ne sait pas  
- douleurs rétro-orbitaires :  oui  non  ne sait pas  
- autres signes, préciser : .....

**Signes de gravité :**  
- saignement sévère :  oui  non  ne sait pas  
- choc :  oui  non  ne sait pas

- altérations de la conscience :  oui  non  ne sait pas  
- atteinte cardiaque ou autre organe :  oui  non  ne sait pas

**Biologie**  
Plaquettes :  ≤ 50 000/mm<sup>3</sup>  50 000 < plaq. ≤ 100 000/mm<sup>3</sup>  > 100 000/mm<sup>3</sup>  
Augmentation de l'hématocrite ≥ 20 % (par rapport normale labo) :  oui  non  ne sait pas

**Evolution :**  
Hospitalisation :  oui  non  ne sait pas Si oui, durée de l'hospitalisation en jours : [ ][ ][ ]  
Guérison :  oui  non  ne sait pas Décès :  oui  non  ne sait pas

**Exposition dans les 15 jours avant la date de début des signes (plusieurs réponses possibles) :**  
Séjour à l'étranger :  oui  non  ne sait pas  
Si oui, préciser le(les) pays : ..... Date de retour : [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]  
Séjour dans un département en dehors du département de résidence principale :  oui  non  ne sait pas  
Si oui, préciser le(s) départements : ..... Date de retour au domicile : [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]

**Déplacement dans les 7 jours après la date de début des signes (période virémique) :**  
Séjour dans un département en dehors du département de résidence principale :  oui  non  ne sait pas  
Si oui, préciser le(s) départements : .....

**Autre(s) cas dans l'entourage :**  
 oui  non  ne sait pas Si oui, combien de cas : [ ][ ][ ]

<b>Médecin ou biologiste déclarant (tampon)</b> Nom : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____ Signature : _____	<b>Si notification par un biologiste</b> Nom du clinicien : _____ Hôpital/service : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Télécopie : _____	<b>ARS (signature et tampon)</b>      
---	--	--

Maladie à déclaration obligatoire (Art L 3113-1, R 3113-1, R 3113-2, R 3113-5, D 3113-7 du Code de la santé publique)  
Information individuelle des personnes - Droit d'accès et de rectification pendant 6 mois par le médecin déclarant (loi du 6 janvier 1978) - Centralisation des informations à l'Institut de veille sanitaire

## SERMENT DE GALIEN

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.*





## **Résumé de la thèse :**

La dengue est une maladie vectorielle en pleine expansion géographique et dont l'incidence ne cesse d'augmenter. Infection généralement bénigne, elle se présente parfois sous des formes sévères entraînant de graves troubles et une mise en jeu du pronostic vital.

Actuellement aucun traitement antiviral n'est disponible. La prévention contre la maladie reposait essentiellement sur des mesures antivectorielles, jusqu'à la commercialisation en fin 2015, d'un premier vaccin le Dengvaxia®.

Cependant trois ans après son homologation, les autorités philippines ont décidé de suspendre l'utilisation du vaccin dans leur territoire pour des raisons de sécurité.

Cette thèse a pour but de faire le point sur l'efficacité et la sécurité du vaccin durant les trois années qui ont suivi sa commercialisation, afin d'évaluer l'intérêt et la place du Dengvaxia® dans la stratégie de lutte contre la dengue.