



Université PARIS 12
61 av. du Général de Gaulle
94000 Créteil



UNIVERSITÉ
PARIS-SUD 11

Université PARIS 11
15 r Georges Clémenceau
91405 Orsay Cedex



Ecole nationale
Vétérinaire d'Alfort
7 avenue du Général de Gaulle
94704 Maisons-Alfort cedex



Cirad-emvt

CIRAD-EMVT
Campus international de Baillarguet
34398 Montpellier cedex 5

MASTER 2EME ANNEE

Santé publique Paris XI et Sciences et santé Paris XII

SPECIALITE

**SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE DES MALADIES
HUMAINES ET ANIMALES**

RAPPORT DE STAGE

SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE ACTIVE DE LA DENGUE DANS 41 VILLAGES DE LA
PROVINCE DE KAMPONG CHAM AU CAMBODGE DE 2006 A 2008

PRÉSENTÉ PAR

Dr Olivier GLASS

Réalisé sous la direction de : Dr Sirenda VONG

Tuteur de stage : Pr Gilles BRÜCKER

Organisme et pays : Institut Pasteur du Cambodge, Phnom Penh, Cambodge

Période de stage : janvier à juin 2009

Date de soutenance : le 30 juin 2009

Année universitaire 2008-2009

SOMMAIRE

SOMMAIRE	2
TABLE DES TABLEAUX	4
TABLE DES FIGURES	5
LISTE DES ABRÉVIATIONS	6
INTRODUCTION	7
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	9
1. LA DENGUE, UNE MALADIE VIRALE RÉÉMERGENTE	9
2. LE VIRUS DE LA DENGUE.....	9
3. LES CARACTÈRES CLINIQUES DE LA DENGUE.....	9
a. Les signes biologiques associés:.....	10
b. L'évolution clinique :	10
c. Les critères diagnostics de l'OMS	10
d. Les stades I à IV de la Dengue hémorragique	10
e. Le diagnostic différentiel.....	11
f. Le diagnostic.....	11
4. HISTORIQUE DE LA PANDÉMIE.....	12
5. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE	13
6. EPIDÉMIOLOGIE DE LA DENGUE.....	13
a. La théorie des « anticorps facilitateurs ».....	14
b. Les vecteurs de la dengue.....	14
c. La « charge » que représente la dengue sur le plan épidémiologique.....	15
d. La lutte contre la dengue.....	15
7. EPIDÉMIOLOGIE DE LA DENGUE EN ASIE DU SUD-EST.....	16
8. SURVEILLANCE DE LA DENGUE EN ASIE DU SUD-EST (ASE).....	17
9. PRÉSENTATION DU CONTEXTE CAMBODGIEN ET DU PROGRAMME NATIONAL DE SURVEILLANCE DE LA DENGUE.....	18
MATÉRIEL ET MÉTHODES	19
1. SITE ET POPULATION DE L'ÉTUDE	19
2. ORGANISATION DE L'ÉTUDE.....	22
<i>La surveillance active de la fièvre.....</i>	<i>22</i>
<i>Définition des cas de fièvre, critères d'inclusion:</i>	<i>22</i>
<i>Le réseau de surveillance active de la dengue dans les villages de la province de Kampong Cham.....</i>	<i>22</i>
<i>Les ménages des villages.....</i>	<i>22</i>
<i>Les équipes des villages.....</i>	<i>22</i>
<i>Les équipes d'investigation.....</i>	<i>23</i>
<i>Le laboratoire de l'hôpital provincial de Kampong Cham.....</i>	<i>23</i>
<i>L'équipe de coordination.....</i>	<i>23</i>
<i>L'unité d'épidémiologie de l'institut Pasteur du Cambodge</i>	<i>23</i>
<i>L'unité de virologie de l'IPC.....</i>	<i>23</i>
<i>Organigramme du réseau de surveillance active de la dengue</i>	<i>24</i>
<i>Figure 7 -Organigramme du réseau de surveillance active de la dengue (1)</i>	<i>24</i>
3. LES ANALYSES DE LABORATOIRE.....	24
<i>Figure 8 -Algorithme des différents tests de laboratoire pour les cas de fièvre</i>	<i>25</i>
4. LE RECUEIL DES DONNÉES.....	26
<i>Le registre des familles (logbook).....</i>	<i>26</i>
<i>La Fiche de Déclaration nominative (FDN).....</i>	<i>26</i>
<i>Organigramme du réseau IPC pour la surveillance active de la dengue au Cambodge</i>	<i>27</i>
5. LES ANALYSES STATISTIQUES.....	28
RESULTATS	29
1. LES CARACTÉRISTIQUES DE LA POPULATION ÉTUDIÉE.....	29
2. CARACTÉRISTIQUES DES PATIENTS INFECTÉS PAR LE VIRUS DE LA DENGUE.....	31
<i>a. Caractéristiques démographiques.....</i>	<i>31</i>

<i>b. Caractéristiques cliniques</i>	32
3. INCIDENCE DE LA DENGUE	32
4. INCIDENCE DE LA FIÈVRE	34
5. COMPARAISON DES FIÈVRES DUES A LA DENGUE AVEC LES FIÈVRES D'AUTRE ÉTIOLOGIE	36
6. CARACTÉRISTIQUES PAR SÉROTYPE VIRAL	38
7. COMPARAISON DES SÉROTYPES ENTRE EUX	40
DISCUSSION	41
CONCLUSION	44
BIBLIOGRAPHIE	45
REMERCIEMENTS	49
<i>Annexe 1 : Circulation des différents sérotypes viraux dans les 41 villages des cohortes de 2006, 2007 et 2008</i>	50
<i>Annexe 2 : Durée des épidémies par village et par sérotype viral</i>	52
<i>Annexe 3 : Comparaison des cas de dengue sérotype par sérotype pour les manifestations cliniques</i>	53
<i>Annexe 4: Incidence de la dengue par village</i>	55
<i>Annexe 5 : incidence de la fièvre par village</i>	56
<i>Annexe 6 : Comparaison des fièvres dues a la dengue avec les autres fièvres en 2006</i>	57
<i>Annexe 7 : Comparaison des fièvres dues a la dengue avec les fièvres d'autre étiologie en 2007</i>	58
<i>Annexe 8 : Comparaison des fièvres dues a la dengue avec les fièvres d'autre étiologie en 2008</i>	60
<i>Annexe 9 : Taux d'incidence spécifique pour l'âge de 2006 à 2008</i>	62
ANNEXE 10 : CARACTÉRISTIQUES DÉMOGRAPHIQUES DES TROIS COHORTES	63

Table des tableaux

Tableau 1 - Caractéristiques des cohortes dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 à 2008

Tableau 2 - Fréquence des facteurs de sévérité de la dengue dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 à 2008

Tableau 3 - Les incidences de la fièvre et de la dengue sur les trois années dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 à 2008

Tableau 4 - Comparaison des caractéristiques démographiques des patients présentant la dengue et des patients avec une fièvre non due a la dengue dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 à 2008

Tableau 5 - Comparaison des signes cliniques et des parcours de soin des fièvres dues a la dengue et des fièvres non dues a la dengue dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 a 2008

Tableau 6 -Fréquence des facteurs de sévérité des différents sérotypes de la dengue sur les trois saisons

Table des figures

Figure 1 - Succession de l'apparition des marqueurs biologiques d'infection par le virus de la dengue en cas de primo infection (INVS, 2008)

Figure 2 - Distribution mondiale de la dengue et de son principal vecteur, *Aedes aegypti*

Figure 3 - Carte du Cambodge

Figure 4 - Villages de la cohorte en 2006

Figure 5 - Villages de la cohorte en 2007

Figure 6 - Villages de la cohorte en 2008

Figure 7 - Organigramme du réseau de surveillance active de la dengue (1)

Figure 8 - Algorithme des différents tests de laboratoire pour les cas de fièvre

Figure 9 - Organigramme du réseau de surveillance active de la dengue (2)

Figure 10- Taux d'incidence de la dengue par âge

Figure 11 – Incidences de la fièvre et de la dengue par semaine de 2006 à 2008

Figure 12 – Incidences par semaine pour les 4 sérotypes de la dengue de 2006 à 2008

Liste des abréviations

ARN: Acide Ribo Nucleique
ASE: Asie du Sud Est
CIVD : Coagulation Intra vasculaire Disséminée
DALY : Disability Adjusted Life Year
DHF : Dengue Hemorrhagic Fever
DSC : Dengue Syndrome de Choc
DSS : Dengue Shock Syndrom
EJ : Encéphalite Japonaise
ELISA: Essay Link
FDN : Fiche de Déclaration Nominative
GSK : Glasgow Smith& Kline
IC : Intervalle de Confiance
IgG: Immunoglobuline G
IgM: Immuno globuline M
IPC : Institut Pasteur du Cambodge
IVI : International Vaccine Institute
NDPC : National Dengue Program Control
OMS : Organisation Mondiale de la santé
PDVI :Paediatric Dengue Vaccine Institute
RR : Risque Relatif
RT-PCR: Retro Transcriptase Poly Chain Reverse
USA : United State of America
USD : United States Dollar
VPP : Valeur Prédictive Positive
DENV-# : dengue

Introduction

La dengue est une arbovirose réémergente dans le monde. Son extension est rapide et relativement récente sur l'ensemble des zones tropicales de la planète avec des épidémies cycliques de plus en plus fréquentes. L'augmentation considérable du nombre des formes sévères et létales de la maladie, justifie que des efforts soient déployés pour mieux connaître l'épidémiologie et la physiopathologie de la dengue afin de développer des moyens de lutte efficaces.

Cette affection virale transmise à l'homme par les moustiques du genre *Aedes*, se traduit cliniquement par une forte fièvre accompagnée de maux de tête, de courbatures et d'une sensation de grande fatigue. Si dans la majorité des cas l'infection est asymptomatique ou donne lieu à un syndrome fébrile indifférencié sans complication (dengue fever DF), la maladie peut cependant évoluer vers une des formes sévères de la dengue (dengue hémorragique DHF, ou dengue avec syndrome de choc DSS).

Le virus de la dengue se présente sous quatre formes sérotypiques : DENV-1, DENV-2, DENV-3 et DENV-4, qui constituent potentiellement quatre infections distinctes pour un individu donné.

Avec la moitié de la population mondiale exposée, la dengue représente un problème majeur de santé publique. Particulièrement en Asie du sud-est où elle constitue une des premières causes d'hospitalisation en pédiatrie. La surveillance épidémiologique y est essentiellement passive du fait de conditions socio-économiques souvent défavorables, comme au Cambodge où peu de données sont disponibles sur l'incidence de la dengue.

En l'absence de traitement spécifique, la lutte contre la maladie se limite aujourd'hui à la lutte anti-vectorielle. Le développement d'un vaccin vivant atténué tétravalent constituerait cependant le meilleur moyen de contrôler l'expansion de l'arbovirose avec le meilleur rapport coût-bénéfice.

C'est dans l'optique de participer au développement d'un vaccin, que l'unité d'épidémiologie de l'Institut Pasteur du Cambodge (IPC) a initié une étude prospective de la dengue en partenariat avec le PDVI. (Paediatric Dengue Vaccine Initiative). Cette structure associe le programme national Cambodgien de lutte contre la dengue avec l'International Vaccine Institute (IVI, basé à Séoul en Corée du Sud).

Plusieurs vaccins candidats contenant les 4 sérotypes et utilisant différentes approches sont actuellement à l'étude (phase 2, 2b par Sanofi Pasteur et GSK), et un essai vaccinal en phase 3 ou 4 pourra certainement être envisagé dans les 5 prochaines années.

De l'expérience de l'introduction du vaccin contre l'hépatite B, une stratégie en quatre phases a été adoptée par l'International Vaccine Institute (IVI) afin de promouvoir et de faciliter l'introduction des vaccins candidats contre la dengue :

1. Mesure précise de l'incidence de la dengue et de son évolution dans le temps au niveau de quelques pays endémiques et études de coût-efficacité de la vaccination,
2. Mise en place d'un essai vaccinal multi-pays en phase 4,
3. Etablir un consensus national et international concernant la nécessité et les spécificités du vaccin contre la dengue,
4. Assurer des mécanismes permettant un approvisionnement et un financement

durables des vaccins.

Dans le cadre des 2 premiers objectifs de la stratégie IVI, l'Institut Pasteur du Cambodge (IPC) suit, et ceci depuis juin 2006, une cohorte de 10,000 enfants de moins de 20 ans résidant dans la province de Kampong Cham.

Il s'agit d'une surveillance épidémiologique active des fièvres survenant dans une cohorte située dans une région rurale du Cambodge durant la saison épidémique de la dengue.

La finalité de cette étude est

- de déterminer aussi précisément que possible l'incidence réelle de la dengue, avec ses variations temporelles,
- d'estimer l'efficacité du système de surveillance national pour détecter les enfants présentant une infection symptomatique de la dengue,
- d'identifier les caractéristiques cliniques de l'infection par le virus de la dengue et les comportements associés en termes de parcours de soins.

La synthèse bibliographique ci-dessous passe en revue les acquisitions les plus récentes concernant le virus de la dengue et son épidémiologie. Les systèmes de surveillance de la dengue sont détaillés en insistant sur leurs faiblesses particulièrement en Asie du Sud-Est.

L'exposé du matériel et de la méthode de l'étude est suivi par une présentation des résultats, d'une discussion et d'une conclusion qui soulignent la complexité de cette arbovirose dépendante de nombreux facteurs et les difficultés rencontrées pour l'interprétation des résultats et pour leur validation externe .

Synthèse bibliographique

1. La dengue, une maladie virale réémergente

Durant les 50 dernières années l'incidence de la dengue a été multipliée par 30, ce qui en fait la plus importante arbovirose et la première cause de fièvre hémorragique virale dans le monde (Pinheiro FP , Corber SJ 1997). Devant une pathologie dont la symptomatologie n'a rien de spécifique, le diagnostic sérologique de la dengue est le meilleur outil pour la détection des cas. Dans les pays tropicaux qui sont pour l'instant les plus concernés par la maladie, le contexte économique est souvent défavorable à une surveillance épidémiologique de qualité. A l'heure actuelle il n'existe ni traitement préventif, ni traitement antiviral spécifique, ni aucun vaccin. Le seul moyen efficace de prévenir les épidémies de dengue reste la lutte anti-vectorielle (Gubler DJ.2006).

2. Le virus de la dengue

Le virus de la dengue est un arbovirus (Arthropod Born Virus) de l'espèce des *Flavivirus* , de la famille des *Flaviviridae* à laquelle appartiennent également les virus West Nile, celui de l'encéphalite japonaise, de l'encéphalite de Saint Louis et de la fièvre jaune. C'est un virus à ARN simple brin apparaissant comme une particule sphérique de 40 à 50 nanomètres de diamètre avec une enveloppe lipidique renfermant une nucléocapside de 30 nm de diamètre. Constituée de protéines (protéines C de 9 à 12 KD qui n'induisent pas la production d'Ig antiviral neutralisant) et de l'ARN génomique (11kb de long), la nucléocapside est entourée d'une membrane protéique (protéine M) puis d'une enveloppe (protéine E souvent glycosylée).

Les principales protéines virales non structurales sont : NS1 (exprimée sur la surface des cellules infectées ou dans les espaces extracellulaires qui pourrait être une cible pour la réponse immunitaire) NS3 et NS5 (Chang,GJ 1997).

S'il existe des similitudes antigéniques entre les 4 différents sérotypes, la réaction immunologique est distincte pour chacun. L'infection par un sérotype donné confère une immunité prolongée mais n'offre pas d'immunité croisée contre les autres sérotypes. Les infections séquentielles avec des sérotypes différents exposent le malade à un risque accru de développer une forme sévère notamment une dengue hémorragique (DHF) ou une dengue avec syndrome de choc (DSS).

3. Les caractères cliniques de la dengue

La période d'incubation est habituellement de 4 à 7 jours (extrêmes 2-15 jours). La dengue ne provoque généralement que peu ou pas de symptômes. Cependant, lorsqu'ils apparaissent, ils associent pendant 2 à 7 jours (Suchitra Nimannitya ,1997 ; Farrar J, 2008):

- une fièvre élevée (le plus souvent supérieure à 39°C, pouvant atteindre 40°C-41°C) de début brutal (convulsions fébriles possibles chez l'enfant de moins de 5 ans) ;
- des symptômes non-spécifiques tels que : des maux de têtes frontaux, des douleurs rétro-orbitaires, des douleurs musculo-articulaires;
- une sensation de fatigue (asthénie) ;

- une éruption maculo-papulaire (rash cutané) survenant de façon inconstante, affectant le tronc et s'étendant vers le visage et les extrémités ;
- des signes digestifs (douleurs abdominales, anorexie, vomissements) ;
- une hépatomégalie;
- des manifestations hémorragiques limitées (pétéchies, purpura, saignements des gencives, du nez ou digestifs).

a. Les signes biologiques associés:

- une chute des plaquettes (thrombocytopénie < 100 000), à l'origine des manifestations hémorragiques ;
- des signes d'hémoconcentration (augmentation de l'hématocrite +20% traduisant la fuite de plasma dans les séreuses).

b. L'évolution clinique :

La dengue évolue spontanément vers la guérison sans séquelle dans la majorité des cas, même si dans de rares cas la convalescence est longue, notamment chez l'adulte, avec une phase prolongée d'asthénie. Cependant, dans certains cas (le plus souvent chez des enfants de moins de 15 ans), après 2-7 jours et le retour à la normale de la température (défervescence thermique), l'infection peut évoluer vers une dengue hémorragique DHF ou une dengue avec syndrome de choc DSC.

c. Les critères diagnostics de l'OMS

Pour définir un cas de dengue hémorragique les critères diagnostics de l'OMS sont:

- une fièvre élevée et continue pendant 2 à 7 jours,
- des manifestations hémorragiques,
- une hépatomégalie,
- une thrombopénie (<100 000 plaquettes par mm³),
- une hémoconcentration (élévation de l'hématocrite de plus de 20%).

Une fuite du sang hors des vaisseaux capillaires et des troubles diffus de la coagulation provoquent un tableau grave avec ecchymoses en nappe et saignements digestifs abondants (hématémèse franche). Il peut y avoir un syndrome de choc (agitation, pouls accéléré et pression artérielle pincée, froideur des extrémités). On observe alors une fuite de plasma dans les espaces séreux (cavité péritonéale et pleurale), une fragilité capillaire accrue et un rash cutané, des troubles de l'hémostase pouvant aller jusqu'à une CIVD.

d. Les stades I à IV de la Dengue hémorragique

- **Stade I** : test du tourniquet positif et tendance à faire des hématomes pour des traumatismes minimes,

- **Stade II** : saignement spontané sous forme de pétéchies, d'écchymoses, de purpura, saignement gingival ou épistaxis, hématomèse ou mélaena,
- **Stade III** : les premiers signes de choc sont la pâleur cutanéomuqueuse, une agitation, une tachycardie, un pincement tensionnel (<20 mm Hg) ou une hypotension (< 90 mm Hg),
- **Stade IV** : troubles de conscience avec absence de pouls et/ou tension artérielle imprenable.

La létalité pour les cas de dengue hémorragique est de l'ordre de 1 à 5% et peut atteindre 20% en l'absence de prise en charge thérapeutique adéquate. Plus rarement, les patients atteints de dengue peuvent développer, dès la phase aiguë, des complications neurologiques (convulsions, paralysies partielles, altération de l'état de conscience, encéphalite aiguë) avec ou sans manifestations hémorragiques ou cardiaques (myocardites) ou musculaires (rhabdomyolyse) ou hépatiques.

e. Le diagnostic différentiel

La dengue peut facilement être confondue avec les autres affections virales exanthémiques ou non exanthémiques comme la rougeole, la rubéole, les entérovirus et la grippe (George R, 1997)

Fièvre, rash cutané et adénopathies cervicales postérieures ne sont pas des signes spécifiques bien que souvent observés, en revanche la toux, la pharyngite et la rhinite sont rarement signalées en cas de dengue (Dietz *et al.*, 1992) (Lopez Correa *et al.*, 1979). De nombreux arbovirus dans le monde peuvent être à l'origine d'un syndrome ressemblant à une infection par la dengue et devront être discutés en fonction de la région concernée (fièvres virales hémorragiques, chikungunya...). Les phases initiales de la scarlatine, de la thyphoïde, du paludisme, de la léptospirose, de l'hépatite A, d'un sepsis bactérien (entérocoque) ou des rickettsioses peuvent présenter des similitudes avec une infection par un virus de la dengue, particulièrement chez l'enfant fébrile, avec manifestation cutanée, thrombopénie et avec ou sans signe méningé. (Halstead SB 1997)

Le diagnostic uniquement clinique de la dengue reste donc difficile et imprécis, ce qui souligne l'importance du diagnostic biologique dans les programmes de surveillance de la dengue. (Gubler & Casta Velez, 1991).

f. Le diagnostic

Un diagnostic biologique est indispensable si l'on doit confirmer une suspicion de dengue (figure 1). Ce diagnostic peut être fait par sérodiagnostic, amplification génique (RT-PCR) ou plus rarement par isolement viral. Les IgM sont identifiées en moyenne à partir du cinquième jour après l'apparition des signes cliniques et persistent 2 à 3 mois. Les IgG apparaissent en même temps ou peu après les IgM mais persistent toute la vie. C'est pourquoi le diagnostic de dengue ne peut être établi à partir des IgG qu'en cas d'augmentation du titre d'anticorps sur des prélèvements successifs. Un diagnostic plus précoce (dans les 5 premiers jours de la maladie) peut aussi être obtenu par RT-PCR (InVS 2009).

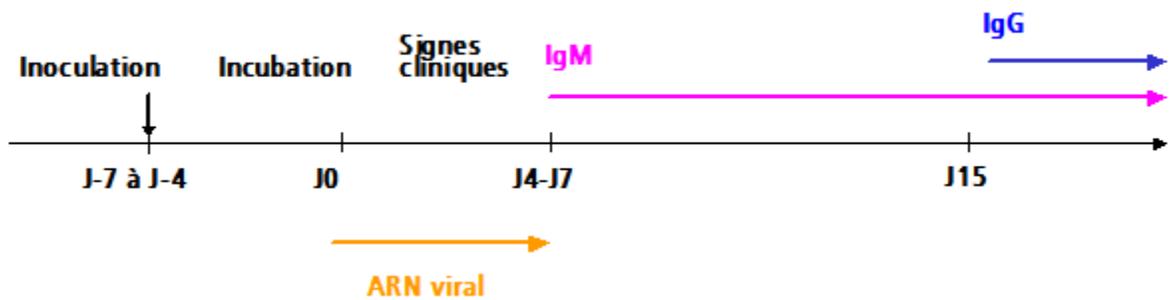


Figure 1 - Succession de l'apparition des marqueurs biologiques d'infection par le virus de la dengue en cas de primo infection

4. Historique de la pandémie

Des épidémies dues vraisemblablement à la dengue, sont décrites depuis le XVII^e siècle, notamment aux Antilles (1635), aux USA (Philadelphia en 1780), en Espagne (Cadix Séville en 1784-1786), à Zanzibar (en 1823), à Calcutta en 1824... Le virus a été isolé en 1946 en Guyane, et en 1954, les premiers cas cliniques de dengue hémorragique sont signalés aux Philippines. En 1981, se déclare la première épidémie de dengue hémorragique à Cuba. Dans les deux cas, la maladie a été par la suite rapidement décrite dans les pays voisins. A l'heure actuelle tous les pays d'Asie du Sud sont touchés.

Après le premier foyer cubain, la dengue hémorragique a d'abord progressé dans les caraïbes avant d'atteindre le continent sud-américain par le Vénézuéla (1989-1990). Entre 1988 et 1992, l'OMS rapportait une moyenne de plus de 2000 cas de dengue hémorragique dans dix pays d'Amérique du Sud. L'analyse génétique des souches de dengue qui circulent actuellement sur le continent montre que celles-ci sont proches des souches asiatiques (Rico-Hesse *et al*, 1997). Si l'apparition de la dengue hémorragique en Amérique du Sud est vraisemblablement liée à l'importation de souches asiatiques, son expansion est étroitement corrélée à la réinfestation du continent par *Aedes aegypti* (figure 2). D'une situation épidémique engendrée par un seul sérotype, le continent sud-américain évolue progressivement vers une situation hyper-endémique dans laquelle les différents sérotypes vont circuler en permanence. Dans les années à venir on peut prédire une situation similaire à celle de l'Asie du Sud Est : la dengue hémorragique pourrait devenir l'une des principales causes d'hospitalisation des enfants en Amérique du Sud.

Le seul continent épargné par la dengue hémorragique est le continent africain. Si des cas de dengue classique ont été rapportés en Afrique de l'ouest et de l'Est ces dernières années, il ne semble pas que la dengue hémorragique s'y soit manifestée. Toutefois il est à remarquer que la circulation du virus de la dengue en Afrique est sans doute très sous estimée à l'heure actuelle (Saluzzo JF, 2001).

5. Répartition géographique

Aujourd'hui la maladie est endémique dans 112 pays et les 2/5ème de la population mondiale (2,5 milliards de personnes) sont exposées (Figure 2). Lors des phases épidémiques, le taux d'attaque (cas cliniquement suspects) est fréquemment de l'ordre de 40 à 50 %, mais il peut atteindre 90 %. Plusieurs centaines de milliers de cas sont hospitalisés par an, parmi lesquels une grande proportion d'enfants en bas âge non immunisés. Depuis une trentaine d'années on observe une extension importante de la répartition géographique et du nombre de cas annuels de dengue. L'accroissement du nombre de voyageurs internationaux, par les airs ou par les mers, explique pour beaucoup la diffusion rapide de la maladie et de ses vecteurs. La dengue est une des maladies à transmission vectorielle qui progresse le plus rapidement dans le monde (Monath TP, 1994; Gubler DJ, 2002).

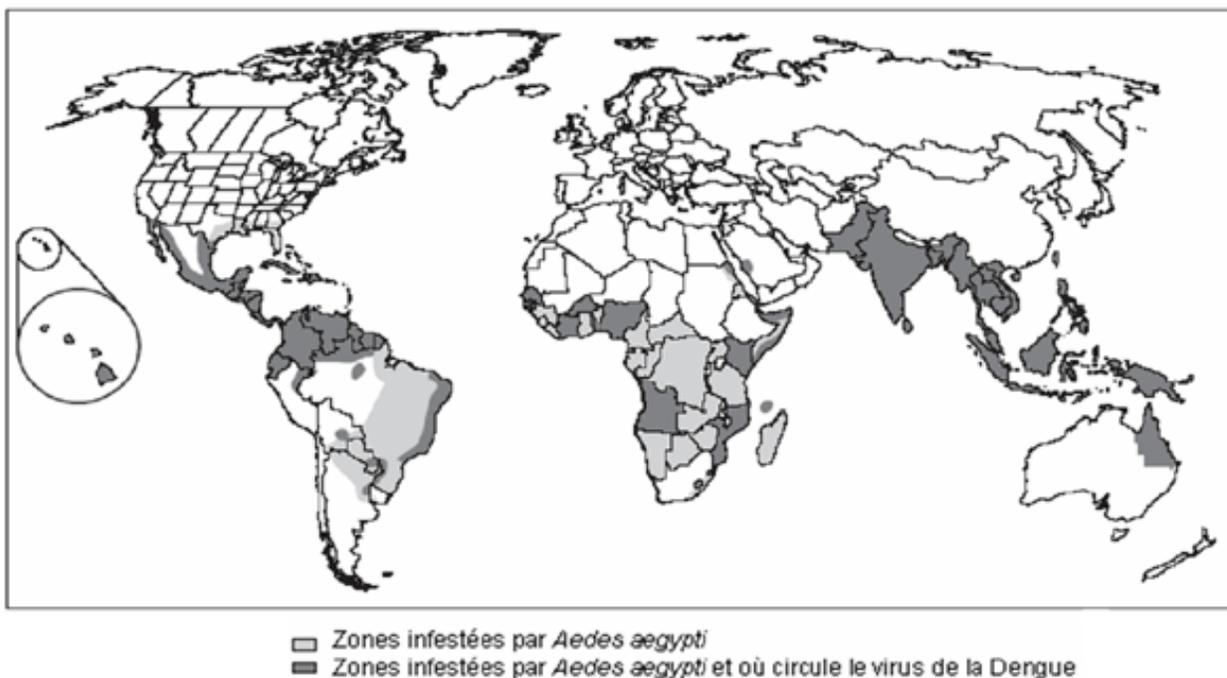


Figure 2 - Distribution mondiale de la dengue et de son principal vecteur, *Aedes aegypti* (Source : Tropical Infectious Diseases - Second Edition, Elsevier, 2006)

6. Epidémiologie de la dengue

La dengue et tout particulièrement la dengue hémorragique (DHF) constitue l'un des exemples les plus représentatif des maladies virales émergentes dans le monde. Au niveau mondial, 2,5 milliards de personnes vivent dans des zones considérées à risque de transmission des virus de la dengue. On continue d'observer une croissance exponentielle de cas de dengue dans le monde, en passant de 500 000 cas notifiées durant 1990 – 1999 à presque un million entre 2000 et 2005 (WHO, 2006). Plus de 50 millions d'infections surviennent chaque année, dont 500 000 cas de dengue hémorragique et au moins 22 000 décès, principalement parmi les enfants (Gubler DJ, 1999). Plus de 90% des cas de DHF sont des enfants de moins de 15 ans (WHO, 1999) Les épidémies de dengue et de DHF sont apparues comme un problème de santé

publique ces dernières décennies, avec l'apparition d'une hyper-endémicité dans les zones urbaines et péri-urbaines de nombreux pays tropicaux et subtropicaux (Mackenzie JS, 2004).

Bien que plus de 90% des patients qui développent une dengue sévère présentent des stigmates sérologique d'une infection antérieure par un virus de la dengue, il n'est pas possible à l'heure actuelle de prédire quels patients vont évoluer vers des formes graves.

a. La théorie des « anticorps facilitants »

Plusieurs études de cohorte hospitalière semblent démontrer qu'il existe une association entre la survenue des formes hémorragiques et le caractère secondaire de l'infection (Alvarez 2006 Guzman 1991, Halstead 2002). Par conséquent, quand deux ou plusieurs sérotypes sont endémiques, la force et l'ampleur de la transmission détermine l'âge auquel les formes les plus sévères se révèlent (Fisher 1970). Ce risque plus élevé de dengue hémorragique chez les infections secondaires est expliqué par la théorie des « anticorps facilitants ». Dans les années 1960, Scott Halstead avait proposé cette théorie que l'on peut résumer de la façon suivante : lorsqu'une personne présente une première infection par le virus d'un sérotype donné, elle développe des anticorps neutralisants qui protègent contre une surinfection par le même sérotype, mais elle présente également des anticorps hétérologues, c'est à dire dirigés contre les autres sérotypes. Par exemple un sujet infecté par le virus DENV-1 présentera des anticorps neutralisants, protecteurs contre ce sérotype, mais il répondra également avec apparition d'anticorps à titre faible contre les autres sérotypes. Selon l'hypothèse d'Halstead, ces anticorps hétérologues peuvent avoir un effet inverse de celui attendu : au lieu de protéger le sujet lorsqu'il rencontrera un nouveau sérotype de la dengue, ils faciliteront l'infection. Ces anticorps qui participent donc à la pathogénie, ont été appelés anticorps facilitants. Le mécanisme de facilitation est complexe, il peut être résumé ainsi : lorsque le sujet est en contact avec un nouveau sérotype, en l'absence de neutralisation du virus, un complexe virus-anticorps facilitants se forme et favorise l'infection des cellules mononucléaires (monocyte, macrophages) qui permettent la dissémination de l'infection et la libération des cytokines jouant un rôle dans la perméabilité vasculaire. Cette hypothèse repose principalement sur les données épidémiologiques qui évoquent le déroulement d'une séquence d'infections par des sérotypes viraux différents, préalable nécessaire à la survenue de la dengue hémorragique (Saluzzo JF, 2001).

Ce risque de passage à la forme hémorragique de la dengue est cependant modulé par l'âge, l'origine ethnique ou la pathogénicité du virus. Il a été observé à Cuba pendant les années 90 que les cubains d'origine africaine avaient moins de risque de développer des formes hémorragiques alors que ces épidémies étaient causées par le sérotype 2 d'origine asiatique (Guzman 2002 ; Guzman 1991). Les enfants asiatiques seraient plus sujets aux formes sévères que ceux du continent sud américains (Balmaseda A, 2006).

La compréhension des mécanismes d'induction de la dengue hémorragique constitue un défi majeur pour les scientifiques, dont les conséquences sont essentielles pour l'évaluation des candidats vaccins.

b. Les vecteurs de la dengue

La transmission de la dengue comporte un cycle sylvatique enzootique faisant intervenir des primates non humains et des moustiques du genre *Aedes* de la canopée, et un cycle urbain du fait

que le développement larvaire se fait le plus souvent dans les réservoirs d'eau péri-domestique (Vasilakis N, 2008). En zone urbaine, où sont décrites la majorité des épidémies, la transmission se fait d'homme à homme par l'intermédiaire de moustiques du genre *Aedes*, et du sous genre *Stegomyia*, notamment *Aedes aegypti*, plus rarement *Aedes albopictus* ou *Aedes polynesiensis* qui sont des vecteur réputés moins compétents.

Aedes aegypti avec ses œufs qui résistent à la dessiccation est à même de survivre pendant de long voyages en bateau (le commerce maritime a ainsi favorisé sa dissémination de l'Afrique vers l'Asie et l'Amérique) (Halstead SB, 2008). Ce moustique qui présente une forte anthropophilie, se nourrit le jour (préférentiellement au milieu de la matinée et en fin d'après-midi). La durée de vie des femelles est de 8 à 15 jours et elles peuvent se gorger 3 à 4 fois pendant un seul cycle gonotrophique. Il est aussi important de noter qu'il existe une transmission verticale (trans-ovarienne) pour le virus de la dengue.

c. La « charge » que représente la dengue sur le plan épidémiologique

L'impact de la dengue sur les systèmes de santé des pays concernés, sur le budget des ménages et sur l'activité économique est considérable, particulièrement en période épidémique. La quantification de la charge épidémiologique et économique de la dengue est la clé pour la formulation des prises de décision en matière de recherches prioritaires, de programmes de prévention, de formation clinique pour la gestion des malades et d'introduction de nouvelle technologie

Les indicateurs épidémiologiques de la dengue sont : le nombre de cas cliniques (classés par sévérité : DF DHF DSS) la durée de la maladie, et le taux de létalité, ces indicateurs peuvent être combinés dans un seul indicateur de santé tel que DALY (disability-adjusted life years). Une étude en Asie du Sud Est estimait la perte de DALYs due à la dengue à 420 par million d'habitants par an ce qui est équivalent au coût de la méningite, au double des hépatites et au tiers du SIDA (Shepard DS *et al.* 2004). En 2001, une autre étude réalisée en Thaïlande évaluait la charge de la dengue à une perte de 427 DALYs par million d'habitants par an (Clark DV, 2001).

Alors que la dengue est considérée comme une affection à prédominance urbaine, des épidémies de dengue sont de plus en plus fréquemment signalées dans les zones rurales de l'Inde, ce qui suggère une augmentation de la population à risque (Sharma SN, Raina VK, Kumar A., 2001).

Un autre fardeau pour les pays où la dengue est endémique est représenté par le coût de la lutte anti-vectorielle qui ne cesse d'augmenter sans que le bénéfice ne soit perceptible en terme de contrôle des épidémies (Halstead SB, 2008)

d. La lutte contre la dengue

Des données, recueillies à Singapour, un pays qui a développé une politique efficace en matière de lutte anti-vectorielle, démontrent l'extrême difficulté de lutter contre la dengue dans les pays tropicaux et confirment la nécessité d'un vaccin, seule solution de lutte efficace contre la maladie. (Saluzzo JF, 2001 ; Ooi EE, 2006)

7. Epidémiologie de la dengue en Asie du sud-est

Les pays d'Asie du sud-est enregistrent environ 70% de la charge de morbidité mondiale pour la dengue (relevé Epi OMS 2004). Lorsque la dengue est y endémique, elle représente dans sa forme symptomatique une des principales causes d'hospitalisation et de décès chez les enfants avec un taux de létalité estimé à 0.5-3.5% (Halstead SB, 2006)

L'explosion démographique (de la population urbaine notamment) est particulièrement notable pour les pays du sud est asiatique depuis les 30-40 dernières années. L'urbanisation anarchique et la détérioration de l'environnement urbain ne facilitent pas le contrôle de la densité des vecteurs des virus de la dengue. La migration des populations rurales vers les zones urbaines a accentué la tendance en emmenant une population moins immunisée contre l'infection de la dengue vers des zones à forte transmission. (Ooi EE 2009).

Mis à part le cas particulier de Singapour, la transmission endémique dans les pays du sud est asiatique se décrit par la persistance d'une transmission durant toute l'année et une exacerbation saisonnière pendant la saison des pluies. Des épidémies surviennent de façons régulières entrecoupées par des périodes inter-épidémiques plus ou moins longues de 2 à 4 ans selon la distribution des sérotypes ou le niveau d'immunisation de la population.

Il est important de noter que le profil épidémiologique de la dengue des pays du sud est asiatique diffère de façon substantielle de ceux des autres régions, notamment celui de l'Amérique latine, autre région sévèrement affectée par la dengue. Bien que les quatre sérotypes circulent aussi en Amérique, les formes sévères semblent être plus fréquentes en Asie du sud est. Durant la période 1996 – 2005, l'incidence relative de la dengue hémorragique était 17,3 fois plus élevée que celle de l'Amérique centrale et australe (Halstead SB, 2006). Il semblerait aussi que les enfants asiatiques présentent une fréquence de formes symptomatiques plus importante à niveau d'incidence de l'infection égale. Plus précisément les groupes d'âges les plus affectés par les formes sévères correspondent aux enfants de 5 à 9 ans pour les pays les plus endémiques (Cambodge, Laos, Vietnam, Indonésie et Philippines) alors qu'à Singapour, la dengue se présente sous une forme modérée et affecte principalement les adultes. La Thaïlande est en train de vivre en revanche un changement de profil marqué par un glissement depuis les vingt dernières années de l'incidence des dengues hémorragiques la plus élevée vers les enfants plus âgés (5 – 6 ans durant les années 70 et 80 ; à 8-9 ans de 1990 à 99) (Chareonsook 1999). Les cas de dengue classique et formes plus sévères commencent à y apparaître chez les adultes (Nisalak 2003).

Ces différences par rapport à l'âge et à l'expression de la maladie de la forme inapparente à une forme sévère s'expliquent principalement par une longue histoire de transmission de la dengue en Asie du sud est et par les différences probables de facteurs de risque (Halstead SB 2006). Les premières formes hémorragiques ont été décrites dans les années 50 aux Philippines et en Thaïlande, témoignant d'un niveau de transmission extrêmement élevé pour lequel l'incidence de l'infection par an était de 15%. 50% des enfants avaient été malades de la dengue avant l'âge de 5 ans et presque tous les personnes de 20 ans avaient des marqueurs sérologique de la dengue (Halstead SB, 1969). Un niveau équivalent, voire plus élevé, de transmission se retrouve encore à nos jours au Cambodge où plus de 90% des enfants à quatre ans présentent des anticorps anti-dengue (S Vong Communication personnelle).

Les données sur le profil des patients présentées ci-dessus proviennent principalement des

études hospitalières ou dans la communauté. Or des données de surveillance qui nous éclaireraient sur l'incidence de la dengue dans la région sont rarement publiées et par conséquent peu disponibles.

L'OMS a donc créé DengueNet, un système mondial de surveillance disponible sur le web pour la dengue et la dengue hémorragique. L'objectif est de renforcer la surveillance et de mettre l'accent sur le développement des capacités diagnostiques de la dengue dans les laboratoires des pays concernés afin d'obtenir des données normalisées de surveillance de la dengue (wer dengue 2002).

8. Surveillance de la dengue en Asie du sud-est (ASE)

Les systèmes de surveillance ont montré leurs limites ; bien que la déclaration de la dengue soit obligatoire dans de nombreux pays du sud est asiatique, seule une petite proportion des cas sont signalés à l'OMS. Par ailleurs, la plupart des pays de la région basent leur surveillance sur un système passif dans lequel de nombreux cas ne sont pas notifiés. Clairement, les cas non hospitalisés, comme le montrent les études en Thaïlande ou au Cambodge, représentent une proportion importante de la charge en matière de dépense de santé dans une famille ou pour la société. (Anderson, 2007 ; Huy R 2005). De plus, il existe de telles variations dans les systèmes de surveillance de la dengue, dues aux différences des moyens consacrés, que les comparaisons d'incidence entre les pays seraient souvent fallacieuses, si on ne tenait pas compte du contexte socio- économique dans lequel les systèmes de surveillance opèrent.

Les principales raisons de la difficulté de standardisation résident dans le fait que seulement quelques pays confirment en laboratoire tous les cas suspects de dengue (ex : Singapour, Malaisie). D'autres ne testent que les cas hospitalisés (Philippines, Thaïlande). Le Cambodge comme le Vietnam ne basent leur surveillance par le diagnostic sérologique ou virologique de la dengue que sur un échantillon plus ou moins représentatif des cas suspects. Certains ne recueillent que les cas hospitalisés (Thaïlande, Cambodge) alors que d'autres incluent aussi les cas détectés cliniquement dans les centres de santé (Vietnam, Philippines). De part le caractère peu spécifique des formes cliniques modérées, il est difficile d'affirmer que ces cas diagnostiqués cliniquement, sont véritablement de la dengue. Les différences d'application ou d'interprétations de la définition des cas (particulièrement pour les formes sévères) entre les pays d'ASE limitent aussi leur habilité à faire des comparaisons valides. Ainsi les taux de létalité comparatifs disponibles sur DengueNet n'ont qu'un intérêt relatif. La caractérisation des formes graves selon les critères de l' OMS, de l'aveu même des cliniciens hospitaliers, est difficile à mettre en œuvre dans les structures sanitaires des pays les plus pauvres (Laos, Cambodge) puisqu'elle requiert des moyens qui ne sont pas forcément disponibles (dosage des plaquettes, échographie, radiographie pulmonaire) (source : réunion des pays qui composent le Consortium à Colombo au Sri Lanka en octobre 2007 www.pdvi.org).

Quelques pays de l'ASE se sont associée avec le PDVI (Pediatric Dengue Vaccine Initiative) un programme de l'Institut International du Vaccin (International Vaccine Institute IVI) basé à Séoul en Corée du sud, pour créer des sites de surveillance active des fièvres dont le but est d'estimer plus précisément l'incidence de la dengue dans les communautés villageoises.

9. Présentation du contexte cambodgien et du programme national de surveillance de la dengue

Le Cambodge est situé en Asie tropicale et compte 14 millions d'habitants dont 50% sont des enfants de moins de 15 ans. Le taux de croissance annuel de la population est estimé à 1.81%. Le pays est composé de 24 provinces, 183 districts, 1623 communes et 13 408 villages. Le Cambodge est l'un des pays les plus pauvres du monde avec un revenu annuel évalué à 440 USD par habitant et 78% de la population vivant avec moins de 2 USD par jour. Les indicateurs de santé y sont plus que médiocres avec une espérance de vie de 58 ans et une mortalité infantile de 98/1000 naissances vivantes. Le nombre de lits d'hôpital pour 1000 habitants était de 0,96 en 1988, ce qui est faible comparé au Vietnam (3,3), au Laos (2.6) ou à la Thaïlande (1.6). En dépit des réformes récentes du système de santé, les structures sanitaires publiques restent sous utilisées, probablement en raison de la faiblesse des soins curatifs, de l'insuffisance de la formation de nombreuses équipes (particulièrement dans les zones reculées), des bas salaires et du manque de motivation. (Tourdjman M 2005).

La Dengue est considérée comme un problème majeur de santé publique au Cambodge. Les 4 sérotypes y circulent avec une prédominance majeure pour le sérotype 2 depuis les 5 dernières années. La surveillance nationale de la dengue a été introduite pour la première fois au Cambodge en 1980 et renforcée en 1996. Ce système est basé sur la déclaration des cas diagnostiqués par les centres de santé et les hôpitaux du secteur public (diagnostic clinique). La surveillance de la dengue a ensuite été relancée en 2001 avec la mise en place d'un réseau sentinelle de surveillance active basé sur 6 hôpitaux répartis dans 4 provinces. A cette surveillance sentinelle s'ajoute une surveillance séro-virologique à laquelle 4 des 6 hôpitaux sentinelles participent. Le sérum d'un échantillon de malades suspects de dengue est ainsi prélevé chaque semaine dans chaque site pour un diagnostic sérologique et/ou moléculaire à l'Institut Pasteur du Cambodge. Les données de surveillance nationale sont essentiellement caractérisées par le fait que seulement les cas hospitalisés diagnostiqués cliniquement sont pris en compte. De plus le système est aussi biaisé par le fait que seulement les enfants de moins de 16 ans sont rapportés.

Le premier rapport des données de la surveillance nationale de la dengue entre 1980 et 2008 a permis de mettre en évidence des cycles épidémiques tous les 3-4 ans et une récurrence d'épidémies importantes du même sérotype tous les 8-9 ans. La dengue et ses formes sévères affectent principalement les enfants de moins de un an et la catégorie d'âge des 4 à 7 ans. Si les 4 sérotypes viraux ont circulé, DENV-3 et DENV-2 ont prévalu depuis que la surveillance sérologique a été mise en place en 2000 (Huy R. 2009).

Le sérotype DENV-3 semble avoir été associé avec des épidémies plus importantes et des formes cliniques plus graves. La sous déclaration des cas est majeure dans la mesure où le système de surveillance passif national ne considère que les cas hospitalisés.

Matériel et méthodes

1. Site et population de l'étude

Située dans la plaine centrale cambodgienne à environ 170 km au nord-ouest de Phnom Penh, avec la frontière vietnamienne au Sud, Kampong Cham est la province la plus peuplée du Cambodge avec plus de 1 600 000 habitants (figure 3). La densité de population y est la plus élevée du pays avec 164 habitants par kilomètre carré.

Cette population essentiellement rurale représente plus de 14% de la population cambodgienne.

La province de Kampong Cham est sub-divisée en 16 districts qui comportent en tout 173 communes et 1 748 villages. La taille moyenne des ménages y est de 5.1 personnes (nombre total des ménages estimé à 311 151) (General Population Census of Cambodia 1998).

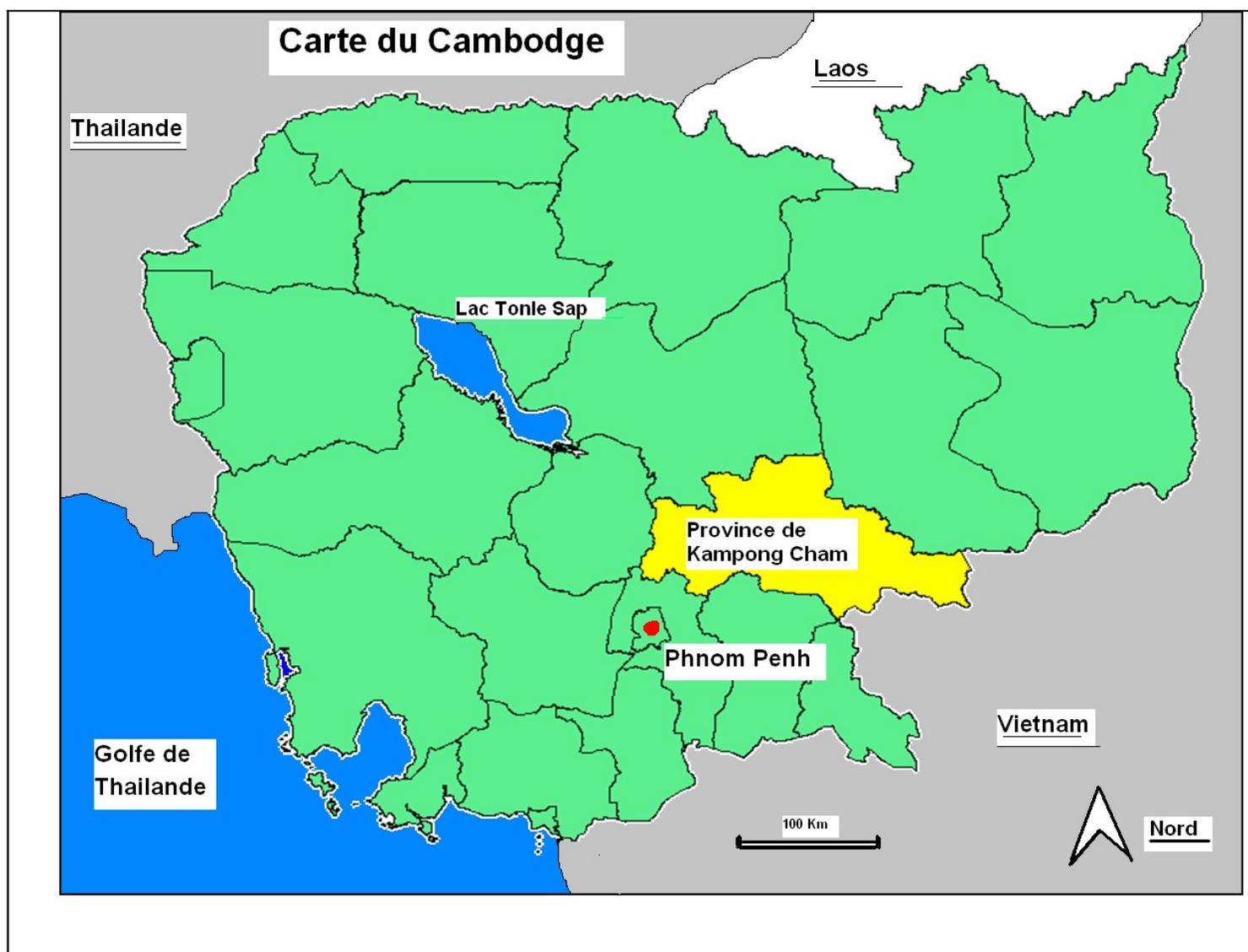


Figure 3 - Carte du Cambodge

L'étude de l'IPC se déroule sur les villages de 4 districts : Kampong Siem , Kang Meas, Kampong Cham et Tboung Khmum. La dengue y est fortement endémique et l'hôpital provincial de la ville de Kampong Cham représente un des sites sentinelles pour le Programme National de contrôle de la dengue.

En 2006 Les données ont été recueillies dans 20 villages sur un échantillon d'enfants de moins de seize ans (n=9075). Quatre villages ont été retirés de l'étude à posteriori en raison de l'insuffisance des données collectées (CK, PD, SS et MT), ramenant à 16 le nombre de villages étudiés (figure 4).

1

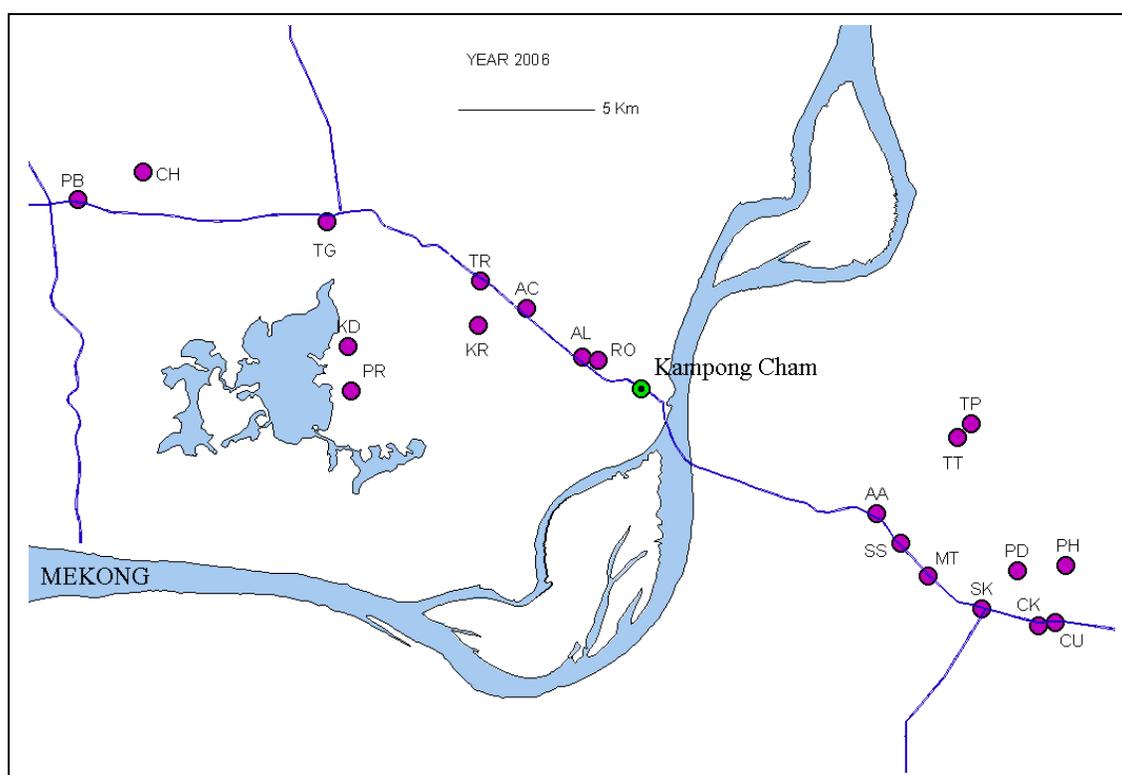


Figure 4 - Villages de la cohorte en 2006

En 2007 cinq nouveaux sites urbains ont été inclus, portant à 10 086 le nombre de jeunes de moins de 20 ans exposés et surveillés. Pour les années 2007 et 2008, les 25 villages qui ont été concernés par l'étude sont repartis en 5 groupes géographiques, dont le groupe 1 correspond à des zones urbaines de la périphérie de la ville de Kampong Cham (figure 5).

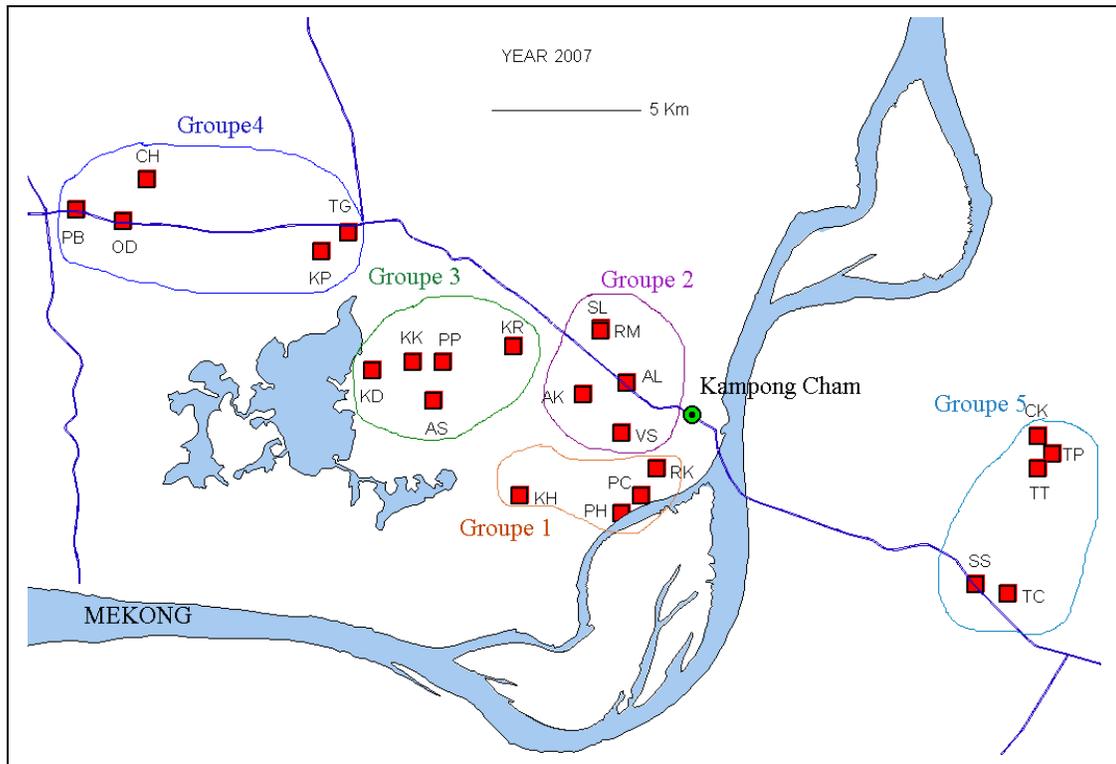


Figure 5 - Villages de la cohorte en 2007

En 2008, 25 villages ont été sélectionnés, dont 12 nouveaux sites par rapport à l'année précédente (figure 6). Le groupe 5 correspondait à des zones urbaines.

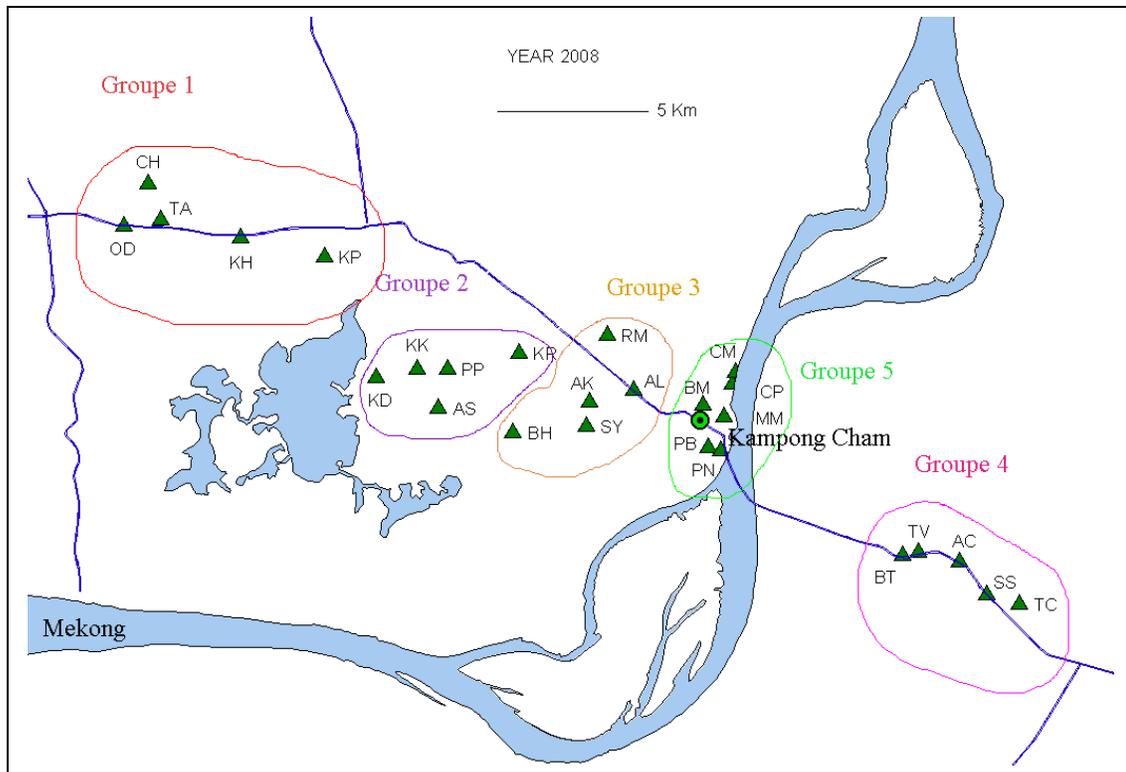


Figure 6 - Villages de la cohorte en 2008

2. Organisation de l'étude

La surveillance active de la fièvre

Il s'agit de suivre une cohorte de jeunes de moins de 20 ans répartis sur une vingtaine de villages pour détecter les cas de fièvre survenant pendant la saison épidémique de la dengue.

Après avoir obtenu l'accord de participation des chefs des villages et de leurs conseils des anciens, chaque ménage inclus dans l'étude est visité de façon hebdomadaire, chaque cas de fièvre est signalé par les familles puis prélevé à deux reprises (à J0 et à J15. Préalablement une fiche de consentement a été signée par les parents et les enfants de plus de 12 ans.

Définition des cas de fièvre, critères d'inclusion:

Est inclus dans l'étude tout jeune de moins de 20 ans résidant dans un des ménages surveillés ayant eu un épisode fébrile de 24h (\leq à 48h en 2006) avec une température supérieure ou égale à 38°C mesurée au domicile par les parents ou toute personne ayant la charge de l'enfant (prise axillaire de la température au moyen d'un thermomètre digital)

Le réseau de surveillance active de la dengue dans les villages de la province de Kampong Cham

- **Les ménages des villages**

Dans chaque ménage les mères ont été formées par les équipes des villages à relever la température au moyen d'un thermomètre digital (préalablement distribué à tous les ménages de l'étude). Pour tout enfant suspect d'être fébrile, elles sont à même de noter la température observée, avec la date correspondante dans un cahier consacré à cet usage. Ce sont les mamans qui se chargent d'informer l'équipe du village lorsqu'un enfant a une température supérieure ou égale à 38°C.

- **Les équipes des villages**

Elles sont chargées de visiter de façon hebdomadaire l'ensemble des ménages inclus dans chaque village pour relever l'identité des jeunes de moins de 20 ans qui ont présenté un épisode fébrile (température \geq 38.5°C). Ces patients sont signalés par chaque équipe de village à une des cinq équipes d'investigation. Les équipes des villages sont également responsables du contrôle et de la bonne tenue des cahiers de température dans les ménages et du report des cas de fièvres dans le registre des participants qui est régulièrement consulté par les moniteurs de l'IPC .

- **Les équipes d’investigation**

Elles sont constituées d’infirmiers de l’hôpital régional qui ont pour fonction :

1. d’obtenir le consentement éclairé des parents et éventuellement l’assentiment de l’enfant (s’il a plus de 12 ans),
2. de remplir le formulaire de consentement et d’assentiment, ainsi que la fiche de déclaration nominative (FDN),
3. et de prélever l’enfant à J0 et à J15 afin d’effectuer les tests sérologiques et virologiques adéquats à l’IPC.

- **Le laboratoire de l’hôpital provincial de Kampong Cham**

Les échantillons sanguins prélevés par les infirmiers des équipes d’investigation y sont déposés pour être centrifugés et conditionnés (fractionnés et congelés) avant d’être acheminés par taxi de façon hebdomadaire à l’IPC de Phnom Penh avec les formulaires s’y rattachant (FDN).

- **L’équipe de coordination**

Composée de 8 moniteurs de l’IPC et de 3 contrôleurs de l’étude (deux de l’IPC de Phnom Penh et un du Programme National de Surveillance et de Contrôle de la Dengue), elle supervise la mise en place et le déroulement de l’étude, par de nombreux contacts téléphoniques, par des visites sur le terrain programmées (3 jours par semaine) et non programmées (visites surprise).

Les équipes des villages sont rémunérées de façon mensuelle avec des primes en fonction de leur activité.

- **L’unité d’épidémiologie de l’institut Pasteur du Cambodge**

Elle est responsable de la saisie de tous les formulaires dans deux bases de donnée EPIDATA® et ACCESS®, et de l’analyse les données avec le logiciel d’épidémiologie Stata®.

- **L’unité de virologie de l’IPC**

Les sérums congelés en provenance de l’hôpital de Kampong Cham sont techniques sur le plan sérologique et virologique à l’IPC (figure 7).

- **Organigramme du réseau de surveillance active de la dengue dans la province de Kampong Cham au Cambodge**

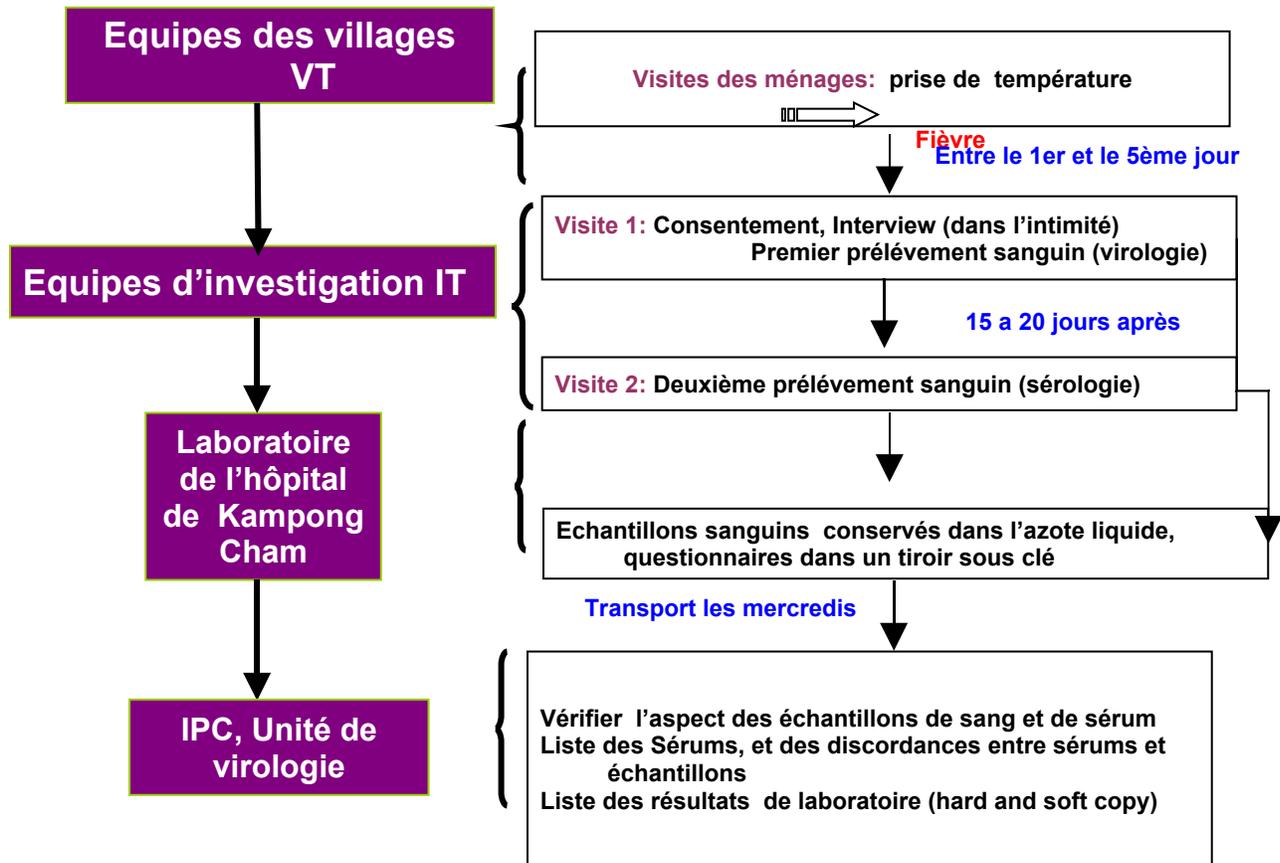


Figure 7 -Organigramme du réseau de surveillance active de la dengue (1)

3. Les analyses de laboratoire

Définition du cas de dengue par le laboratoire : toute personne qui présente une séro-conversion pour les IgM anti-dengue ou qui est positive soit pour la RT-PCR soit pour la culture cellulaire.

Les participants qui sont détectés positifs pour les IgM anti-dengue à plusieurs reprises ne sont considérés comme des cas de dengue que pour la première fois si les autres épisodes fébriles surviennent dans les trois mois suivants, à moins qu'un sérotype viral différent ne soit identifié lors des épisodes ultérieurs.

Deux échantillons sanguins sont prélevés à 15 jours d'intervalle pour chaque cas fébrile. Pour tous les cas de fièvre, une recherche des IgM spécifiques de la dengue et de l'encéphalite japonaise par capture ELISA est réalisée sur le deuxième prélèvement. En cas de positivité sérologique, le premier échantillon de plasma, recueilli moins de 5 jours après le début de la fièvre, est utilisé pour détection de l'ARN viral par RT-PCR et isolement viral sur cultures cellulaires C6/36 (figure 8).

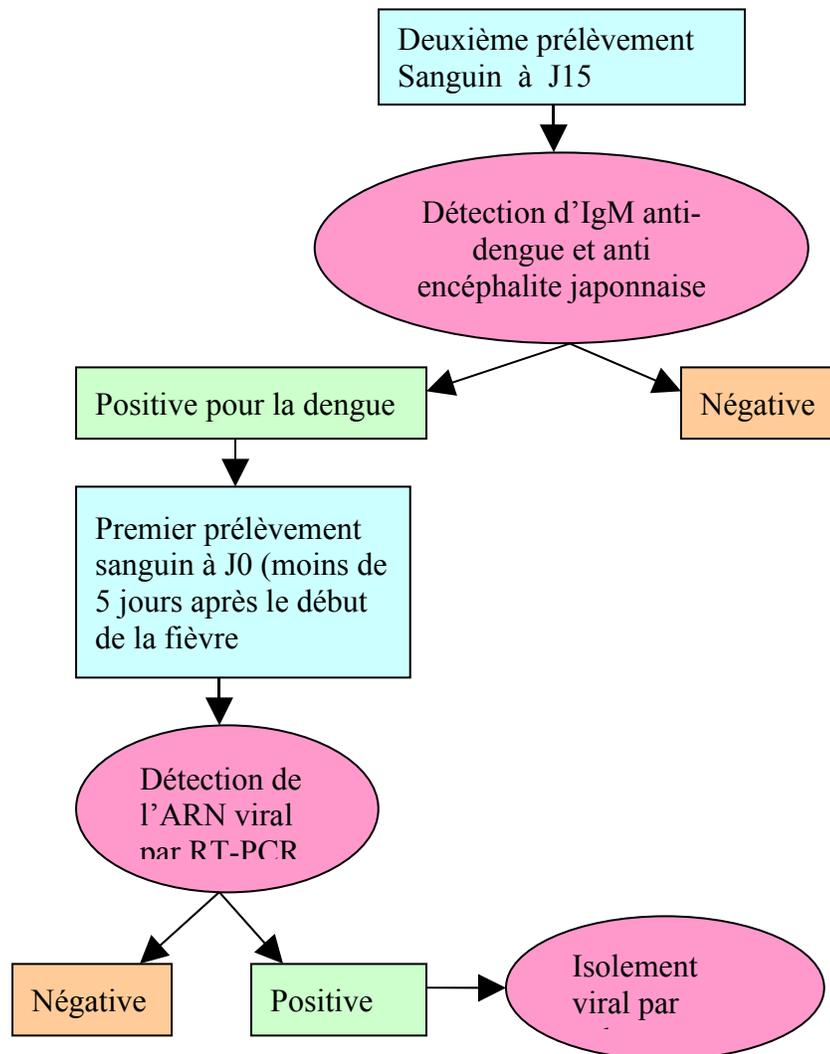


Figure 8 -Algorithme des différents tests de laboratoire pour les cas de fièvre

L'encéphalite japonaise (EJ) étant endémique au Cambodge, les IgM spécifiques de l'EJ sont recherchées avec les IgM spécifiques de la dengue en raison des réactions croisées et pour limiter le nombre de faux positifs pour la dengue.

La procédure de capture des IgM par ELISA consiste à placer les sérums sur une assiette de microtitrage recouverte d'anti-chaîne μ des IgM humains disponibles dans le commerce (Sigma). Des virus de la dengue sont ensuite placés comme troisième couche sur l'assiette puis une souris polyclonale anti-dengue virus DENV-1, DENV-2, DENV-3, et DENV-4 est ajoutée sur l'assiette avant que le conjugué d'enzyme/anti-mouse IgG commercial (Sigma) soit utilisé comme preuve. Les virus de la dengue et la souris anti-dengue pour le test sont produits par l'IPC et les réactifs diagnostics ont été évalués par l'OMS.

Concernant les patients pour lesquels le deuxième prélèvement n'avait pas pu être recueilli (n=81), il a été décidé de réaliser la recherche d'IgM spécifiques avec la RT-PCR sur le premier prélèvement pour les 50 participants qui ont eu de la fièvre durant la période épidémique de la dengue.

4. Le recueil des données

- **Le registre des familles (logbook)**

Les données y sont collectées par les équipes des villages, elles concernent l'identité de chaque enfant suivi dans chaque ménage, la date des visites y est reportée (au moins une par semaine) ainsi que les épisodes fébriles qui ont été signalés. Les listes des ménages ont été établies à partir des recensements réalisés par les chefs des villages. Les données sont saisies sur une base EPIDATA® par les moniteurs de l'étude en continu.

- **La Fiche de Déclaration nominative (FDN)**

Chaque cas de fièvre de moins de 20 ans qui a été prélevé fait l'objet d'une FDN qui est remplie par l'infirmier(e) qui a réalisé les 2 prélèvements sanguins. Elle comporte des informations relatives aux caractéristiques démographiques, socio-culturelles, cliniques (durée de la fièvre, symptômes...) et relatives aux parcours de soins. Les moniteurs de l'étude et les différents équipiers n'étant pas des médecins, il leur a été précisé de ne pas interférer avec le parcours de soins des familles et de se limiter à conseiller aux familles de consulter en cas d'inquiétude et de donner du paracétamol en cas de fièvre. Les données sont saisies en continu sur une base de données ACCESS® par un moniteur de l'IPC gestionnaire de données (figure 9).

Organigramme du réseau IPC pour la surveillance active de la dengue au Cambodge

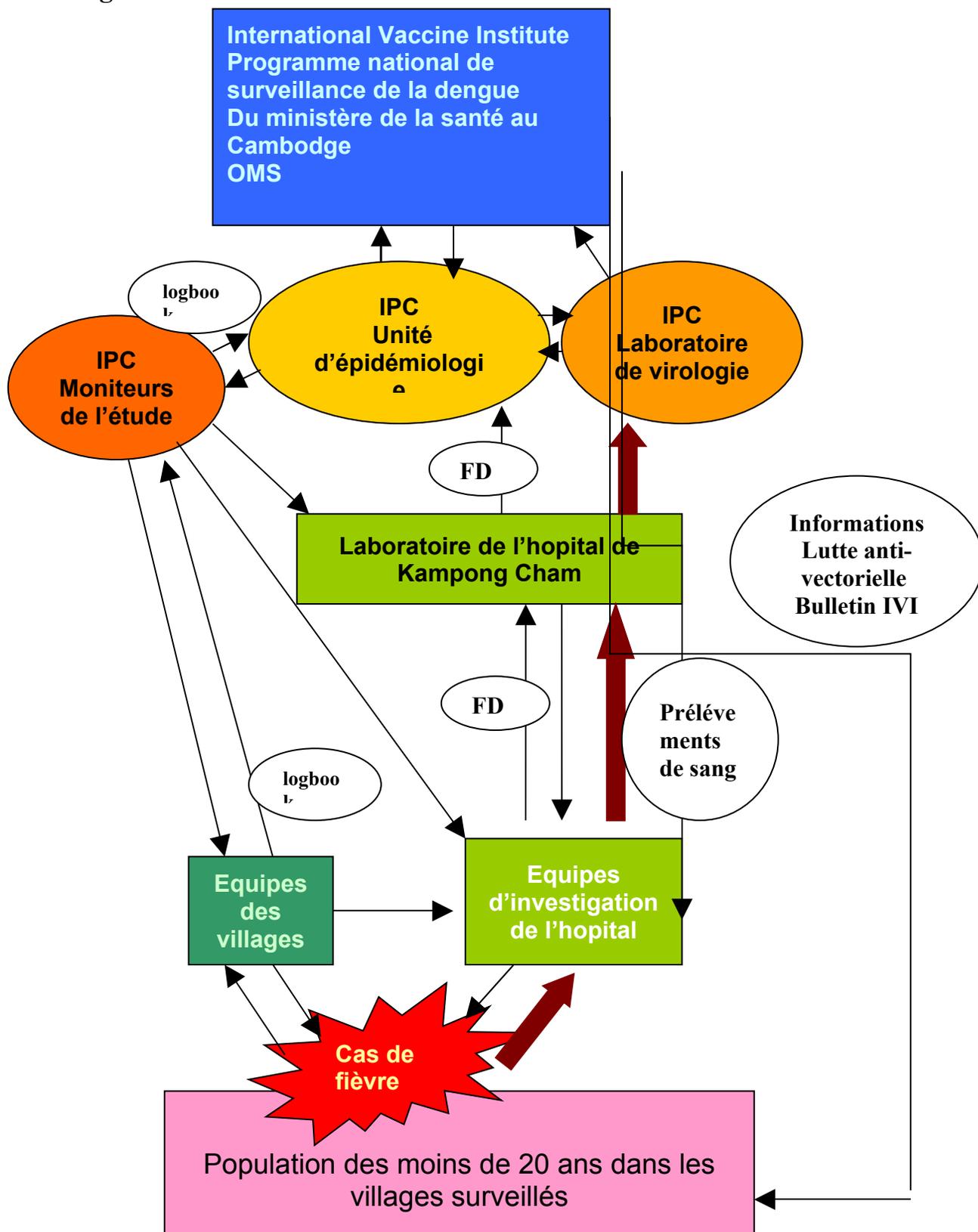


Figure 9– Organigramme du réseau de surveillance de la dengue (2)

5. Les analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel STATA ® version 9.2 (StataCorp, College Station, Texas). Les taux d'incidence de la dengue ont été calculé avec comme dénominateur le nombre de personnes de moins de 20 ans contrôlées chaque semaine dans les ménages par les VT.

Pour l'analyse nous considérons que l'incidence de la dengue durant la saison épidémique est égale à l'incidence annuelle de la dengue, elle est exprimée en nombre de nouveaux cas pour 1000 personnes- saisons. Pour la comparaison des caractéristiques démographiques, des signes cliniques et des parcours de soin, des tests bilatéraux sont effectués à l'aide du logiciel Stata 9.2 ®. La valeur de signification est fixée à un p de 0,05. Les moyennes sont comparées à l'aide du test de Student. Le test non paramétrique de Kruskal-Wallis est utilisé pour la comparaison des médianes des variables continues.

Enfin les fréquences sont comparées par le test de Chi-2 ou celui de Fisher si au moins un effectif théorique est inférieur à 5.

Les moyennes, les médianes, les intervalles de confiance et les Risques Relatifs ont été calculés avec le logiciel Stata avec un seuil de signification $p < 0.05$.

L'analyse multivariée a été effectuée au moyen d'une régression logistique utilisant le test de Wald comme test statistique.

Les graphiques sont réalisés avec STATA ® et Excel 2000 ®.

RESULTATS

1. Les caractéristiques de la population étudiée

Durant la période 2006-2008, 41 villages ont été sous surveillance active. 14 351 participants de moins de 20 ans ont été suivis pendant 3 ans. Ces participants représentaient 34% en moyenne de la population des villages (écart des valeurs de 11% à 78.6%). Seulement 5 villages ont été suivis pendant les 3 années successives et 13 villages pendant deux ans. Du 8 mai 2006 au 23 novembre 2006 (199 jours de suivi), 16 villages ont été inclus tous situés en zone rurale. Du premier juin au 31 décembre 2007 (214 jours de suivi), 25 villages comprenant 5 villages situés en zone urbaine, ont participé à la surveillance. En 2008, le suivi a duré du premier avril au 31 décembre (275 jours de suivi) pour 25 villages dont 5 en zone urbaine (tableau 1).

6657 enfants de moins de 16 ans, 10 086 et 7769 individus de moins de 20 ans ont été inclus dans les cohortes respectives de 2006, 2007 et 2008. De ces patients, 2575 participants (25,5%) résidaient en zone urbaine en 2007 et 1024 (13,2%) en 2008. La médiane de l'âge de participants était de 7 ans, et 52% étaient de sexe masculin. La population étudiée en 2006 était plus jeune que celle de 2007 et 2008 ($p=0.0001$), probablement du fait que dans la cohorte de 2006 seulement les moins de 16 ans étaient sélectionnés. Aucune différence des genres n'était notée sur les trois cohortes. La proportion des patients ayant refusé de participer à l'étude était minime durant les trois années en moyenne de 0,6% (écart des valeurs de 0,4% à 0,9%). Aussi, peu de participants ont été perdus de vue, en moyenne 0,9% (écart des valeurs de 0.8% à 1.1%).

Tableau 1 - Caractéristiques des cohortes dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 à 2008

Saison	2006	2007	2008
Nombre de villages (nombre de zones urbaines)	16	25 (5)	25 (5)
Duree de l'étude en jours (nombre de mois)	199 (6)	214 (7)	275 (8)
Nombre de participants	6657	10086	7769
Nombre de ménages surveillés	4902	4330	3767
Nombre de participants en zone urbaine (%)	NA	2575 (25.5%)	1024 (13.2%)
Nombre de fièvres	1633	3088	2851
Nombre de refus (%)	37 (0.6%)	44 (0.4%)	68 (0.9%)
Nombre de perdus de vue (%)	76 (1.1%)	91(0.9%)	59 (0.76%)
Nombre de cas fièvres prélevées (nombre de patients)	444 (426)	2953 (2474)	2724 (2095)
Nombre de cas de dengue	89	530	117
Mediane de la durée de suivi par participant en jours	195	210	259
Min - max de la durée de suivi par cohorte	8-199	14-214	14-275
Nombre de personnes-saisons exposees	6693	9167	6638
Pourcentage de patients de sexe masculin	51.9%	51.9%	50.5%
Pourcentage de couverture de la population étudiée			
Moyenne de la couverture par village	33.5%	36.8%	32.9%
Médiane de la couverture par village	34.8%	36.4%	32.9%
Min-Max	12.8-69.8	6.2-78.6	11.0-48.4
Episode fébrile par participant			
Moyenne	ND**	1.22	1.34
Médiane	ND	1	1
Min-Max	ND	1-5	1-6
Répartition en 4 catégories d'age des sujets de la cohorte			
Moins de 4 ans	25.3%	22.9%	23.4%
Entre 5 ans et 9 ans	31.4%	25.6%	26.4%
Entre 10 et 14 ans*	43.3%	29.2%	29.5%
Entre 15 et 20 ans		22.4%	20.8%
Age			
Moyenne	8.12	9.35	9.18
Médiane	8	10	9
Min-Max	0-15	0-20	0-20

* Pour la saison 2006 les jeunes ages de 15 sont inclus dans cette catégorie

** ND= Non Disponible

***NA= Non Applicable

2. Caractéristiques des patients infectés par le virus de la dengue

a. Caractéristiques démographiques

En tout 736 patients infectés par le virus de la dengue ont été identifiés durant les trois années, 736 par sérologie, 424 par RT-PCR (58%) dont 292 pour lesquels l'isolement viral a été possible. Aucun décès en rapport avec la dengue n'a été relevé dans la population surveillée. L'âge moyen des cas de dengue était de 7 ans (écart des valeurs : 0-19 ans) et 50.6% étaient de sexe masculin. Il n'y avait pas de différence d'âge ni de genre sur les trois années. Les patients infectés par la dengue étaient significativement plus jeunes en 2006 et 2007 qu'en 2008 (médianes d'âge respectivement de 6 ans, de 6 ans et de 8 ans p=0.01). (tableau 2)

Tableau 2 - Fréquence des facteurs de sévérité de la dengue dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 à 2008

	2006 n=89	2007 n=530	2008 n=117	Total n=736
Age				
Moyenne	6.64	7.09	8.27	7.22
Médiane	6	6	8	7
Min-Max	0-15	0-19	1-17	0-19
Durée de la fièvre (%)				
Fièvre<4 jours	16.9	35.7	38.5	33.8
Fièvre=4 jours	15.7	20.8	29.9	21.6
Fièvre>4 jours	67.4	43.6	31.6	44.6
Recours aux soins (%)				
Cas hospitalisés	52.8	10.6	2.6	14.4
Cas traités autrement	43.8	41.9	32.5	40.2
Cas non traités	3.4	47.5	65.0	45.2
Symptômes (%)				
Rash cutané	40.4	2.3	2.6	6.9
Myalgies	30.3	7.9	25.6	13.5
Céphalées sévères	73.0	44.9	69.2	52.2
Douleurs retro-orbitaires	18.0	8.5	21.4	11.7
Arthralgies	11.2	5.8	1.7	5.8
Toux*	NA	18.1	54.7	21.7
Dyspnée*	NA	3.2	2.6	2.7
Sérotypes viraux (%)				
DENV-1	78.1	28.1	0.0	27.2
DENV-2	6.3	0.3	77.5	13.7
DENV-3	15.6	67.8	16.9	55.3
DENV-4	0.0	3.8	5.6	3.8
Taux d'incidence de la dengue	13.4	57.8	17.6	32.8

* Données uniquement pour 2007 et 2008

b. Caractéristiques cliniques

Les trois symptômes les plus fréquemment rapportés dans la cohorte de 2006 étaient : les céphalées sévères (72%), le rash cutané (40%) et les douleurs musculaires (8%). tandis qu'en 2007 : les céphalées (45%), la toux (18%) et les douleurs rétro orbitaires (8%) étaient plus souvent signalées. En 2008, ce sont les céphalées (45%), les douleurs rétro orbitaires (22%) et les myalgies (8%) qui ressortaient d'avantage de l'interrogatoire (tableau 2). Une différence significative des proportions d'enfants hospitalisés était observée sur les trois années ; avec 42%, 11% et 2,6% respectivement en 2006, 2007 et 2008.

3. Incidence de la dengue

En 2006, 89 cas de dengue ont été détectés, ce qui correspond à un taux d'incidence de 13,6/1000 personnes-saisons. Avec la survenue d'une épidémie importante en 2007, le taux d'incidence de la dengue était de 57,8 pour mille personnes-saisons. Les 117 cas dépistés en 2008 portaient le taux d'incidence à 17,6/1000. La plupart des cas se sont produits entre le mois de mai et le mois d'août. (86%). Les caractéristiques de la dengue par village ont considérablement varié sur les trois années. En 2006 les cas de dengue ont concerné 12 villages avec une médiane de 1 cas par village (écart des valeurs : de 1 cas à 59). 59, soit 66% des cas, provenaient du même village. Du 2 juin au 22 août, un taux d'attaque de 106,5/1000 était observé dans le village. Durant 2007, année de l'épidémie, tous les villages ont signalés des cas de dengue avec une médiane de taux d'attaque de 36,5/1000 par village avec des valeurs s'étalant de 5,6 à 211,5/1000. Aussi faut-il mentionner que le pic épidémique de 2007 est survenu au début du mois de juin, alors que la surveillance venait de commencer, tandis que pour 2006 et 2008 les pics épidémiques survenaient plus tard en juillet et août (cf figure 11 ci-dessous). Le taux d'incidence dans les zones rurales s'est révélé 4,2 fois plus important que dans les zones urbaines (71,3 contre 17,1/1000 $p < 0.001$) en 2007. Par contre, en 2008, le risque relatif s'est inversé avec 21,2/1000 dans les zones urbaines contre 17,1/1000 ($p < 0.001$). (tableau 3)

Tableau 3 - Les incidences de la fièvre et de la dengue dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 à 2008

Saisons	2006	2007	2008
Incidence de la fièvre pour 1000 personnes-saisons			
	244.0	336.9	429.5
Incidence de la dengue pour 1000 personnes-saisons			
	13.4	57.8	17.6
Incidence de la fièvre par groupe d'âge pour 1000 personnes-saisons			
<1 an	268.5	391.4	668.1
1-4 ans	297.5	521.0	669.2
5-7 ans	209.4	445.9	540.2
8-10 ans	170.0	356.2	476.0
11-13 ans	118.4	292.9	326.9
14-16 ans	88.4	186.1	192.7
17-20 ans		94.9	118.0
Incidence de la dengue par groupe d'âge pour 1000 personnes-saisons			
<1 an	10.1	47.3	0.0
1-4 ans	19.9	92.6	19.7
5-7 ans	18.3	94.8	25.1
8-10 ans	9.9	56.6	24.0
11-13 ans	11.2	48.0	14.9
14-16 ans	4.6	23.6	13.1
17-20 ans		14.8	5.1
Incidence de la fièvre par zone pour 1000 personnes-saisons			
Zone urbaine (5 villages)	NA	176.1	164.9
Zone rurale (20 villages)	NA	390.0	470.8
Incidence de la dengue par zone pour 1000 personnes-saisons			
Zone urbaine (5 villages)	NA	17.1	21.2
Zone rurale (20 villages)	NA	71.3	17.1
Sérotypes viraux (%)			
DENV-1	78.1	28.1	0.0
DENV-2	6.3	0.3	77.5
DENV-3	15.6	67.8	16.9
DENV-4	0.0	3.8	5.6
Nombre de cas de dengue identifiés			
IgM+ (%)	89 (100)	530 (100)	117 (100)

RT-PCR+ (%)	32 (36,0)	320 (60,4)	72(61.5)
Isolement viral + (%)	21 (23,6)	214 (40.3)	57 (48.7)

Les taux d'incidence spécifiques pour l'âge les plus élevés étaient observés pour les enfants de trois ans, variant de 23 à 119/1000 pour les trois années. Toutefois le second pic concerne la catégorie d'âges des 5-6 ans pour les cohortes de 2006 et 2007, alors qu'on l'observe chez les enfants de 7 ans en 2008 (figure 10)(annexe 9).

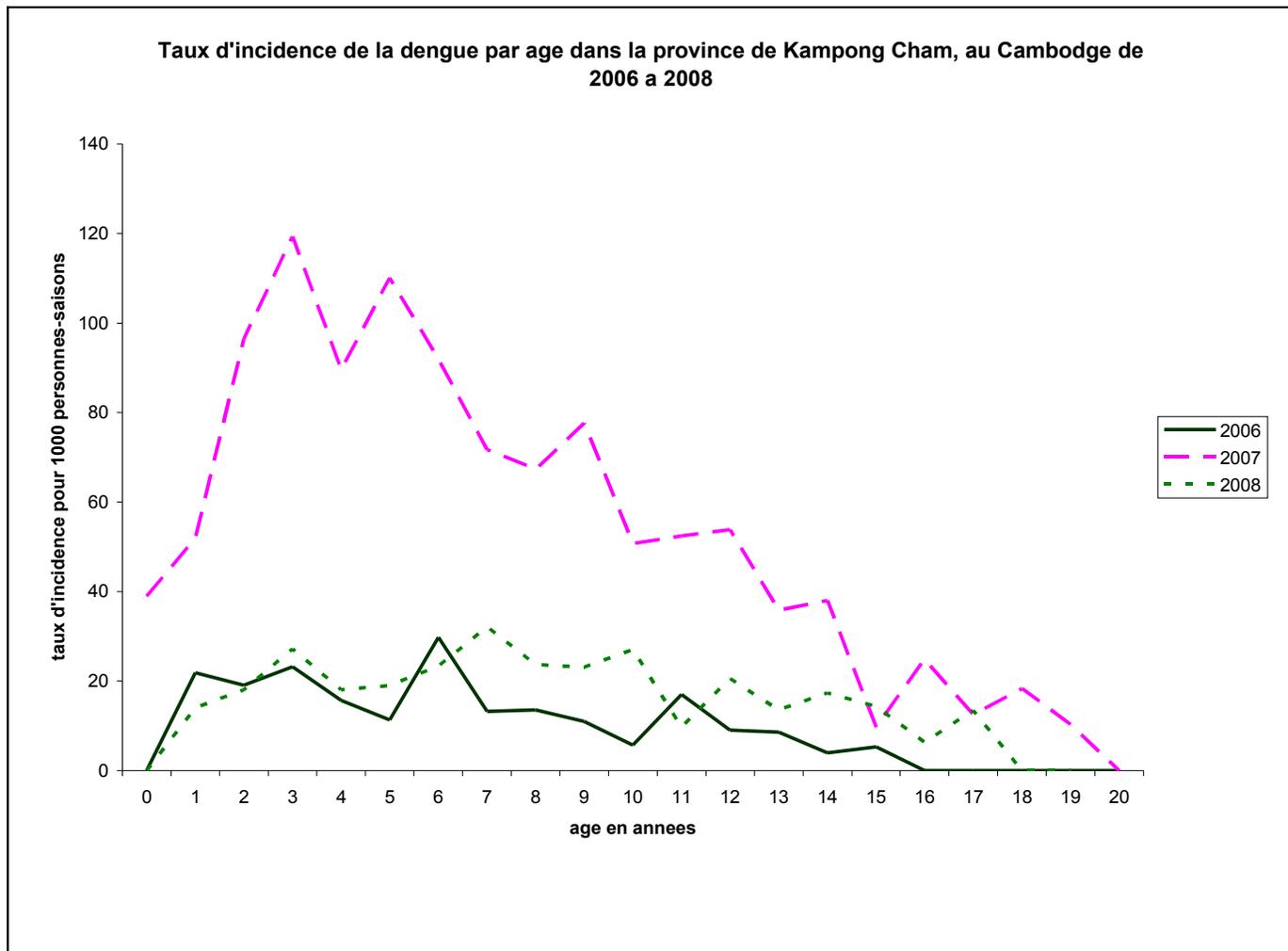


Figure 10- Taux d'incidence de la dengue par âge

4. Incidence de la fièvre

La fréquence des fièvres était extrêmement élevée avec des incidences saisonnières totales sur les trois cohortes de 224/1000 en 2006, à 429/1000 en 2008. Le faible taux d'incidence de la

fièvre observé en 2006 reflète probablement les différences entre les définitions des cas pour l'enregistrement et les prélèvements. En effet en 2006, seulement étaient signalées et prélevées, les fièvres ayant duré au moins 48 heures et qui étaient contrôlées par les équipes des villages ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) dans les ménages. Des pics d'incidence de la fièvre sont remarquables sur la courbe des taux d'incidence: un en septembre 2007 et deux en juin et en octobre 2008 (figure 11). Ils sont probablement à rattacher à un syndrome respiratoire qui combinait toux et fièvre. Les détails de l'incidence de la fièvre par village sont montré sur l'annexe 5. Certains villages ont présenté des taux d'attaque de fièvre extrêmement élevés (écart des valeurs de 31,5/1000 à 1018/1000) avec 100 % des villages qui présentaient au moins un épisode fébrile par jeune participant durant la période de surveillance (écart des valeurs de 1 à 7 épisode par personne).

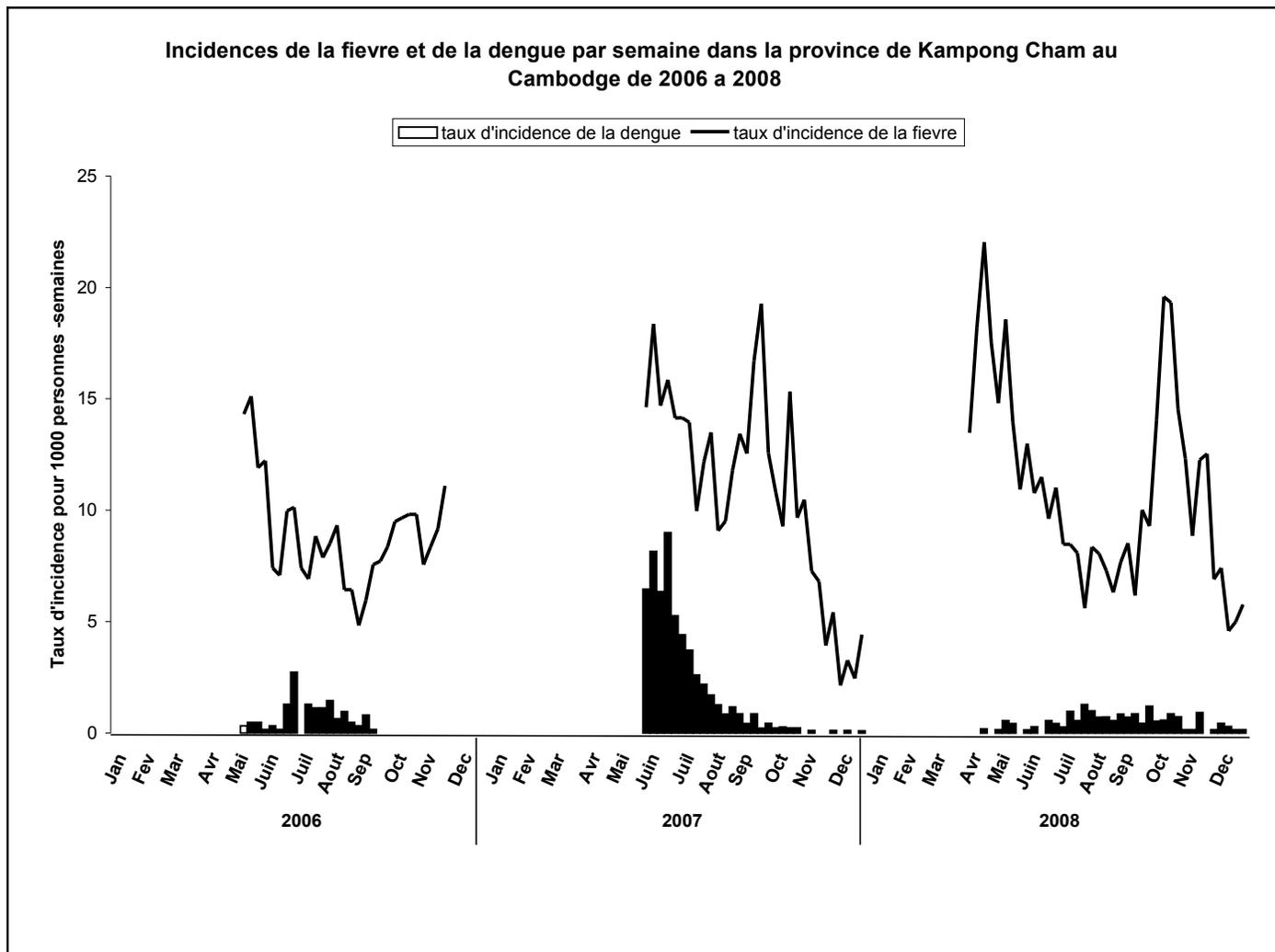


Figure 11 – Incidences de la fièvre et de la dengue par semaine de 2006 à 2008

5. Comparaison des fièvres dues à la dengue avec les fièvres d'autre étiologie

Lorsque l'on compare les cas de dengue avec les cas de fièvre d'autre étiologie pour les trois cohortes (figure 4), il ressort que la durée de la fièvre était significativement plus longue pour le groupe dengue (4,4 jours contre 3,7 jours, $p < 0.001$). Les arthralgies, le rash cutané, les douleurs rétro orbitaires et les céphalées apparaissaient significativement associées à la dengue (tableau 5). A l'inverse, la toux, quoique signalée avec la dengue (18% parmi les cas de dengue en 2007) était associée avec les fièvres non dues à la dengue ($RR = 2.5$, $p < 0.001$)

Concernant les caractères démographiques on ne note pas de différence entre les deux groupes de patients en dehors des proportions pour les différentes classes d'âge, les cas de dengue apparaissant plus nombreux dans la catégorie des 5-7 ans (tableau 4).

Tableau 4 - Comparaison des caractéristiques démographiques des patients présentant la dengue et des patients avec une fièvre non due à la dengue dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 à 2008

	TOTAL n=4976		DENGUE n=736		Non DENGUE n=4240		P
		%		%		%	
Age							
Moyenne	7.31	NA	7.22	NA	7.33	NA	0.5543
Médiane	7	NA	7	NA	7	NA	
Min - Max	0-20	NA	0-19	NA	0-20	NA	
Genre							
Masculin	2583	51.9	372	50.6	2211	52.1	0.422
Catégories d'âge							
<1 an	175	3.5	15	2.0	160	3.8	<u>0.011</u>
1-4 ans	1485	29.8	216	29.4	1269	29.9	
5-7 ans	1063	21.4	191	26.0	872	20.6	
8-10 ans	910	18.3	133	18.1	777	18.3	
11-13 ans	780	15.7	111	15.1	669	15.8	
14-16 ans	434	8.7	54	7.3	380	9.0	
17-20 ans	129	2.6	16	2.2	113	2.7	

Tableau 5 - Comparaison des signes cliniques et des parcours de soin des fièvres dues à la dengue et des fièvres non dues à la dengue dans la province de Kampong Cham au Cambodge de 2006 à 2008

	TOTAL n=6121		DENGUE n=736		Non DENGUE n=5385		P	RR	IC 95%
		%		%		%			
Durée de la fièvre en jours									
Moyenne	3.8	NA	4.41	NA	3.71	NA	<0.0001		
Médiane	4	NA	4	NA	4	NA			
Min - Max	0-20	NA	0-18	NA	0-20	NA			
Signes cliniques associés à la fièvre									
Rash cutané	117	1.9	51	6.9	66	1.2	<0.0001	5.6	3.79-8.14
Myalgies	874	14.3	99	13.5	775	14.4	0.252	0.9	0.75-1.15
Céphalées sévères	2927	47.8	384	52.2	2543	47.2	0.039	1.1	0.99-1.23
Arthralgies	226	3.7	43	5.8	183	3.4	0.001	1.7	1.20-2.39
Douleurs rétro-orbitaire	467	7.6	86	11.7	381	7.1	<0.0001	1.6	1.28-2.07
Toux*	3212	56.6	160	24.7	3052	60.7	<0.0001	0.4	0.35-0.48
Dyspnée*	316	5.6	19	2.9	297	5.9	6E-04	0.5	0.30-0.79
Fièvres ayant motivé une consultation									
	1701	27.8	388	52.7	1313	24.4	<0.001	2.1	1.91-2.40
Structures sanitaires consultées									
Pharmacie	321	5.2	34	4.6	287	5.3	0.218	0.9	0.59-1.24
Dispensaire	191	3.1	27	3.7	164	3.0	0.185	1.2	0.77-1.82
Clinique privée	997	16.3	236	32.1	761	14.1	<0.0001	2.2	1.93-2.59
Hopital public	233	3.8	106	14.4	127	2.4	<0.0001	6.1	4.67-7.96
*Données uniquement disponibles pour 2007 et 2008									
**NA=Non Applicable									

Sur les trois années de surveillance les patients infectés par la dengue ont eu recours plus souvent aux soins que les autres cas de fièvre ($p < 0.001$, $RR = 2,1$ avec 52,7% contre 23,8%). La fréquence de l'hospitalisation était 6,1 fois plus élevée pour les cas de dengue que pour les fièvres d'autre étiologie ($p < 0.001$, $RR = 6,1$ avec 14,4% contre 2,3%). En analysant séparément les trois cohortes, des différences de comportement sont relevées: les proportions d'hospitalisations et de consultations aux cabinets privés étaient significativement plus importantes en 2006 et 2007 alors que les cabinets privés ont été d'avantage consultées par les cas de dengue en 2008 (Annexes 6, 7 et 8).

6. Caractéristiques par sérotype viral

Les quatre sérotypes de la dengue ont été identifiés durant les trois années de surveillance. Les plus souvent observés ont été DENV-3 (n=234, 55,3%) et DENV-1 (n=115, 27,2%). En 2006, DENV-1 (78,1%) est le principal sérotype qui a circulé, un village avec un taux d'attaque de 108,9 /1000 pendant une durée de 11 semaines. DENV-3 (67,9%) est le sérotype qui a prévalu lors de l'épidémie de 2007. En 2008, c'est le sérotype DENV-2 (77,5%) qui lui a succédé (figure 3). Chez seulement deux patients, une co-infection par DENV-1 et DENV-3 a pu être observée (une en 2007 et une en 2008).

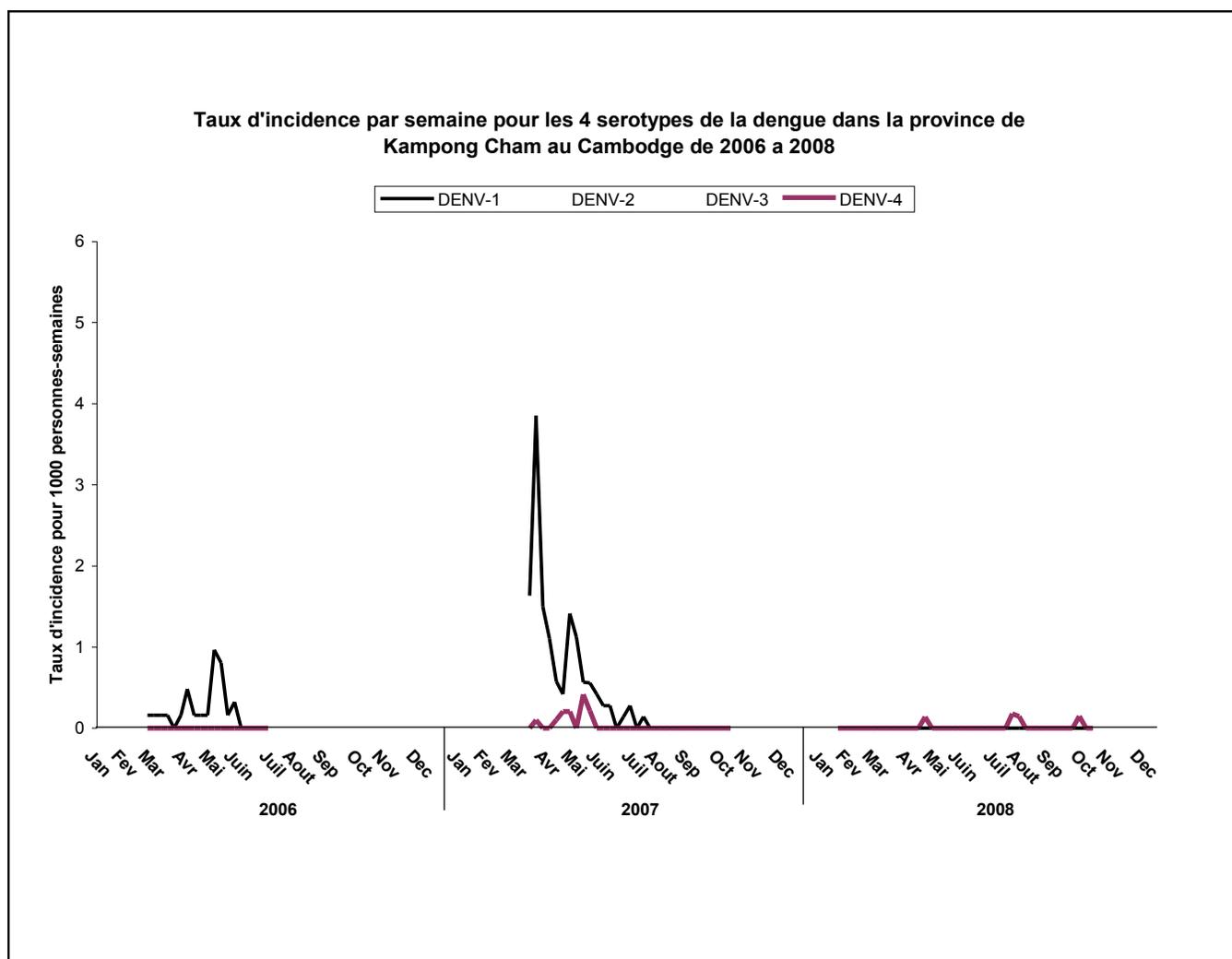


Figure 12 – Incidences par semaine pour les 4 sérotypes de la dengue de 2006 à 2008

Le sérotype DENV-4 (n=16) a été rarement détecté, cependant sur les 12 cas dépistés en 2007, 8 patients résidaient dans le même village (tableau 6). Bien que statistiquement non significative, la durée des épidémies a semblé plus courte dans les villages lorsque les sérotypes DENV-4 et DENV-2 circulaient (Kruskall Wallis p=0.4415) (annexe 1 &2).

Tableau 6 -Fréquence des facteurs de sévérité des différents sérotypes de la dengue sur les trois saisons

	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4	Total	DENV-1 vs. -2		DENV-1 vs. -3		DENV-2 vs. -3	
	n=115	n=58	n=234	n=16	n=736	OR a	p	OR a	p	OR a	p
Durée de la fièvre (%)											
Fièvre<4 jours	31.3	43.1	28.2	56.3	18.5						
Fièvre=4 jours	14.8	31.0	23.1	18.8	12.5	1.6	0.284	1.8	0.117	1.0	0.901
Fièvre>4 jours	53.9	25.9	48.7	25.0	26.5	0.4	<u>0.05</u>	1.1	0.633	2.7	<u>0.011</u>
Recours aux soins (%)											
Cas hospitalisés	11.3	0.0	14.5	12.5	6.7			3.1	<u>0.045</u>		
Cas traités autrement	53.0	41.4	42.7	0.0	25.1						
Cas non traités	35.7	58.6	42.7	43.8	25.7						
Symptômes (%)											
Rash cutané	0.9	1.7	3.0	0.0	1.2						
Myalgies	7.0	19.0	8.1	6.3	5.3						
Céphalées sévères	56.5	70.7	41.5	50.0	28.7						
Douleurs rétro-orbitaires	7.8	98.3	11.1	6.3	12.7						
Arthralgies	2.6	0.0	4.3	6.3	1.9						
Toux*	15.6	44.6	21.8	25.0	12.7						
Dyspnée*	1.1	3.6	3.5	0.9	10.4	2.0	0.598	2.7	0.413	0.9	0.911
Catégories d'âge en années											
- 0 - 4	30.4	25.9	37.2	18.8	33.1						
- 5 - 9	41.7	36.2	41.5	50.0	41.1	1.0		0.8	0.508	0.8	0.522
- 10 - 14	24.3	34.5	17.1	18.8	21.5	1.8		0.7	0.299	0.4	<u>0.014</u>
- ≥15	3.5	3.4	4.3	12.5	4.3	1.7		1.0	0.98	1.1	0.893
Age											
Moyenne	7.2	8.0	6.5	8.5	7.22						
Médiane	6	8	6	7	7						
Min-Max	0-18	1-15	0-19	2-17	0-19						
Taux d'incidence des différents sérotypes de la dengue pour les 3 saisons (pour mille personnes-saisons)											
	5.12	2.58	10.42	0.71	32.76						
Durée des épidémies dans les villages (en semaines)											
Moyenne	3.43	5.44	5.73	2.5	3						
Médiane	2	3	5.5	2	3						
Min	1	1	1	1	2						
Max	14	14	12	6	4						

* Données uniquement pour 2007 et 2008

7. Comparaison des sérotypes entre eux

Les patients infectés par les sérotypes DENV-2 ou DENV-4 ont présenté des durées de fièvre significativement plus courtes lorsqu'ils sont comparés à DENV-3 ou DENV-1 (tableau 6 et annexe 3). Environ 54% des infections par DENV-1 et 48.7% des infections par DENV-3 ont duré plus de 4 jours contre 25.9% et 25% respectivement pour DENV-2 et DENV-4.

Il est intéressant de constater qu'aucun des patients infecté par le sérotype DENV-2 n'a été admis à l'hôpital contre 11.3%, 14,5% et 12.5%, respectivement pour les sérotypes DENV-1, DENV-3 et DENV-4. Bien que les malades DENV-2 positifs n'aient pas consulté l'hôpital public, des fréquences plus importantes de tous les symptômes étaient rapportées comparativement aux autres sérotypes de la dengue : les douleurs musculaires (19.3%), les céphalées sévères (70.7%), les douleurs rétro orbitaires (98.3%) et la toux (43.1%).

Les analyses multivariées réalisées entre DENV_1 et DENV-2, DENV-1 et DENV-3, et DENV-2 et DENV-3 ont permis de mettre en évidence une liaison indépendante entre le sérotype DENV-2 et une durée de fièvre plus courte lorsqu'il était comparé avec DENV-1 ($p=0.05$) et DENV-3 ($p=0.011$). Secondairement, le taux d'hospitalisation était plus élevé pour les infections par le sérotype DENV-3 comparé à DENV-1. Enfin, les patients infectés par DENV-2 sont apparus être plus âgés que ceux infectés par DENV-3 (tableau 6).

DISCUSSION

Des évaluations des caractéristiques de l'incidence de la dengue ont été souvent réalisées dans des cohortes d'enfants scolarisés ou parmi les enfants consultant les centres de santé ou encore dans des communautés villageoises juste après la détection de cas index (Endy TP *et al.* 2002 ; Kuan G *et al.* 2009 ; Rocha C *et al.* 2009 ; Beckett CG *et al.* ; 2005). A notre connaissance, cette étude représente la première surveillance active de la dengue de grande échelle basée sur les communautés villageoises à partir de visites hebdomadaires à domicile.

Elle a confirmé la lourde charge que représente la dengue pour les enfants résidant dans la province de Kampong Cham, l'ampleur de la dengue apparaît y être plus importante qu'en Thaïlande.(Endy TP *et al.* 2002). Les incidences sur les trois années de surveillance ont été entre 13.4 et 57.6 cas de dengue confirmés sérologiquement pour 1000 jeunes de moins de 20 ans surveillés pendant 8 mois. Ces chiffres sont 5 à 16 fois plus élevés que l'incidence annuelle rapportée par le système de surveillance NDPC à partir des cas de dengue de moins de 16 ans cliniquement diagnostiqués et hospitalisés (2.8/1000) (Huy R, données non publiées).

Malgré ces résultats, il semble que nos incidences soient encore sous estimées par rapport à la réalité, du fait que la surveillance n'a pas été effective tout au long de l'année mais seulement pendant 8 mois alors que la transmission de la dengue persiste entre deux saisons épidémiques. De plus en 2006, seulement un tiers des enfants fébriles ont été inclus dans l'étude du fait de critères d'inclusion drastiques (fièvre ayant duré au moins 48h). Bien que les fièvres de courte durée aient peu de chance d'être dues à la dengue, une certaine proportion de cas dengue a cependant pu échapper à l'étude. Aussi des témoignages anecdotiques ont montré que quelques parents n'ont pas signalé des épisodes fébriles concernant leurs enfants, et ce particulièrement durant la période de repiquage du riz (août-septembre).

Encore, faut-il noter que l'année 2007 a été marquée par la survenue d'une épidémie de grande envergure, la plus importante qui ait jamais été rapportée sur le pays, avec 4 fois les taux d'incidence des 5 années précédentes (Huy R données non publiées). Comme les données de la surveillance nationale le confirment, l'épidémie de 2007 a commencé sur le site d'étude un mois plus tôt que l'année précédente et a culminé au mois de juin, juste au moment où reprenait la surveillance active de la cohorte. Un nombre substantiel de cas de dengue qui se sont produits avant le mois de juin n'a donc pas pu être pris en compte par la surveillance active. Enfin notre algorithme de diagnostic à partir des données du laboratoire, n'a considéré le premier prélèvement (à la phase aigüe de la maladie) que lorsque le second prélèvement (de la phase de convalescence) était positif pour les IgM anti-dengue. Ce qui a certainement conduit à ne pas considérer une part consistante des cas d'infection secondaires puisque l'on sait que 28% d'entre eux ont des IgM indétectables (Chanama S, 2004).

La dengue est une maladie extrêmement focale comme l'a illustré cette surveillance. Les taux d'incidence par village présentaient une grande variation et des répartitions géographiques différentes concernant la population étudiée. Alors que le sérotype DENV-3 prédominait sur le Cambodge en 2006, très peu de cas de dengue associés au sérotype DENV-3 ont été identifiés dans la population des 16 villages étudiés (Huy R, 2005). En revanche durant la même année, une épidémie de dengue causée par le sérotype DENV-1 a produit les deux tiers des cas

identifiés dans un seul village (avec taux d'attaque de 11% sur 11 semaines). De même, en 2008, un village a été affecté par le sérotype DENV-2 avec un taux d'attaque d'environ 13% durant 14 semaines produisant 18 % des cas de l'année.

Des analyses spatio-temporelles complémentaires au niveau des villages devraient permettre de distinguer si les épidémies observées sont consécutives à une introduction ou à plusieurs introductions répétées. Un grand écart des valeurs du taux d'incidence de la dengue dans les différents villages était également noté en 2007. En fait, la plupart des villages (75%) avaient un taux d'incidence inférieur à 5% tandis que les autres atteignaient des taux impressionnants qui montraient que plus de 20% des jeunes de moins de 20 ans avaient été infectés par le virus de la dengue. Sachant que le ratio du nombre de patients symptomatiques sur le nombre de patients asymptomatiques est estimé à 1 pour 10 au Cambodge (S Vong communications personnelles), le risque de contracter la dengue pour les habitants des villages sous surveillance est extrêmement élevé, avoisinant les 100% dans certains villages parmi les participants réceptifs (susceptibles en terme de risque d'infection) et ce pendant 2-3 mois reflétant une introduction massive et une transmission intense durant cette épidémie de grande ampleur.

Les zones rurales n'ont évidemment pas été épargnées, elles ont même été plus sévèrement affectées que les zones urbaines cette année là. Il faut reconnaître que ces tendances vont empirer à mesure que le pays se développe et que, l'exode rural aidant, de nombreux nouveaux citadins de Phnom Penh retourneront fréquemment visiter leurs familles dans les villages.

Tout ceci souligne la nécessité de renforcer les programmes de lutte anti-vectorielle et l'éducation dans les régions rurales du Cambodge. Il faut cependant mentionner que les villageois de notre site d'étude ne sont pas éloignés du principal axe routier de la province ce qui favorise d'importants échanges dans la population. Ces tendances à observer de plus en plus de cas dans les zones rurales à déjà été signalé depuis de nombreuses années en Thaïlande (Chareosook 1999) et en Inde (Kumar 2001). Ces incidences élevées dans les villages qui concernent surtout les enfants de moins de 7 ans, plaideraient en faveur d'un risque majoré dans les villages et autour des habitations (Mammen *et al.*, 2008). En effet, au Cambodge les enfants de cet âge sortent rarement du village et ne vont pas encore à l'école.

Plusieurs éléments de cette étude suggèrent que les parents reconnaissent les symptômes associés à la dengue et sont demandeurs de soins adaptés. Les jeunes infectés par la dengue sont plus enclins à se présenter à l'hôpital provincial de Kampong Cham ou à consulter tout simplement. La dengue est bien connue du grand public cambodgien qui la dénomme « fièvre sanglante ». Est-ce que les parents sont capables de reconnaître les symptômes de la dengue ou ses signes de gravité ? Cela reste incertain. Il semble que ce soit la sévérité des symptômes qui incite les mères à adopter tel ou tel comportement, plutôt qu'un simple effet de panique durant la saison épidémique de la dengue. Nous observons que les parcours de soin des patients avec la dengue ne diffèrent pas en dehors de la saison épidémique (Annexe). Il est difficile d'évaluer quelles mères reconnaissent la maladie à partir de symptômes pertinents (comme le saignement gingival qui n'a malheureusement pas été recueilli dans notre étude).

Une découverte intéressante de notre analyse concerne les différences des caractéristiques en fonction des sérotypes viraux. Avec des taux d'hospitalisation plus faibles, une moyenne d'âge plus élevée des jeunes infectés par la dengue, et une durée de la fièvre moins longue, les sérotypes DENV-2 et DENV-4 qui représentaient respectivement 77,5% et 5,6% des sérotypes circulants en 2008, sont apparus avoir une expression clinique atténuée par rapport à DENV-1 et

DENV-3. Le sérotype DENV-4 est déjà connu pour donner une maladie paucisymptomatique alors que pour l'infection par DENV-2 cela est plus surprenant (Vaughn DW, 2000). Cependant il est très difficile de conclure dans le cas d'une maladie aussi complexe que la dengue, dont l'expression clinique peut dépendre de nombreux facteurs comme la souche virale du sérotype en circulation, le caractère primaire ou secondaire de l'infection, et la séquence sérotypique en cas d'infection multiple (immunité croisée, neutralisation immunitaire ou anticorps facilitants ?) (Gibbons RV *et al*,.. 2007).

Concernant les formes cliniques modérées des infections associées au sérotype DENV-2 en 2008, avant de conclure à une baisse de la virulence de la souche virale, il faut d'abord considérer que l'année précédente une épidémie majeure s'est produite. Un phénomène identique, avec des formes atténuées de dengue, a été décrit au décours de l'épidémie importante de 1998 aux Philippines et en Thaïlande (Carlos CC, 2005 ; Nisalak A, 1999). Aussi les analyses ont été limitées par le fait que tous les sérotypes de la dengue n'ont pas circulés durant les trois années, seulement 5% des virus identifiés sérotype DENV-2 ont circulés en dehors de l'année 2008 et aucun DENV-1 n'a été détecté en 2008. Il serait intéressant de voir si cette tendance persiste en 2009.

CONCLUSION

La dengue s'avère être une infection complexe dépendante de nombreux facteurs incluant l'environnement, le comportement des humains et des vecteurs, la virulence propre de la souche virale, et le système immunitaire de l'hôte humain (immunité de base et immunité croisée). Ce travail a permis une évaluation de l'incidence des fièvres dues à la dengue au niveau de communautés villageoises qui apparaissait 5 à 16 fois plus importante que les données de la surveillance nationale.

Les villages situés en zone rurale ont présenté une incidence de la dengue 4,2 fois supérieure à l'incidence des villages en zone urbaine pour l'année 2007 alors qu'en 2008 on observait une tendance inverse avec une incidence significativement plus élevée dans les villages en zone urbaine. Les grandes variations de taux d'attaque de la dengue en fonction des villages confirmaient le caractère extrêmement focal des épidémies. Aussi les enfants de moins de 7 ans présentaient les incidences les plus élevées parmi la population surveillée et ce pendant les trois années.

Toutefois l'interprétation des résultats n'apporte pas d'élément qui permettrait une meilleure compréhension des conditions qui sont à l'origine de la transmission épidémique de la dengue dans une communauté. Des études approfondies sont nécessaires pour analyser la distribution spatio-temporelle de l'infection et son évolution, ainsi que le statut immunitaire de la population et son comportement au niveau des villages. Des investigations complémentaires sont également requises pour estimer dans quelle mesure ces résultats peuvent être généralisés à l'ensemble du Cambodge.

Nous soulignons encore l'importance de poursuivre une surveillance active de l'incidence de la dengue dans la population sur le long terme pour mieux comprendre la dynamique de la transmission et la circulation des différents sérotypes, avec l'idée que ces villages seront peut-être utilisés un jour comme site pour un essai vaccinal.

BIBLIOGRAPHIE

Références :

- Alvarez M, Rodriguez-Roche R, Bernardo L, Vázquez S, Morier L, Gonzalez D, Castro O, Kouri G, Halstead SB, Guzman MG. Dengue hemorrhagic Fever caused by sequential dengue 1-3 virus infections over a long time interval: Havana epidemic, 2001-2002. *Am J Trop Med Hyg.* 2006 Dec;75(6):1113-7.
- Anderson KB, Chunsuttiwat S, Nisalak A, Mammen MP, Libraty DH, Rothman AL, Green S, Vaughn DW, Ennis FA, Endy TP: Burden of symptomatic dengue infection in children at primary school in Thailand: a prospective study. *Lancet* 2007, 369:1452-1459.
- Balmaseda A, Hammond SN, Perez L, Tellez Y, Saborio SI, Mercado C, et al. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;74: 449–56
- Beckett CG, Kosasih H, Faisal I, Nurhayati, Tan R, Widjaja S, Listiyaningsih E, Ma'roef C, Wuryadi S, Bangs MJ, Samsi TK, Yuwono D, Hayes CG, Porter KR. Early detection of dengue infections using cluster sampling around index cases. *Am J Trop Med Hyg.* 2005 Jun;72(6):777-82
- Carlos CC, Oishi K, Cinco MT, Mapua CA, Inoue S, Cruz DJ, Pancho MA, Tanig CZ, Matias RR, Morita K, Natividad FF, Igarashi A, Nagatake T. Comparison of clinical features and hematologic abnormalities between dengue fever and dengue hemorrhagic fever among children in the Philippines. *Am J Trop Med Hyg.* 2005 Aug;73(2):435-40.
- Chanama S, Anantapreecha S, A-nuegoonpipat A, Sa-gnasang A, Kurane I, Sawanpanyalert P. Analysis of specific IgM responses in secondary dengue virus infections: levels and positive rates in comparison with primary infections. *J Clin Virol.* 2004 Nov;31(3):185-9.
- Chang GJ. Molecular biology of dengue viruses. In Gubler DJ, Kuno G, eds. *Dengue and dengue hemorrhagic fever.* Wallingford, Oxon, UK, 1997. Chap 9, p175-191
- Chareonsook O, Foy HM, Teeraratkul A, Silarug N. Changing epidemiology of dengue hemorrhagic fever in Thailand. *Epidemiol Infect.* 1999 Feb;122(1):161-6.
- Clark DV et al. Economic impact of dengue fever/dengue hemorrhagic fever in Thailand at the family and population levels. *American Journal of tropical Medicine and Hygiene.*
- Dietz VJ, Nieburg P, Gubler DJ, and Gomez I. 1992. Diagnosis of measles by clinical

case definition in dengue-endemic areas: implications for measles surveillance and control. *Bulletin de l'OMS*. N 70, p745-750.

- Endy TP, Nisalak A, Chunsuttiwat S, Libraty DH, Green S, Rothman AL, Vaughn DW, Ennis FA. Spatial and temporal circulation of dengue virus serotypes: a prospective study of primary school children in Kamphaeng Phet, Thailand. *Am J Epidemiol*. 2002 Jul 1;156(1):52-9.
- Fischer DB, Halstead SB. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever.V. Examination of age specific sequential infection rates using a mathematical model.*Yale J Biol Med*. 1970; 42:329–49.
- George R & Lum LCS . Clinical spectrum of dengue infection. In Gubler DJ, Kuno G, eds. *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. Wallingford, Oxon, UK, 1997. Chap 5, p 89–113.
- Gibbons RV, Kalanarooj S, Jarman RG, Nisalak A, Vaughn DW, Endy TP, Mammen MP Jr, Srikiatkachorn A. Analysis of repeat hospital admissions for dengue to estimate the frequency of third or fourth dengue infections resulting in admissions and dengue hemorrhagic fever, and serotype sequences. *Am J Trop Med Hyg*. 2007 Nov; 77(5):910-3.
- Gubler D J *Dengue/dengue haemorrhagic fever: history and current status*. Novartis Found Symp. 2006;277:3-16; discussion 16-22, 71-3, 251-3.
- Gubler DJ et Casta-Velez A . 1991. A program for prevention and control of epidemic dengue and dengue hemorrhagic fevre in Puerto Rico and the US Virgin Islands. *Bulletin of Pan American Health Organization*. Chap 25, p 237-247.
- Gubler DJ, 2002 *Epidemic dengue/dengue haemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century*. *Trends Microbiol* 10 : 100-103
- Guzmán MG, Kouri G, Bravo J, Soler M, Martínez E. Sequential infection as risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) during the 1981 dengue hemorrhagic Cuban epidemic. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1991 Jul-Sep; 86(3):367
- Guzmán MG, Kourí G, Valdés L, Bravo J, Vázquez S, Halstead SB. Enhanced severity of secondary dengue-2 infections: death rates in 1981 and 1997 Cuban outbreaks. *Rev Panam Salud Publica*. 2002 Apr;11(4):223-7
- Halstead SB . Is there an inapparent dengue explosion ? *Lancet* 1999 ; 253 : 1100-1.)
- Halstead SB . *Dengue: Overview and History*. In Halstead Scott B 2008 *Dengue Tropical (Editeur) Medicine Science and Practice Imperial College Press*. Chap 1, p1-28.

- Halstead SB, Lan NT, Myint TT, Shwe TN, Nisalak A, Kalyanarooj S, Nimmannitya S, Soegijanto S, Vaughn DW, Endy TP. Dengue hemorrhagic fever in infants: research opportunities ignored. *Emerg Infect Dis.* 2002 Dec;8(12):1474-9.
- Halstead SB, Scanlon J, Umpaivit P, Udomsakdi S. Dengue and chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962–1964 : IV.Epidemiologic studies in the Bangkok metropolitan area. *Am J Trop Med Hyg.* 1969;18(6): 997–1021.
- Halstead SB. Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ? *Rev Panam Salud Publica.* 2006 Dec;20(6):407-15.
- Huy R, Buchy P, Conan A, *et al.* A soumettre en 2009. Dengue Surveillance-Cambodia 1980-2008.
- INVS Dossier thématique : La dengue (<http://www.invs.sante.fr/surveillance/dengue>), 2009.
- Jeremy Farrar. Clinical features of Dengue.In Halstead Scott B 2008 *DengueTropical* (Editeur) Medicine Science and Practice Imperial College Press. Chap 5, p171-186.
- Kuan G, Gordon A, Avilés W, Ortega O, Hammond SN, Elizondo D, Nuñez A, Coloma J, Balmaseda A, Harris E. The Nicaraguan Pediatric Dengue Cohort Study: Study Design, Methods, Use of Information Technology, and Extension to Other Infectious Diseases. *Am J Epidemiol.* 2009 May 12.
- Kumar A et al. An outbreak of dengue fever in rural areas of northern India. *The journal of communicable diseases,* 2001, 33:274-281.
- Lopez-Correa et al. 1979. The 1977 dengue epidemic in Puerto Rico : epidemiological and clinical observations. Pan American Health Organization Scientific Publications. N 375, p 60-67.
- Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nat Med.* 2004 Dec;10 (12 Suppl):S98-109
- Mammen MP, Pingate C, Koenraadt CJ, Rothman AL, Aldstadt J, Nisalak A, Jarman RG, Jones JW, Srikiatkachorn A, Ypil-Butac CA, Getis A, Thammapalo S, Morrison AC, Libraty DH, Green S, Scott TW. Spatial and temporal clustering of dengue virus transmission in Thai villages. *PLoS Med.* 2008 Nov 4;5(11):e205.
- Monath TP ,1994. Dengue : the risk to developed and developing countries. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 :2395-2400
- National Institute of Statistics, Ministry of Planning Phnom Penh. 1998. Cambodia.General Population Census of Cambodia

- Nisalak A, Endy TP, Nimmannitya S, Kalayanarooj S, Thisyakorn U, Scott RM, Burke DS, Hoke CH, Innis BL, Vaughn DW. Serotype-specific dengue virus circulation and dengue disease in Bangkok, Thailand from 1973 to 1999. *Am J Trop Med Hyg.* 2003 Feb;68(2):191-202.
- Ooi EE, Goh KT, Gubler DJ. Dengue prevention and 35 years of vector control in Singapore. *Emerg Infect Dis.* 2006 Jun;12(6):887-93.
- Ooi EE, Gubler DJ. Dengue in Southeast Asia: epidemiological characteristics and strategic challenges in disease prevention. *Cad Saude Publica.* 2009;25 Suppl 1:S115-24.
- Pinheiro FP, Corber SJ. Global situation of dengue and dengue haemorrhagic fever in the Americas. *World Health Stat Q* 1997 ;50 :161-8.
- Rico-Hesse R, Harrison LM, Salas RA, Tovar D, Nisalak A, Ramos C, et al. Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. *Virology.* 1997;230:244–51.
- Rigau-Perez JG. Severe dengue : The need for new case definitions. *The Lancet Infectious Diseases*, 2006, 6 :297-302.
- Rocha C, Morrison AC, Forshey BM, Blair PJ, Olson JG, Stancil JD, Sihuincha M, Scott TW, Kochel TJ. Comparison of two active surveillance programs for the detection of clinical dengue cases in Iquitos, Peru. *Am J Trop Med Hyg.* 2009 Apr; 80(4):656-60.
- Saluzzo JF, Vidal P, Gonzalez JP. 2001. Les virus émergents, éditions IRD. Chap 7 p 129- 139.
- Schlesinger RW, Gordon I, Frankel JW, Winter JW, Patterson PR, Dorrance WR. Clinical and serologic response of man to immunization with attenuated dengue and yellow fever viruses. *J Immunol.* 1956; 77(5):352–64. 63.
- Seet RCS, Ooi E, Wong HB, Paton NI. An outbreak of primary dengue infection among migrant Chinese workers in Singapore characterized by prominent gastrointestinal symptoms and a high proportion of symptomatic cases. *J Clin Virol.* 2005;33:336–40.
- Sharma SN, Raina VK, Kumar A. Dengue/DHF an emerging disease in India. *The journal of communicable diseases*, 2001, 32 :175-179.
- Shepard DS et al. Cost-effectiveness of a pediatric dengue vaccine. *Vaccine*, 2004, 22 :1275-1280).
- Suchitra Nimannitya Dengue hemorrhagic fever diagnosis and management In Gubler DJ, Kuno G, eds. *Dengue and dengue hemorrhagic fever.* Wallingford, Oxon, UK, 1997. Chap 7, p133-145

- Tourdjman M , Huy R & Vong S. 2005. Evaluation of the dengue surveillance system in Cambodia National Dengue Control Program Cambodia Ministry of Health Institut Pasteur du Cambodge Phnom Penh 2005 report.
- Vasilakis N, Weaver SC. The history and evolution of human dengue emergence. *Adv Virus Res.* 2008;72:1-76.
- Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Endy TP, Raengsakulrach B, Rothman AL, Ennis FA, Nisalak A. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis.* 2000 Jan;181(1):2-9.
- WHO Prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever : comprehensive guidelines. WHO regional publication, SEARO ;No 29,1999.
- WHO scientific work group October 2006. Geneva.

Remerciements

Je tiens à remercier les personnes qui m'ont permis de réaliser ce travail :

- Dr Sirenda VONG, Responsable du Département d'Epidémiologie et de Santé Publique de l'Institut Pasteur du Cambodge, pour m'avoir encadré durant mon stage et pour l'ensemble des connaissances que j'ai pu acquérir grâce à lui.
- Dr Jean-Louis SARTHOU, Directeur de l'Institut Pasteur du Cambodge, pour m'avoir accueilli dans son institut.
- Drs LY Sowath et KHIEU Virak pour leur travail sur le terrain et la qualité des données collectées
- Dr Flavie GOUTARD (CIRAD) pour sa disponibilité, ses conseils et son soutien.
- L'ensemble du personnel de l'Institut Pasteur du Cambodge et particulièrement le Département d'Epidémiologie et de Santé publique pour leur accueil chaleureux.

Annexe 1 : Circulation des différents sérotypes viraux dans les 41 villages des cohortes de 2006, 2007 et 2008

Village	Taux d'incidence de la dengue pour 1000 personnes-saisons			Sérotypes de la dengue identifiés ou non (nombre de cas)			Période épidémique par serotype mois (nombre de semaines)		
	2006	2007	2008	2006	2007	2008	2006	2007	2008
SS	0	84.9	0		D3 (47) D(10)	D(13)		j-j-a D3 (19)	
KR	24.81	20.06	4.9	D1 (4) D3 (1) D (5)	D3 (4) D (5)	D2(1) D(6)	j-j D1 (6)	j-j D3 (9)	juillet D2 (2)
KD	108.86	51.17	4.28	D2 (18) D3 (1) D (40)	D1 (6) D3 (8) D (13) D3 (22)	D(2)	j-j-a D1 (11) aout D3 (1)	juin D1 (3) juillet D3(6) j-j-a D3 (12) juillet	
CH	13.89	141.9	127.36	D3 (1) D (2)	D2 (1) D(11)	D2 (21) D (10)	juin D3 (1)	(1) juillet D2 (1) j-j-a-s D3 (11)juin D1 (1) juillet	j-j-a-s D2 (14)
AL	5.4	17.49	30.87	D1 (1) D (2)	D1 (1) D3 (26) D4 (1) D (13)	D2 (9) D4 (1) D (3)		(1) juillet D4 (1) aout D1 (1) juillet	juillet D4(1) o-n-d D2 (7)
TT	6.39	21.42		D3 (2)	D1 (1) D3 (3) D(3)		sept D3 (2)	(1) juillet D3 (4) juillet D1 (4) juin D3 (3)	
TG	2.99	135.01		D (1)	D1 (3) D3 (23) D(17) D3 (5) D (5)			j-j-a D3 (10) juillet D1 (4) juillet D3 (1)	
TP	0	16.99			D1 (5) D3 (1) D (4)				
PB	3.55	42.78		D (1)					
AA	0		2.21			D (1)			
AK		53.32	3.28		D1 (1) D1 (37) D3 (1) D (12)	D (1)		Aout D1 (1) j-j-a D1 (10) aout D3 (1)	
PP		211.57	0			D2 (10) D(3)			
RM		191.82	64.17		D3 (39)			j-j-a D3 (8)	j-j-a D2 (6)
KK		199.1	10.39		D1 (13)	D (2)		juin D1 (4) juin D1 (2) aout D3 (1)	
AS		133.71	0		D1 (7) D3 (1) D1 (4) D3 (7) D (26) D1 (2) D3 (1) D (6) D1 (1) D (1)	D (7)		juin D1 (2) juin D3 (4) sept D3 (1) Juillet D1 (1)	
KP		116.86	23.63						
OD		32.76	0			D4 (3) D (4)			
TH		12.85	34.06						septembre D4 (3)

Village	Taux d'incidence de la dengue pour 1000 personnes-saisons			Sérotypes de la dengue identifiés ou non (nombre de cas)			Période épidémique par serotype mois (nombre de semaines)		
	2006	2007	2008	2006	2007	2008	2006	2007	2008
AC	8.6			D (3) D2 (2) D (1)			août D2 (2)		
PR	7.94								
RO	17.24			D (2)					
SK	1.5			D (1)					
PQ	2.72			D (1)					
KH		23.15			D3 (3) D (1)	D3 (4)		juillet D3 (1)	juillet D3 (1)
PH		16.42			D3 (3) D (2)			juin D3 (2)	
PC		8.28			D3 (2) D (1)			juillet D3 (1)	
BB		20.45			D4 (1) D (13)			juin D4 (1) j-a-s D3 (7)	
SL		36.52			D3 (1) D4 (8) D (1)			j-j D4 (6) août D3 (1)	
VS		94.7			D1 (4) D3(5) D (12)			j-j D3 (5) août D1 (2)	
RK		17.28			D1 (1) D2 (1) D3 (5) D4 (2) D (4)			août D1 (1) D2 (1) j-j-a D3 (9) juillet D4 (2)	
CK		5.64			D (1)				
PT			11.16						
KO			38.56			D3 (10) D (2)			j-j-a D3 (8)
BH			10.88						
PN			13						
CM			53.88			D2 (9) D (22) D2 (3) D (1)			m-j-j D2 (12)
CP			17.58			D2 (2) D3 (1)			n-d D2 (3)
TA			23.32			D2 (2) D3 (1)			juillet D3 (1) octobre D2 (2)
TV			8.25						
BT			5.17						

Annexe 2 : Durée des épidémies par village et par sérotype viral

Durée des épidémies de dengue en fonction des sérotypes (en semaines)				
Village	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4
SS			19	
KR		2	9	
KD	11		7	
CH	1	14	12	
AL	1	7	11	2
TT	1		6	
TG	4		1	
TP			10	
PB	4		1	
AK	1			
PP	10		1	
RM		6	8	
KK	4			
AS	2			
KP	2		4	
OD			1	
TH	1			3
PR		2		
KH			2	
PH			2	
PC			1	
BB			7	1
SL			1	6
VS	2		5	
RK	1	1	9	2
KO			8	
CM		12		
CP		3		
TA		2	1	
Moyenne	3.21	5.44	5.73	2.8
Mediane	2	3	5.5	2
Min	1	1	1	1
Max	11	14	12	6
Total	45	49	126	14

Annexe 3 : Comparaison des cas de dengue sérotype par sérotype pour les manifestations cliniques

Tableau : Comparaison des caractéristiques cliniques des sérotypes DENV-1/DENV-2

	TOTAL		DENV-1		DENV-2		p	RR	IC 95%
	n=173	%	n=115	%	n=58	%			
Durée de la fièvre en jours									
Moyenne			4.54		3.56		<u>0.0007</u>		
Médiane			5		4				
Min - Max			1-10		0-10				
Signes cliniques associés à la fièvre									
Rash cutané	2	1.2	1	0.9	1	0.2	0.3353		
Myalgies	19	11.0	8	7.0	11	1.9	<u>0.0165</u>	2.73	1.00-7.81
Céphalées sévères	106	61.3	65	56.5	41	7.1	0.1323		
Arthralgies	3	1.7	3	2.6	0	0.0	0.1469		
Douleurs rétro-orbitaire	22	12.7	9	7.8	13	2.2	<u>0.0080</u>	2.86	1.13-7.59
Toux*	39	22.5	14	12.2	25	4.3	<u>0.0007</u>	2.87	1.44-5.97
Dyspnée*	3	1.7	1	0.9	2	0.3	0.3836		

* Données uniquement pour 2007 et 2008

Tableau : Comparaison des caractéristiques cliniques des sérotypes DENV-2/DENV-3

	TOTAL		DENV-2		DENV-3		p	RR	IC 95%
	n=292	%	n=58	%	n=234	%			
Durée de la fièvre en jours									
Moyenne			3.56		4.56		<u>0.0001</u>		
Médiane			4		4				
Min - Max			0-10		1-10				
Signes cliniques associés à la fièvre									
Rash cutané	8	2.7	1	1.7	7	3.0	0.3371		
Myalgies	30	10.4	11	19.3	19	8.2	<u>0.0127</u>	0.41	0.18-0.95
Céphalées sévères	138	47.8	41	71.9	97	41.8	<u>0.0025</u>	0.58	0.40-0.86
Arthralgies	10	3.5	0	0.0	10	4.3	0.0546		
Douleurs rétro-orbitaires	39	13.5	13	22.8	26	11.2	<u>0.0241</u>	0.49	0.25-1.05
Toux*	75	26.0	25	43.9	50	21.6	<u>0.0022</u>	0.48	0.29-0.81
Dyspnée*	10	3.5	2	3.5	8	3.4	0.2932		

* Données uniquement pour 2007 et 2008

Tableau : Comparaison des caractéristiques cliniques des sérotypes DENV-1/DENV-3

	TOTAL		DENV-1		DENV-3		p	RR	IC 95%
	n=349	%	n=115	%	n=234	%			
Duree de la fièvre en jours									
Moyenne			4.54		4.56		<u>0.960</u>		
Médiane			5		4		0		
Min - Max			1-10		1-10				
Signes cliniques associés à la fièvre									
Rash cutané	8	2.3	1	0.9	7	3.0	0.120		
Myalgies	27	7.7	8	7.0	19	8.1	1		
Céphalées sévères	162	46.3	65	56.5	97	41.3	<u>0.024</u>	0.7	0.52-1.01
Arthralgies	13	3.7	3	2.6	10	4.3	1		
Douleurs rétro-orbitaires	35	10.0	9	7.8	26	11.1	1		
Toux*	64	18.3	14	12.2	50	21.4	1		
Dyspnée*	9	2.6	1	0.9	8	3.4	1		

* Données uniquement pour 2007 et 2008

Annexe 4: Incidence de la dengue par village

Village	2006	2007	2008
Incidence de la dengue par village pour 1000 personnes-saisons			
AA	0.0		2.2
AC	8.1		
AK		17.5	3.3
AL	5.2	53.3	30.9
AS		133.7	0.0
BB		20.4	
BH			16.3
BT			5.2
CH	13.5	141.9	123.3
CK		5.6	
CM			49.7
CP			17.6
KD	106.5	51.2	4.3
KH		23.2	
KK		199.1	10.4
KO			35.3
KP		116.8	16.9
KR	24.5	20.1	4.9
OD		32.8	0.0
PB	3.6	42.8	
PC		8.3	
PH		16.4	
PN			13.0
PP		211.5	0.0
PQ	2.7		
PR	6.8		
PT			11.2
RK		17.3	
RM		191.7	64.2
RO	13.9		
SK	1.5		
SL		36.5	
SS	0.0	84.9	0.0
TA			23.3
TG	2.5	135.0	
TH		12.8	34.1
TP	0.0	17.0	
TT	6.1	21.4	
TV			8.3
VS		94.7	
Moyenne des taux d'incidence	16.2	68.2	25.0
Mediane des taux d'incidence	6.5	36.5	16.3
Max	106.5	211.5	123.3
Min	1.5	5.6	2.2

Annexe 5 : incidence de la fièvre par village

Village	2006	2007	2008
Incidence de la fièvre par village pour 1000 personnes-saisons			
AA	264.96		475.13
AC	75.27		
AK		277.35	275.78
AL	274.48	257.44	322.99
AS		436.23	415.81
BB		194.21	
BH			674.62
BT			1018.06
CH	327.35	797.15	747.75
CK		315.87	
CM			302.58
CP			92.29
KD	296.03	451.03	374.48
KH		300.97	
KK		656.04	431.20
KO			703.77
KP		1002.18	773.15
KR	262.25	363.15	350.35
OD		564.25	414.75
PB	135.71	239.57	
PC		151.79	
PH		151.07	
PN			39.00
PP		465.38	301.23
PQ	209.68		
PR	281.18		
PT			100.42
RK		152.85	
RM		434.05	222.12
RO	368.06		
SK	109.77		
SL		259.27	
SS	31.55	248.72	147.89
TA			598.54
TG	176.32	458.35	
TH		346.87	432.99
TP	130.30	137.51	
TT	162.08	315.11	
TV			635.44
VS		559.12	
Moyenne des taux d'incidence	207.00	381.42	428.28
Mediane des taux d'incidence	209.68	315.87	414.75
Max	368.06	1002.18	1018.06
Min	31.55	137.51	39.00

Annexe 6 : Comparaison des fièvres dues a la dengue avec les autres fièvres en 2006

	TOTAL n=426		Dengue n=89		Non Dengue n=337		p	RR	IC 95%
	%	%	%	%					
Age									
Moyenne	6.22		6.64		6.11		0.377		
Mediane	6		6		6				
Min - Max	0-15		0.5-15		0-15				
Catégories d'âge									
0-4 ans	174	40.8	31	34.83	143	42.3	0.429		
5-9 ans	149	35.0	34	38.20	115	34.0			
10 – 15 ans	103	24.2	24	26.97	79	23.4			
Duree de la fièvre en jours									
			87		336				
Moyenne	5.34		5.75		5.19	NA	<u>0.052</u>		
Médiane	5		5		5	NA			
Min - Max	18-Jan		2-17		2-18	NA			
Genre									
Masculin	227	53.3	47	52.8	180	53.4	0.919		
Parents ne sachant pas lire									
Oui, sait lire	198	50.4	27	30.3	170	60.3	<u>0.038</u>		
Niveau d' éducation de la mère									
Primaire	115	29.9	27	30.3	88	27.7	<u>0.048</u>		
Secondaire	236	61.5	39	43.8	197	61.9			
Lycée	25	6.5	1	1.1	24	7.5			
Université	8	2.1	0	0.0	8	2.5			
Utilisation de moustiquaire									
Oui	366	94.1	62	69.7	304	94.1	0.955		
Utilisation de larvicide									
			67	75.3	322				
Oui	92		10	11.2	82	25.5	<u>0.0057</u>	0.45	0.21-0.89
Structures sanitaires consultees (*)									
Guerisseur traditionnel	0	0.0	0		0	0.0	-		
Pharmacie	11	2.5	1	1.1	10	3.0	0.2889		
Ne consulte pas	137	30.7	5	5.6	132	39.2	0.1477		
Clinique privée	206	46.2	43	48.3	163	48.4	0.3644		
Dispensaire	33	7.4	2	2.2	31	9.2	0.7589		
Hopital public	59	13.2	37	41.6	22	6.5	<u><0.0001</u>	3.2	2.25-4.54
Signes cliniques associes a la fièvre(*)									
Rash	61	14.3	36	40.4	25	7.3	<u><0.0001</u>	5.74	3.35-9.98
Céphalees sévères	235	53.9	65	73.0	170	48.7	<u><0.0001</u>	1.54	1.14-2.06
Myalgies	84	19.3	27	30.3	57	16.3	<u>0.002</u>	1.92	1.16-3.09
Arthralgies	32	7.3	10	11.2	22	6.3	0.0551	1.89	0.80-4.20
Douleurs retro-orbitaires	93	21.4	16	18.0	77	22.2	0.259	0.83	0.45-1.44

* fièvres prises en compte

Annexe 7 : Comparaison des fièvres dues a la dengue avec les fièvres d'autre étiologie en 2007

2007	TOTAL n=2474	%	DENGUE n=530	%	Non DENGUE n=1944	%	p	RR	IC 95%
Age									
Moyenne	7.57		7.09	NA	7.71	NA	<u>0.0035</u>		
Médiane	7		6	NA	7	NA			
Min - Max	0-20		0-19	NA	0-20	NA			
Catégories d'âge									
<1 an	212	8.6	35	6.6	178	9.1	<u>0.0010</u>		
1-4 ans	558	22.5	140	26.4	421	21.5			
5-7ans	553	22.4	144	27.2	413	21.1			
8-10 ans	416	16.8	83	15.7	335	17.1			
11-13 ans	413	16.7	78	14.7	338	17.3			
14-16 ans	248	10	36	6.8	213	10.9			
17-20 ans	74	3	14	2.6	60	3.1			
Genre									
Masculin	1293	52.0	250	47.2	526	26.9	0.5910		
Zone du village									
Urbain	342	13.7	39	6.6	192	9.8	<u><0.0001</u>	0.5	0.35-0.69
Rural	2146	86.3	491	87.2	824	42.1			
Analphabétisme de la mère									
Oui, peut lire	1831	73.6	389	73.4	1442	73.6	0.9080		
Niveau d'éducation de la mère									
Non scolarisée	651	26.2	138	26	513	26.2	1.0000		
Niveau primaire	1536	61.7	326	61.5	1,210	61.8			
Niveau secondaire et au dela	297	11.9	63	11.9	234	12			
Patient va a l'école									
Oui	1405	56.5	274	51.7	1131	57.8	<u>0.0125</u>	0.78	0.65-0.95
Utilisation de moustiquaire									
Oui	2442	98.2	519	97.9	1923	98.2	0.6620		
Utilisation de moustiquaire impregnee									
Oui	2486	99.9	6	1.1	16	0.8	0.9040		
Utilisation de moustiquaire le jour									
Oui	290	11.7	81	15.3	132	6.7	0.0850		
Utilisation de moustiquaire la nuit									
Oui	2460	99	520	98.1	1007	51.5	<u>0.0320</u>	0.98	0.94-1.03
Utilisation de larvicide									
Oui	1193	48	172	32.5	1021	52.1	<u><0.0001</u>	0.62	0.52-0.73

2007	TOTAL		DENGUE		Non DENGUE		p	RR	IC 95%
	n=2953	%	n=530	%	n=2423	%			
Durée de la fièvre en jours									
Moyenne	3.89	NA	4.3	NA	3.77	NA	<0.0001		
Médiane	4	NA	4	NA	4	NA			
Min - Max	0-20	NA	0-11	NA	0-20	NA			
Signes cliniques associés à la fièvre									
Rash cutané	23	0.9	12	2.3	11	0.6	<0.0001	4.99	2.01-12.47
Myalgies	438	17.6	42	7.9	396	20.2	<0.0001	0.48	0.34-0.67
Céphalées sévères	1454	58.4	238	44.9	1216	62.1	0.0571	0.89	0.78-1.03
Arthralgies	115	4.6	31	5.9	84	4.3	0.0084	1.69	1.12-2.09
Douleurs rétro-orbitaire	203	8.2	45	8.5	158	8.1	0.0623	1.3	0.91-1.82
Toux	1336	53.7	96	18.1	1240	63.3	<0.0001	0.35	0.28-0.44
Dyspnée	161	6.5	17	3.2	144	7.4	0.003	0.54	0.31-0.89
Fièvres ayant motivé une consultation									
Oui	959	38.6	263	49.6	696	35.6	<0.0001	2.12	1.92-2.48
Nombre de traitements prescrits							0.0142		
1	888	35.7	253	47.7	635	32.4			
2	51	2.1	5	0.9	46	2.4			
3 et plus	20	0.8	5	0.9	15	0.8			
Structures sanitaires consultées en première intention									
Guerisseur traditionnel	2	0.1	0	0.0	2	0.1	0.7700	NA	
Pharmacie	242	9.7	28	5.3	214	10.9	0.0059	0.62	0.43-0.89
Dispensaire	107	4.3	19	3.6	88	4.5	0.9580		
Cabinet privé	505	20.3	160	30.2	345	17.6	<0.0001	2.09	1.78-2.45
Plus de 24 h au cabinet	116	4.7	55	10.4	61	3.1	<0.0001		
A été perfusé	292	11.7	139	26.2	153	7.8	<0.0001		
A reçu des antibiotiques	234	9.4	58	10.9	176	9.0	0.0040		
Hopital public	102	4.1	56	10.6	46	2.4	<0.0001	3.3	2.72-4.00
Structures sanitaires consultées en deuxième intention									
Guerisseur traditionnel	3	0.1	0	0.0	3	0.2	0.4180		
Pharmacie	14	0.6	3	0.6	11	0.6	0.7340		
Dispensaire	17	0.7	0	0.0	17	0.9	0.0530		
Clinique privée	36	1.5	8	1.5	28	1.4	0.5460		
Hospitalisé 24 h	5	0.2	2	0.4	3	0.2	0.1980		
A été perfusé	12	0.5	4	0.8	8	0.4	0.1640		
A reçu des antibiotiques	19	0.8	6	1.1	13	0.7	0.1200		
Hopital public	2	0.1	0	0.0	2	0.1	0.5080		
Structures sanitaires consultées*									
Pharmacie	244	9.8	28	5.3	216	11.0	0.0030	0.59	0.38-0.88
Dispensaire	110	4.4	20	3.8	90	4.6	0.4644	1.01	0.59-1.66
Clinique privée	514	20.7	162	30.6	352	18.0	<0.0001	2.1	1.74-2.54
Hopital public	103	4.1	56	10.6	47	2.4	<0.0001	5.45	3.63-8.20

* Données cumulées

Annexe 8 : Comparaison des fièvres dues a la dengue avec les fièvres d'autre étiologie en 2008

2008	TOTAL n=2095	%	Dengue n=117	%	Non Dengue n=1978	%	p	RR	IC 95%
Age							0.0054		
Moyenne	7.6	NA	8.27	NA	7.13	NA			
Médiane	7	NA	8	NA	7	NA			
Min - Max	0-20	NA	0-17	NA	0-20	NA			
Catégories d'âge							0.063		
<1 an	83	4.0	0	0.0	83	4.2			
1-4 ans	650	31.0	27	23.1	623	31.5			
5-7ans	422	20.1	27	23.1	395	20.0			
8-10 ans	414	19.8	29	24.8	385	19.5			
11-13 ans	295	14.1	17	14.5	278	14.1			
14-16 ans	169	8.1	14	12.0	155	7.8			
17-20 ans	62	3.0	3	2.6	59	3.0			
Genre									0.73-1.56
Masculin	1080	51.6	59	50.4	1021	51.6	0.802	1.07	
Zone du village									1.79-5.09
Urbain	125	6.0	19	16.2	106	5.4	<0.0001	3.09	
Rural	1970	94.0	98	83.8	1872	94.6			
Occupation							0.044		
Scolarisé	1106	52.8	75	64.1	1031	52.1			
Travaille dans une entreprise	12	0.6	0	0.0	12	0.6			
Travaille dans le batiment	16	0.8	0	0.0	16	0.8			
Travaille dans l'agriculture	14	0.7	0	0.0	14	0.7			
Autre	947	45.2	41	35.0	906	45.8			
Niveau d'éducation de la mère									
Non scolarisée	284	13.6	17	14.5	267	13.5	0.675		
Niveau primaire	1201	57.3	87	74.4	1114	56.3			
Niveau secondaire et au dela	148	7.1	12	10.3	136	6.9			
Niveau d'education du patient							0.205		
Non scolarisé	677	32.3	40	34.2	637	32.2			
Niveau primaire	869	41.5	66	56.4	803	40.6			
Niveau secondaire et au dela	87	4.2	9	7.7	78	3.9			

2008	TOTAL n=2724	Dengue n=117	Non Dengue n=2607	p	RR	IC 95%			
Température									
Moyenne		37.50	37.36	0.2876					
Médiane		37.5	37						
Min - Max		35-39	35-40						
Duree de la fièvre en jours									
Moyenne	3.47	3.84	NA	3.45	NA	0.0025			
Médiane	3	4	NA	3	NA				
Min - Max	0-14	0-10	NA	0-14	NA				
Signes cliniques associés à la fièvre									
Rash cutané	34	1.2	3	2.6	31	1.2	0.1905		
Myalgies	356	13.1	30	25.6	326	12.5	<0.001	2.29	1.54-3.42
Rhinorrhée-congestion nasale	1931	70.9	59	50.4	1872	71.8	<0.001	0.4	0.29-0.59
Angine	728	26.7	45	38.5	683	26.2	0.003	1.7	1.19-2.46
Diarrhée	436	16.0	4	3.4	432	16.6	0.0002	0.18	0.07-0.50
Nausée-vomissements	599	22.0	42	35.9	557	21.4	<0.001	1.98	1.38-2.86
Céphalées sévère	1245	45.7	81	69.2	1164	44.6	<0.001	2.67	1.82-3.92
Arthralgies	81	3.0	2	1.7	79	3.0	0.41		
Douleurs rétro-orbitaire	176	6.5	25	21.4	151	5.8	<0.001	3.93	2.60-5.95
Toux	1876	68.9	64	54.7	1812	69.5	0.001	0.54	0.38-0.78
Dyspnée	155	5.7	2	1.7	153	5.9	0.0573	0.29	0.07-1.15
Production de crachats	543	19.9	12	10.3	531	20.4	0.0073	0.45	0.25-0.83
Otalgie	100	3.7	3	2.6	97	3.7	0.514		
Frissons	21	0.8	3	2.6	18	0.7	0.023	3.38	1.16-9.80
Fievres ayant motivé une consultation									
Oui	413	15.2	39	33.3	374	14.3	<0.001	2.93	1.96-4.37
Nombre de traitements prescrits									
							0.948		
1	401	14.7	38	32.5	363	13.9			
2	11	0.4	1	0.9	10	0.4			
3 et plus	1	0.0	0	0.0	1	0.0			
Structures sanitaires consultées en première intention									
Guerisseur traditionnel	0						NA		
Pharmacie	65	2.4	5	4.3	60	2.3	0.599		
Dispensaire	37	1.4	1	0.9	36	1.4	0.142		
Clinique privée	287	10.5	30	25.6	257	9.9	0.29		
Hopital public	24	0.9	3	2.6	21	0.8	0.598		
Structures sanitaires consultées*									
Pharmacie	65	2.4	5	4.3	60	2.3	0.172	1.82	0.77-4.32
Dispensaire	39	1.4	1	0.9	38	1.5	0.6299		
Clinique privée	288	10.6	31	26.5	257	9.9	<0.0001	3.05	2.06-4.51
Hopital public	25	0.9	3	2.6	22	0.8	0.056	2.84	0.97-8.33
A été perfusé	143	5.2	28	23.9	115	4.4	<0.0001	5.67	2.66-12.07
A reçu des antibiotiques	396	14.5	38	32.5	358	13.7	0.966		

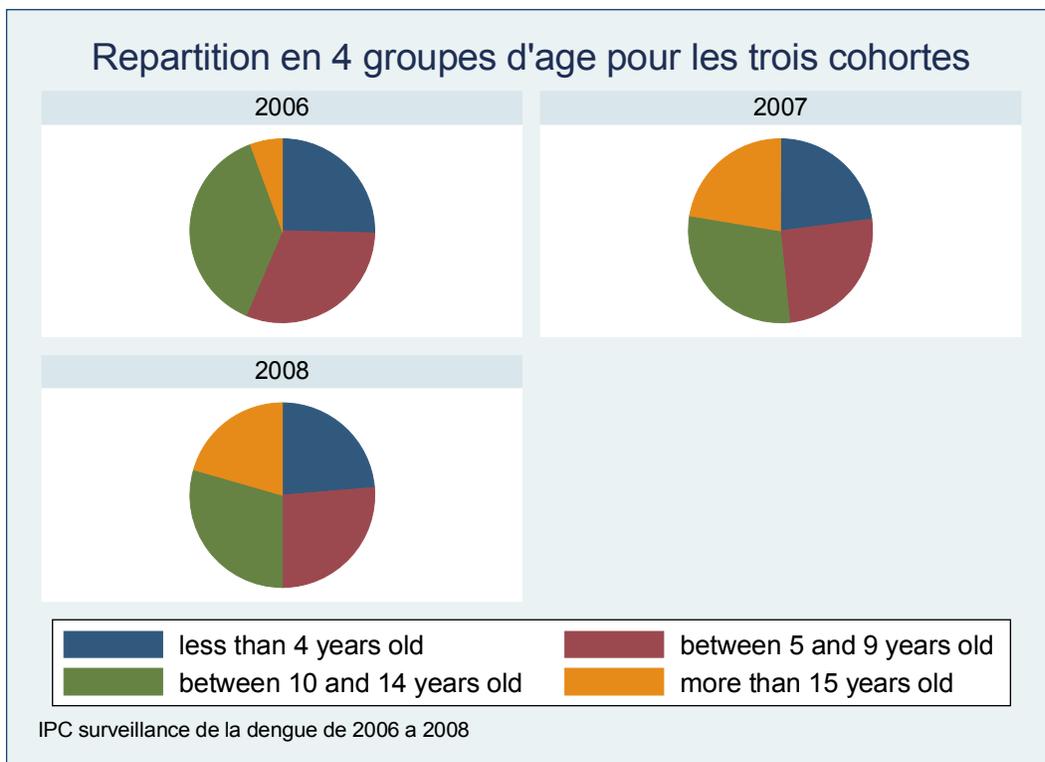
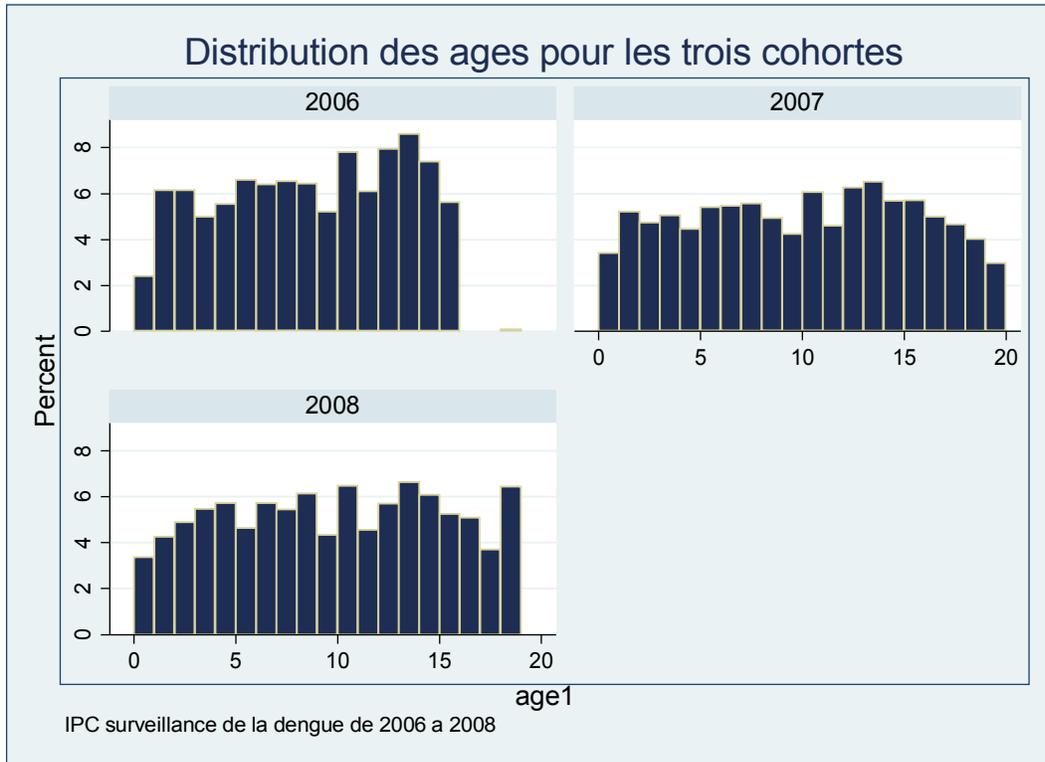
*Données cumulées

Annexe 9 : Taux d'incidence spécifique pour l'âge de 2006 à 2008

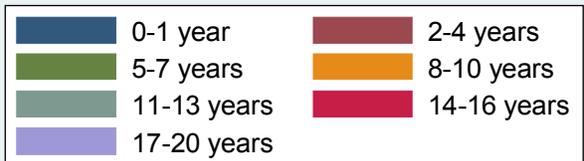
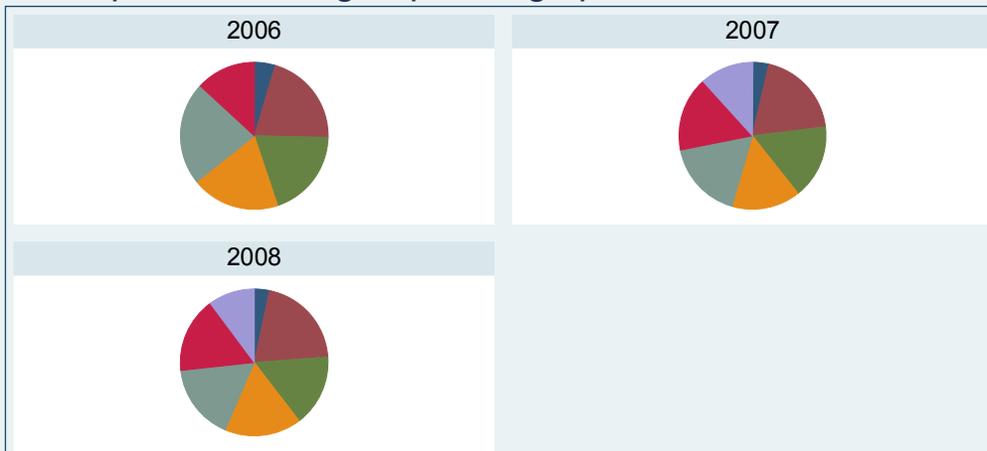
Taux d'incidence de la dengue par
âge (pour 1000 personnes saisons) de
2006 a 2008

Age	2006	2007	2008
0	0.00	38.99	0.00
1	21.90	51.99	14.05
2	19.05	96.43	18.05
3	23.19	119.30	27.20
4	15.67	89.52	18.08
5	11.31	110.08	19.04
6	29.82	92.02	23.36
7	13.25	71.68	32.14
8	13.57	67.31	23.71
9	10.99	77.60	23.11
10	5.70	50.71	27.07
11	17.07	52.45	9.69
12	9.09	53.81	20.57
13	8.64	35.88	13.55
14	3.94	38.01	17.33
15	5.33	9.71	14.33
16	0.00	24.89	6.32
17	0.00	12.51	13.44
18	0.00	18.33	0.00
19	0.00	10.37	0.00
20	0.00	0.00	
total	13.08	57.81	17.63

Annexe 10 : Caractéristiques démographiques des trois cohortes



Repartition en 7 groupes d'age pour les trois cohortes



IPC surveillance de la dengue de 2006 a 2008

ABSTRACT

Dengue is a vectorborne viral disease whose transmission to humans is by a mosquito belonging to the genus *Aedes*. Dengue is endemic in South-East Asia which includes Cambodia resulting in a year long transmission and marked seasonal fluctuations during the rainy season. Dengue vaccine development appears promising in the near future, hence accurate disease incidence data are urgently needed to accurately estimate the burden of dengue and promote introduction of vaccines. In Cambodia surveillance only targets children <16 years of age based on the notification of clinically suspected cases by the public hospitals. Since 2006, the National Dengue Control Program and the Institut Pasteur in Cambodia have collaborated to conduct an active population based surveillance large scale prospective study in rural and urban areas of the Kampong Cham Province. Participants were enrolled and visited at home on a weekly basis by village volunteers. Upon detection of fever, an investigation team was in charge of bleeding and questioning the patients.

Dengue disease is defined as documented fever >38C associated with detection of IgM anti-dengue or positive RT-PCR. Testing is performed on the second specimen collected 15 to 19 days after fever onset (convalescent phase); if positive, the first specimen (collected during the acute phase 0 to 5 days after the onset of fever) is to be tested by RT-PCR for serotyping. From May 8, 2006 to December 31, 2008, three successive cohorts involving 6657 children <16 years old, 10 086 and 7769 young <20 years of age from 41 villages were under active surveillance for fever events. Of the total number of participants, 6,121 fever events were bled in which 736 dengue cases were identified. Incidence rates in 2006, 2007 and 2008 were 13.6/1000, 57.8/1000 and 17.6/1000 persons-seasons respectively. These results were 6 to 16 fold higher than those reported by the National Dengue Control Program for Kampong Cham Province. . Rural areas showed an incidence of 4.2 fold higher than that of urban zones in 2007 (71.3/1000 versus 17.1/1000). The trend reversed in 2008 resulting in a significantly higher incidence rate in urban areas (21.2/1000 versus 17.1/1000).

Dengue is highly focalized and this is confirmed in our results. Attack rates varied widely by village (median 17.5, range 1.5- 211.5): Some villages rates were over 200/1000 while 75% villages had an incidence rate of dengue infection <50/1000. Each year, children <7 years of age were found to have highest age –specific incidence rates. In 2006 the 6 years age group appeared to have the highest incidence rate (29.8/1000) Following years it was the 3 year old age group and the 7 year age category that showed respectively Incidence Rates of 119.3/1000 and 32.1/1000.

All four dengue serotypes circulated during the study period; DENV-3, DENV-1 and DENV-2 being predominant in 2007, 2006 and 2008 respectively. DENV-2 infected patients appeared to have expressed milder form of disease as DENV-2 were found to lead to lower hospitalization rate, shorter fever duration and affecting older children.

This active surveillance confirmed the localized nature dengue transmission. Intense transmission was also observed during epidemic periods. Given a symptomatic to asymptomatic ratio of 1:10, infection rate could approach 100% among susceptibles in some villages. Despite these high incidence rates, we believe that the actual incidence is still underestimated from the active surveillance as many secondary infections could not result in a rise of Ig M anti-dengue.

Key Words : Active Epidemiological Surveillance Cohorts Dengue Cambodia

RESUME

La dengue est une affection virale transmise à l'homme par les moustiques du genre *Aedes*. Cette arbovirose représente une des premières causes de morbidité dans les régions tropicales et intertropicales. Dans les pays d'Asie du sud-est, et plus particulièrement au Cambodge, la dengue est fortement endémique avec une saisonnalité marquée. Dans l'optique de mettre en place les premiers essais vaccinaux dans un futur proche, des estimations précises de l'incidence de la maladie sont requises. Or la surveillance épidémiologique de la dengue est essentiellement passive au Cambodge et repose sur la déclaration des cas cliniquement suspects par le réseau hospitalier. Pour évaluer la charge réelle de la maladie, et déterminer la proportion de cas de dengue non détectés par le système national de surveillance, l'Institut Pasteur du Cambodge a mené une étude prospective de grande échelle sur 41 villages de la Province de Kampong Cham en collaboration avec le NDPC (National Dengue Program Control). Les participants inclus étaient visités de façon hebdomadaire à domicile par des équipes villageoises. Pour chaque cas fébrile détecté (fièvre mesurée au dessus de 38C), une équipe d'investigation était chargée de prélever et d'interroger les patients.

Le diagnostic de dengue était posé lorsque le prélèvement de la phase de convalescence (réalisé 15 à 19 jours après le début de la fièvre) revenait positif pour les IgM anti-dengue. Dans ce cas le premier prélèvement (recueilli lors de la phase aiguë 0 à 5 jours après le début de l'épisode fébrile) était alors testé par RT-PCR.

Du 8 mai 2006 au 31 décembre 2008 trois cohortes successives de 6 657 enfants de moins de 16 ans, de 10 086 et de 7769 jeunes de moins de 20 ans ont été surveillées activement pour la fièvre. Sur l'ensemble des patients suivis au moins un an, 6121 épisodes fébriles ont été prélevés et parmi ceux-ci, 736 infections par le virus de la dengue ont pu être identifiées. Les taux d'incidence pour les années 2006, 2007 et 2008 étaient respectivement de 13,6/1000, de 57,8/1000 et de 17,6/1000 personnes-saisons. Ces chiffres s'avèrent être 6 à 16 fois plus élevés que ceux de la surveillance nationale pour la province de Kampong Cham (les facteurs sont respectivement 5,8, 10,5 et 15,7 pour 2006, 2007 et 2008)

Les villages situés en zone rurale ont présenté une incidence de la dengue 4,2 fois supérieure à l'incidence des villages en zone urbaine pour l'année 2007(71,3/1000 contre 17,1/1000) alors qu'en 2008 on observait une tendance inverse avec une incidence significativement plus élevée dans les villages en zone urbaine (21,2/1000 contre 17,1/1000).

Les grandes variations de taux d'attaque de la dengue en fonction des villages confirment le caractère extrêmement focal des épidémies. Certains villages ont présenté des taux supérieurs à 200/1000 alors que 75% des villages avaient des taux inférieurs à 50/1000. Aussi les enfants de moins de 7 ans ont été les plus nombreux à être infectés par la dengue parmi la population surveillée et ce pendant les trois années. En 2006 la classe d'âge de 6 ans présentait le plus haut taux d'incidence (29,8/1000), l'année suivante le groupe d'âge de 3 ans culminait avec 119,3/1000, et en 2008, c'est la catégorie des 7 ans qui présentait le taux d'incidence le plus élevé (32,1/1000 personnes-saisons).

Si les quatre sérotypes du virus de la dengue ont circulé durant les trois années, les sérotypes les plus souvent identifiés durant l'étude ont été DENV-3, DENV-1 et DENV-2. L'analyse des caractéristiques cliniques et des parcours de soin en fonction des différents sérotypes viraux est en faveur d'une sévérité moindre pour le sérotype DENV-2 auquel correspondaient un plus faible taux d'hospitalisation, une durée de la fièvre plus courte et un âge moyen plus élevé.

Cette étude a confirmé l'extrême intensité de la transmission de la dengue pendant la période épidémique. Si l'on considère un ratio de 1 cas symptomatique pour 10 cas asymptomatiques, la transmission a pu atteindre 100% des enfants réceptifs dans certains villages. Malgré ces incidences importantes nos estimations restent encore en dessous de la réalité du fait des faux négatifs aux IgM anti-dengue qui surviennent fréquemment lors des infections secondaires.

Mots clé : Surveillance épidémiologique active cohortes dengue Cambodge

