

Cours international Francophone de Vaccinologie 2012

Université Bordeaux Segalen – Ecole du Val-de-Grâce

Diplôme universitaire

Vaccin contre la dengue : utilité, difficultés et perspectives.

MALLARD Adeline 09/06/1981

Résumé

La dengue est l'arbovirose la plus répandue sur la planète. Environ la moitié de l'humanité est exposée aux virus dengue. Elle est transmise par un moustique vecteur du genre *Aedes*. L'expression clinique est polymorphe : asymptomatique, syndrome algo-éruptif fébrile, complications sévères voire fatales. La physiopathologie des formes graves de dengue est méconnue, elle est probablement plurifactorielle. Il n'existe pas de traitement antiviral spécifique. Le traitement est symptomatique. La prévention fait appel à la protection individuelle contre les piqûres du moustique vecteur et à la lutte antivectorielle. Un vaccin serait donc utile. La recherche rencontre plusieurs difficultés : il existe 4 sérotypes différents (DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4), la théorie des anticorps facilitants (Antibody Dependent Enhancement ou ADE) ou augmentation de l'infection dépendante des anticorps suggère qu'une infection secondaire pourrait prédisposer à une maladie sévère. Plusieurs vaccins sont en développement. Le candidat vaccin le plus avancé actuellement contre la dengue est un vaccin vivant atténué recombinant tétravalent.

Abstract

Dengue is the most widespread arbovirosis on earth. Almost half of mankind is threatened by dengue viruses. It is transmitted by an vector mosquito within the genus *Aedes*. Clinical expression is polymorphic: asymptomatic, fever with rash and pain, severe complications even fatal. Physiopathology of severe forms remains unclear and is probably multifactorial. There is no specific antiviral drug. Treatment is supportive. Prevention depends on control of and protection from the bites of the mosquito that transmits it. Thus a vaccine would be useful. Research encounters several difficulties: there are four serotypes (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4), Antibody-dependent enhancement could predispose to severe dengue-related complications. There are several ongoing programs working on a dengue vaccine. The most advanced candidate is a tetravalent live attenuated recombinant vaccine.

Remerciements

Au Pr Malvy,

au Pr Koeck,

au Pr Migliani,

au Pr Saliou,

et à tous les enseignants du Cours international francophone de vaccinologie pour leur disponibilité et la qualité de leur enseignement.

Plan

I.	Introduction	page 5
II.	Epidémiologie	page 6-7
III.	La dengue	
	<u>A/ Clinique</u>	page 8-9
	<u>B/ Traitement</u>	page 10
IV.	Le virus	
	<u>A / La structure du virus</u>	page 11
	<u>B/ Le cycle viral</u>	page 12
V.	Immunité contre la dengue	page 13
VI.	La recherche vaccinale	
	<u>A/ Historique</u>	page 14-15
	<u>B/ Vaccin Sanofi Pasteur</u>	page 16-17
VII.	Conclusion	page 18
VIII.	Bibliographie	page 19-20

I. Introduction

La dengue est l'arbovirose la plus répandue sur la planète [1,2]. Elle est considérée comme une maladie réémergente compte-tenu de son extension géographique depuis une trentaine d'années, avec une augmentation de la fréquence des épidémies et des formes graves, entraînant un impact humain et économique considérable [1].

Il existe 4 sérotypes différents (DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4) [1,4]. Chacun d'entre eux pouvant être à l'origine de toutes les manifestations de la dengue [6]. La première infection par un virus dengue est appelée dengue primaire, une infection ultérieure par un autre sérotype dengue secondaire. Ces virus appartiennent aux *Flaviviridae*. Ils sont transmis par un vecteur : des moustiques du genre *Aedes* (*Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Aedes polynesiensis*...). Le réservoir principal est l'être humain [1,4].

L'expression clinique est polymorphe avec un syndrome algo-éruptif et fébrile. Généralement bénigne, des formes graves voire fatales peuvent survenir [1].

Les traitements sont symptomatiques. L'aspirine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens ne sont pas recommandés [1]. La prévention de la dengue consiste en lutte antivectorielle ; prévention personnelle par répulsifs cutanés et/ou moustiquaires et collective par la destruction des gîtes larvaires et la désinsectisation [3]. Il n'existe pas de vaccin disponible à l'heure actuelle mais de nombreuses études cliniques ont été et sont menées.

II. Epidémiologie

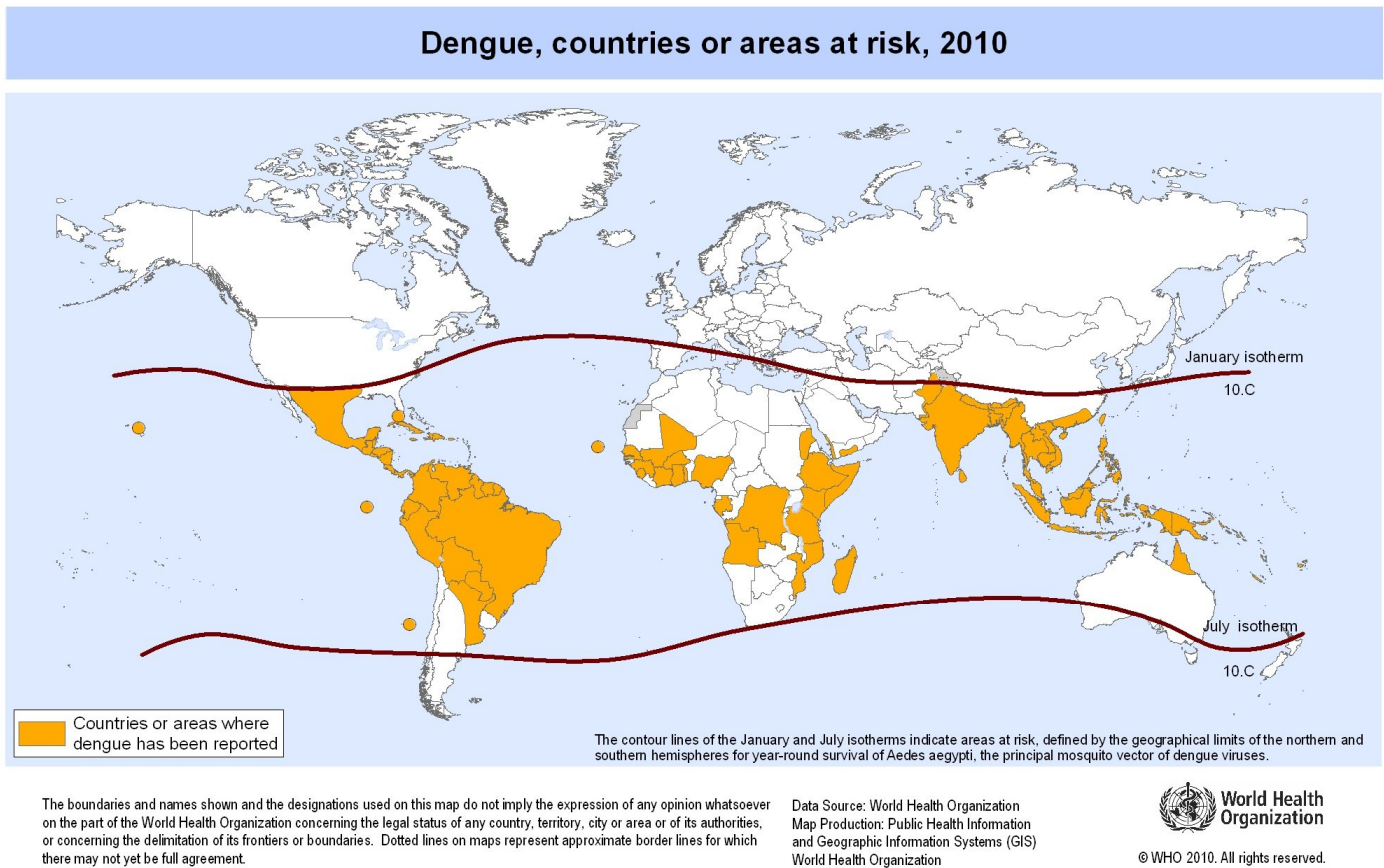


Figure n°1 : zones géographiques où le virus de la dengue a été signalé (World Health Organization 2010)

La dengue est une arbovirose transmise par un moustique vecteur du genre *Aedes* dont l'activité est diurne, ce qui rend difficile la prévention par l'utilisation de moustiquaires. Son vecteur principal est *Aedes aegypti* qui vit principalement dans les zones urbaines. *Aedes albopictus*, vecteur secondaire de la dengue en Asie, s'est propagé en Amérique du Nord et en Europe par le biais des transports internationaux. Il vit dans les zones rurales. Cette espèce a une très grande faculté d'adaptation et peut donc survivre dans les régions plus tempérées et plus fraîches de l'Europe. Sa propagation est due à sa tolérance aux températures en dessous de 0°, à sa possibilité d'hiberner et à sa capacité de s'abriter dans des micro-habitats [3]. Ces dernières décennies l'urbanisation non contrôlée, la croissance démographique, la paupérisation ont rendu difficile la lutte contre les gîtes larvaires.

Le réservoir principal est l'être humain, qui permet la prolifération du virus et la contamination du moustique vecteur [3].

La dengue sévit dans les régions tropicales et sub-tropicales, en Amérique centrale et du sud, dans les Caraïbes, en Asie, en Océanie, et de façon moindre en Afrique, en particulier dans les zones urbaines et semi-urbaines. Plus de 2,5 milliards de personnes y sont exposées soit environ 40% de la population de la planète. L’OMS estime le nombre de cas par an de 50 à 100 millions avec un taux de décès de 2,5% [3].

Le Sud-Est asiatique et l’Amérique du Sud sont les principales zones d’endémie. Des épidémies y surviennent également lors de l’introduction d’un nouveau sérotype ou de la réapparition d’un sérotype n’ayant pas circulé depuis plusieurs années. Plusieurs sérotypes y co-circulent dans des proportions variables. L’incidence est en augmentation depuis les 3 dernières décennies [9]. L’Asie est considérée comme un continent « hyperendémique » [7]. Ainsi plus de 40 000 cas ont été signalés cette année au Vietnam, les quatre sérotypes sont concernés même si le sérotype DEN-4 est majoritaire [14]. Les Caraïbes, les îles du Pacifique et les côtes orientales de l’Afrique sont des zones épidémiques [4]. Durant les épidémies, le taux d’attaque peut atteindre 40 à 50% [3].

Ces zones géographiques (Asie, Pacifique, Amérique latine et Caraïbes) sont les cibles prioritaires pour un vaccin contre la dengue [11].

Les voyageurs sont également concernés. En effet le nombre d’arrivées de touristes internationaux augmente régulièrement (de 6.7% pour atteindre 935 millions en 2010) [13]. Le nombre de cas de dengue importée est probablement sous-estimé compte-tenu de la difficulté du diagnostic et du fait que le paludisme est recherché en priorité. Pourtant la dengue est l’arbovirose qui concerne le plus les voyageurs [1].

Enfin, le moustique vecteur connaît une extension récente avec un risque d’introduction de la dengue en France métropolitaine. La transmission locale de la maladie en Europe a en effet été signalée en France et en Croatie en 2010 [3].



**Female *Aedes aegypti*
WHO/TDR/Stammers**

Figure 2 : *Aedes aegypti* moustique femelle (OMS)

III. La dengue

A/ Clinique

La dengue peut être asymptomatique [4].

Ces virus sont responsables d'un syndrome aigu fébrile et algique de début brutal inconstamment éruptif d'allure grippale [1,2]. Il est bénin dans la majorité des cas et polymorphe. Le diagnostic est donc difficile [7]. L'incubation est courte, de 1 à 15 jours. Les symptômes apparaissent à la suite d'une période d'incubation de 4 à 10 jours après la piqûre d'un moustique infecté et durent 2 à 7 jours. Dans la forme classique le patient guérit spontanément sans séquelle en-dehors d'une possible asthénie résiduelle. Des formes graves voire fatales peuvent survenir par la survenue, à partir du 4^{ème}-5^{ème} jour, d'hémorragies et/ou de choc par fuite capillaire. Des formes graves hépatiques et encéphalitiques sont également possibles. Par ailleurs, les formes cliniques peuvent se superposer [1].

Selon l'OMS, la dengue doit être suspectée en présence d'une forte fièvre (40°C), accompagnée de deux des symptômes suivants: céphalées sévères, douleurs rétro-orbitaires, musculaires, articulaires, nausées, vomissements, adénopathie ou éruption cutanée. La dengue sévère est une complication potentiellement mortelle due à une fuite plasmatique, une accumulation liquidienne, une détresse respiratoire, des hémorragies profuses ou une insuffisance organique. Les signes d'alerte surviennent précocement, de 3 à 7 jours après les premiers symptômes, conjointement à une baisse de la température (en dessous de 38°C). On peut alors observer des douleurs abdominales sévères, des vomissements persistants, une hyperpnée, des hémorragies cutanéomuqueuses, une hématemèse, une asthénie, une agitation. La mort peut survenir dans les 24 à 48 heures suivantes de cette phase critique; un traitement médical adapté est alors nécessaire pour éviter les complications et le risque de décès [3].



Figure 3 : plaquette de prévention (Direction de la santé et du développement social DSDS de Guyane).

B/ Traitement

Il n'existe pas de traitement antiviral spécifique. Le traitement est symptomatique. Le traitement des formes bénignes fait appel aux antipyrétiques, aux antalgiques et à la réhydratation. L'aspirine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens ne sont pas recommandés car ils majoreraient le risque hémorragique [1, 3]. En cas de dengue sévère, le traitement symptomatique est celui du choc hypovolémique par fuite plasmatique.

IV. Le virus

A / La structure du virus

Le virus dengue appartient à la famille des *Flaviviridae*, genre des *Flavivirus* [1]. Il existe 4 sérotypes différents (DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4) [1,4]. Chaque sérotype comprend une variété de sous-types [12].

C'est un virus enveloppé à ARN simple brin. Son enveloppe est une bicouche lipidique dérivée de la cellule-hôte dans laquelle sont ancrées deux glycoprotéines structurales virales : la protéine d'enveloppe (E) et la protéine de membrane (M). Son génôme est contenu dans une nucléocapside composée d'une troisième protéine structurale la protéine de capsid (C) [12]. Les différences sérotypiques sont liées aux différences de protéines de surface [11]

L'ARN génomique, d'environ 11 kilobases, code pour un précurseur polyprotéique. Ce dernier est clivé par des protéases virales et cellulaires pour donner naissance à trois protéines virales structurales (C, prM et E) et sept protéines virales non structurales (NS1, NS2a et b, NS3, NS4a et b, NS5) [12]. L'antigène NS1 est une protéine du virus de la dengue détectée dans le sérum des patients atteints de dengue en phase précoce (principalement du 1er au 5ème jour après l'apparition de la fièvre).

La neutralisation des virus dengue fait appel à plusieurs anticorps qui ciblent différents épitopes. Les anticorps dirigés contre les deux protéines de surface : la protéine E et la protéine prM peuvent neutraliser l'infection et conférer une protection [2]. Mais la glycoprotéine d'enveloppe E est la cible principale des anticorps neutralisants quelque soit le sérotype [2, 10].

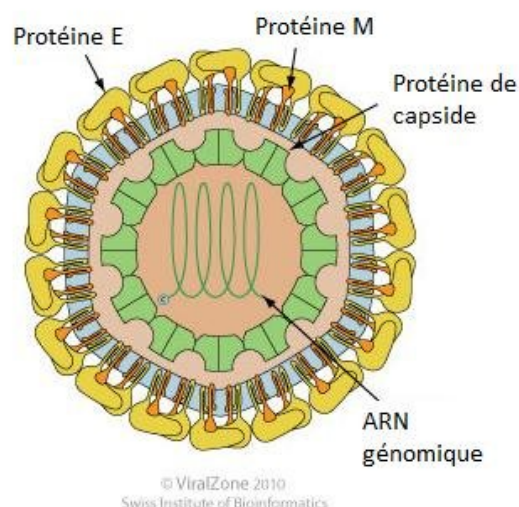


Figure 2 : Schéma du virus dengue (@ViralZone 2010. Swiss Institute of Bioinformatics).

B/ Le cycle viral

Le virus s'attache à une cellule de mammifère grâce à une interaction entre la protéine E et des récepteurs spécifiques sur la surface cellulaire. Un processus d'endocytose récepteur-dépendant conduit à l'internalisation de la particule virale dans une vésicule à l'intérieur de la cellule. L'enveloppe virale fusionne avec la membrane endosomale, libérant la nucléocapside dans le cytoplasme de la cellule-cible. L'ARN génomique viral est ensuite décapsidé et fait office d'ARN messager. Il est traduit en une polyprotéine virale puis clivé pour donner naissance aux trois protéines virales structurales et aux sept protéines virales non structurales. La membrane du réticulum endoplasmique dans laquelle sont ancrées les protéines E et prM formerait l'enveloppe des virions immatures. Ces derniers seraient ensuite transportés, dans des vésicules de sécrétion, vers l'appareil de Golgi où une protéase cellulaire assure la maturation de l'enveloppe virale en clivant la protéine prM en protéine M. Les virions matures sont ensuite libérés par exocytose au travers de la membrane plasmique [12].

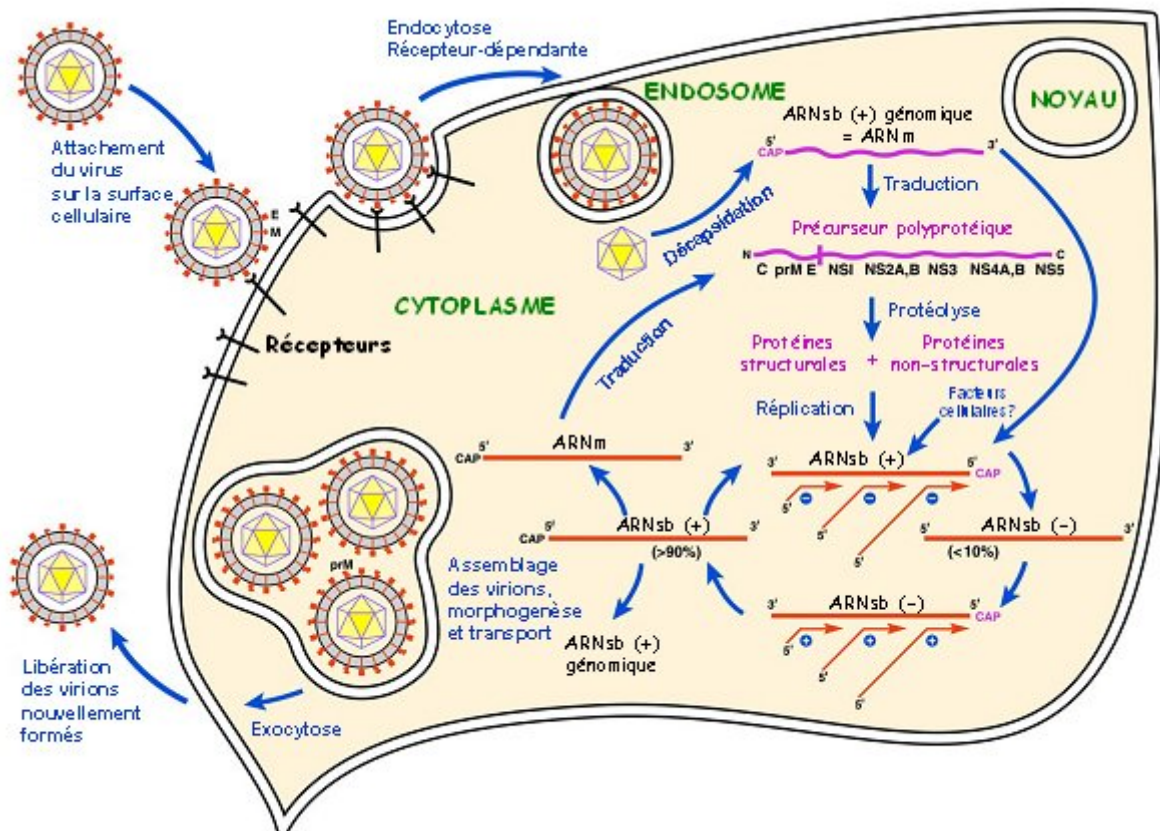


Figure 3 : Cycle du virus de la dengue dans une cellule de mammifère. (Adapté de Samuel, C.E. 2002)

V. Immunité contre la dengue

La dengue donne une immunité à vie conférée par les anticorps induits par le virus (immunité homotypique). Il peut exister une immunité croisée (immunité hétérotypique) mais elle est partielle et disparaît avec le temps [2,3]. Un individu peut donc être infecté par les quatre sérotypes.

La physiopathologie des formes graves de dengue est méconnue. Elle est probablement plurifactorielle. La théorie des anticorps facilitants (Antibody Dependent Enhancement ou ADE) ou augmentation de l'infection dépendante des anticorps complique la recherche car elle suggère que le vaccin pourrait prédisposer à une maladie sévère. Selon cette théorie des anticorps non neutralisants pour un second sérotype seraient produits lors d'une infection primaire. Ces anticorps pourraient former des complexes avec un virus dengue d'un sérotype hétérologue acquis lors d'une infection secondaire. Ces complexes faciliteraient la pénétration de ce virus dans les monocytes et augmenteraient sa réplication. Lors de la lyse de ces monocytes, les médiateurs vasoactifs et procoagulants entraîneraient la lyse plasmatique [4,7]. La plupart des recherches se sont donc orientées vers un vaccin tétravalent, ce qui majore les difficultés techniques.

Un vaccin vivant atténué est capable d'induire une immunité de longue durée [4,5]. En effet il faut que le vaccin soit efficace avec peu de doses sur un temps relativement court.

D'autres facteurs pourraient être impliqués dans le développement d'une dengue grave : rôle propre du virus, inoculum viral, interactions virus-hôte et virus-vecteur [4].

VI. La recherche vaccinale

A/ Historique

Le mode de transmission des virus dengue par un moustique vecteur rend son contrôle difficile.

De nombreuses recherches ont été menées depuis les années 1940 pour la mise au point d'un vaccin. La Dengue Vaccine Initiative (DVI) est un consortium d'organisations travaillant pour l'introduction d'un vaccin contre la dengue dans les zones endémiques. Le Pediatric Dengue Vaccine Initiative (PDVI) a également été créé dans ce but. Du fait de la sous-estimation du fardeau global de la dengue, l'intérêt des industriels fut tout d'abord faible. La recherche vaccinale a fait ensuite de rapides progrès à partir des années 1990 [14]. Des vaccins avaient été développés avec succès contre d'autres *Flavivirus* : fièvre jaune et encéphalite japonaise mais ils ne sont dirigés que contre un seul sérotype. La recherche d'un vaccin contre la dengue s'est révélée beaucoup plus complexe.

Les défis de la recherche vaccinale contre la dengue sont en effet nombreux. Il n'existe pas de modèle animal développant la maladie clinique. Il existe quatre sérotypes différents ne conférant pas d'immunité croisée durable. Le risque théorique d'immunopotentialisation (ADE) lors d'infections secondaires fait craindre une infection sévère par un autre sérotype en cas de vaccination préalable monovalente contre un sérotype. La crainte de majorer par la vaccination le nombre de formes graves est d'autant plus grande que le vaccin est destiné à être utilisée à une très large échelle et dans des zones où circulent d'autres arboviroses (Encéphalite japonaise, fièvre jaune, virus du Nil occidental...).

Ces difficultés ont orienté la recherche vers un vaccin tétravalent qui ciblerait d'emblée les 4 sérotypes de la dengue.

D'autres défis demeurent : le corrélat exact de protection contre chaque sérotype doit être déterminé et, dans l'avenir, il faudra pouvoir répondre à une demande importante de vaccins compte-tenu de l'importance des populations exposées et proposer un vaccin aisément transportable et de coût accessible. Le vaccin contre la dengue sera également utile pour la protection des voyageurs.

Les études concernant des candidats vaccins contre la dengue ont été faites en majorité avec des populations en zone d'endémie, en Asie et en Amérique du Sud [1, 8] mais

également des populations naïves. Le vaccin monovalent rDEN1Δ30 a ainsi été testé aux Etats-Unis auprès d'adultes n'ayant pas d'anticorps contre la dengue, la fièvre jaune, le virus du Nil occidental, l'encéphalite de Saint-Louis, les hépatites B et C et le HIV [6].

Plusieurs pistes vaccinales ont été explorées. Celle d'un vaccin vivant atténué tétravalent est actuellement la plus avancée [8, 11]. D'autres sont à l'étude : vaccin vivant atténué ou inactivé adjuvanté, tétravalent ou monovalent [4, 5, 6, 11].

GalaxoSmithKline (GSK), en collaboration avec le Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR), a poursuivi le développement d'un vaccin vivant atténué tétravalent. Il a été testé dans plusieurs études cliniques. Inviragen, en collaboration avec le U.S. CDC, l'Université du Wisconsin, and Universidad de Antioquia en Colombie a débuté une étude clinique de phase 1 pour un vaccin tétravalent chimérique dengue, construit sur la souche DENV2 PDK53 ; cette dernière servant de squelette où sont insérés les gènes des protéines prM et E des sérotypes DEN-1, DEN-3 et DEN-4 [15]. Hawai Biotech Inc travaille sur un vaccin dengue inactivé, l'étude est également en phase 1 [11, 14].

Parmi ces multiples candidats vaccins, un est actuellement en phase III : le vaccin vivant atténué tétravalent développé par Sanofi Pasteur. Ce vaccin pourrait être disponible à partir de 2015 [14].

B/ Vaccin Sanofi Pasteur

Le candidat vaccin le plus avancé actuellement contre la dengue est un vaccin vivant atténué recombinant.

Le virus de la fièvre jaune ou virus amaril a des points communs avec celui de la dengue. Il s'agit également d'un *Flavivirus* transmis par la piqûre d'un moustique vecteur du genre *Aedes* [1]. L'existence d'un vaccin anti-amaril vivant atténué sûr et immunogène avait donné de grands espoirs dans la fabrication d'un vaccin contre la dengue.

Le vaccin Sanofi Pasteur tétravalent est composé de 4 vaccins vivants atténués basés sur le vaccin anti-amaril 17D (YFV 17D). Il est génétiquement et phénotypiquement stable, non hépatotoxique, moins neurovirulent que le YFV 17D et il n'est pas infectant pour le moustique vecteur par la voie orale. Des décennies d'utilisation du vaccin vivant atténué anti-amaril ont montré que sa réactivation est rare et qu'il est très stable génétiquement [11].

Quatre constructions génétiques ont été créées, une pour chaque sérotype. Toutes sont basées sur le squelette du vaccin anti-amaril 17D. Les gènes des protéines structurales E et prM, isolés à partir de chaque sérotype, ont été ensuite insérés [11].

Des études de Phase I ont eu lieu aux Etats-Unis, aux Philippines et à Mexico [8]. Une étude de phase II au Pérou auprès de 300 enfants âgés de 2 à 11 ans [11]. La première étude de phase III a été initiée en 2010 en Thaïlande [7].

Le vaccin est produit par quatre souches vaccinales cultivées sur des cellules Vero. La forme galénique est une poudre avec un solvant pour reconstitution (0.5ml). Il se conserve à +5°C. Le schéma vaccinal prévoit trois injections sous-cutanées à 0, 6 et 12 mois [11].

VII. Conclusion

Environ la moitié de l'humanité est exposée aux virus dengue. Les complications de la dengue peuvent être fatales. La recherche vaccinale est en cours depuis plus de soixante ans. Plusieurs pistes ont été explorées. Sanofi Pasteur a mis au point un vaccin tétravalent qui est actuellement en phase III. Un vaccin contre la dengue sera donc peut-être disponible dans les années à venir. L'évaluation de son efficacité et de sa sécurité vont cependant nécessiter de plus amples études dans les pays d'endémie et prendra probablement encore plusieurs années.

De nombreux défis demeurent : conduire des études dans les différentes régions d'endémie en Asie et dans les Amériques, définir des corrélats de protection, éliminer les facteurs confondants notamment les réactivités croisées avec les autres Flavivirus (fièvre jaune, encéphalite japonaise, virus du Nil occidental), déterminer l'efficacité et l'efficience contre chaque sérotype sachant que leur circulation et leur proportion varie. Le vaccin dengue complémentera les stratégies actuelles de contrôle vectoriel.

VIII. Bibliographie :

1] PILI. Editions 2012. Arboviroses 418-419.

2] Alexander C. Schmidt, M.D., Ph.D. C. The Response to Dengue Fever — The Good, the Bad, and the Ugly? *New England Journal of Medicine* October 23, 2010.

3] Dengue et dengue hémorragique. Aide-mémoire n° 117 OMS. Janvier 2012.

4] DeParis X, Maréchal V., Matheus S. Mécanismes physiologiques de la dengue. *Revue critique des hypothèses. Médecine tropicale* 2009 ; 69 :351-357.

5] Capeding RZ et al. Live-attenuated, tetravalent dengue vaccine in children, adolescents and adults in a dengue endemic country: randomized controlled phase I trial in the Philippines. *Vaccine*. 2011 May 17;29(22):3863-72. Epub 2011 Apr 6.

6] Durbin AP et al. A single dose of the DENV-1 candidate vaccine rDEN1Δ30 is strongly immunogenic and induces resistance to a second dose in a randomized trial. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011 Aug;5(8):e1267. Epub 2011 Aug 2.

7] G William Letson et al. Dengue vaccine trial guidelines and role of large-scale, post proof-of-concept demonstration projects in bringing a dengue vaccine to use in dengue endemic areas. *Hum Vaccin*. 2010 October; 6(10): 802–809.

8] Guy B et al. From research to phase III: preclinical, industrial and clinical development of the Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine. *Vaccine*. 2011 Sep 23;29(42):7229-41. Epub 2011 Jul 13.

9] Jose Luis San Martin et al. The epidemiology of dengue in the Americas over the last three decades: a worrisome reality. *Am J Trop Hyg* 2010 January; 82(1): 128-135.

10] Wahala M.P.B. Wahal and Aravinda M. de Silva. The human antibody response to dengue virus infection. *Viruses*. 2011 December; 3(12): 2374-2395.

11] Rémi Teyssou and al. Présentation du candidat vaccin contre la dengue. CEMI17 : actualités sur les arboviroses. 16 mars 2012. Institut Pasteur.

12] Cao-Lormeau VM. Virus de la dengue et moustiques vecteurs : protéines se liant au virus de la dengue dans les extraits de cellules cibles et de glandes salivaires de moustiques vecteurs. Janvier 2006. Doctorat en sciences. Biologie des organismes. Université de Polynésie française.

13] Organisation Mondiale du Tourisme, Tourisme international 2010, 17 janvier 2011.

14] Dengue Vaccine Initiative. <http://www.denguevaccines.org/>.

15] Osorio et al. Developpement of DENvax : a chimeric DEN-2 PDK-53ba. *Vaccine*. 2011 Sep 23;29(42):7251-60. Epub 2011 Jul 21.