

Diagnostic biologique différentiel entre le paludisme et la dengue chez des patients fébriles à Ouagadougou au Burkina Faso dans un contexte d'endémie des deux maladies

Fiffou YOUNGBARE¹, Serge Théophile SOUBEIGA^{1,2}, Florencia Wendkuuni DJIGMA¹,
Abdoul Karim OUATTARA¹, Tegwindé Rebeca COMPAORE³, Myriam NIKIEMA⁴,
Nadine GHILAT-BELEM⁵, Albert Théophile YONLI^{1,2}, Jacques SIMPORE^{1,2,5}

Résumé

La dengue constitue un problème de santé publique au Burkina Faso. Notre objectif était de faire le diagnostic biologique de la dengue chez des patients fébriles. Cette étude a porté sur 204 patients. Les kits « Dengue Duo de SD Bioline » ont été utilisés pour le dépistage. Une recherche de Plasmodium par la méthode de goutte épaisse a été réalisée chez les patients ainsi que le dosage du taux de CRP. La RT-PCR en temps réel a été utilisée pour confirmer les résultats positifs au test rapide. Environ 25,98 % des patients étaient TDR positif. L'étude a confirmé la présence de DENV chez 3,77 % des patients avec une association statistiquement significative entre le taux de plaquettes et la positivité à l'Ag NS1. Environ 87,87 % des patients qui avaient des gouttes épaisses positives présentaient également des taux de CRP élevés comparativement aux patients qui avaient des taux de CRP normaux et des gouttes épaisses positives (7,01 %) avec une différence statistiquement significative. Dans cette étude, nous proposons des pistes de diagnostic différentiel entre la dengue et le paludisme, dans un contexte d'endémie des deux maladies, à partir de paramètres biologiques tels que les taux de plaquettes et de CRP.

Mots-clés : Dengue, Diagnostic, RT-PCR, Burkina Faso.

¹ Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique (LABIOGENE), Département de Biochimie-Microbiologie, Université Joseph Ki-Zerbo, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

² Centre de recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA), 01 BP 364 Ouagadougou 01, Burkina Faso

³ Institut de recherche en sciences de la santé (IRSS) 03 BP 7192 OUAGADOUGOU Burkina Faso

⁴ Clinique Médicale les Opportunités (CMO), 09 BP 195 Ouagadougou 09, Burkina Faso

⁵ Hôpital Saint Camille de Ouagadougou (HOSCO), 09 BP 444 Ouagadougou 09, Burkina-Faso

*Auteur correspondant : Dr Florencia W. DJIGMA; LABIOGENE ; E-mail : florencia.djigma@gmail.com ou f.djigma@labiogene.org; Boîte Postale : 09 BP 774 Ouagadougou 09, Burkina Faso

Differential biological diagnosis between malaria and dengue in febrile patients in Ouagadougou, Burkina Faso in a context of endemic disease

Abstract

Dengue fever is a public health problem in Burkina Faso. The goal of this study was to make the biological diagnosis of dengue in clinically suspect patients. This study involved 204 clinically suspected dengue patients. Dengue Duo kits from SD Bioline were used for screening. Plasmodium was investigated by the thick-film method in all patients included as well as the dosage of CRP. Complementary biological analyzes were carried out. Real-time RT-PCR was used to confirm positive results in the rapid test. Rapid tests revealed a 25.98% positive Dengue rate. The study confirmed by RT-PCR the effective presence of DENV in 3.77% of patients. Our study revealed a statistically significant association ($p = 0.046$) between platelet count and NS1 Ag positivity. In contrast, 87.87% (29/33) of patients who had malaria also had high CRP levels compared to patients with normal CRP and thick positive seizures (7.02%) with a statistically significant difference ($p = 0.018$). In this study, we confirm the responsibility of dengue arboviruses in cases of disease in our country, but also we propose ways of differential diagnosis between dengue and malaria, in an endemic context of both diseases, based on biological parameters such as platelet and CRP levels.

Keywords: DENV, Diagnostic, RT-PCR, Burkina Faso

Introduction

La dengue est une arbovirose transmise à l'homme par des moustiques diurnes du genre *Aedes*. Les virus de la dengue (DENV) appartiennent à la famille des *Flaviviridae*. La famille des *Flaviviridae* comprend un grand nombre de virus pathogènes pour l'homme et les animaux comme le virus de l'hépatite C (VHC), les virus de la dengue (DENV), le virus de l'encéphalite japonaise (JEV), le virus du West Nile (WNV), le virus de l'encéphalite à tiques (TBEV), le virus de la diarrhée virale bovine (BVDV) et le virus de la peste porcine classique (CSFV).

Les DENV sont des virus à ARN simple brin avec une polarité positive. Ils utilisent principalement *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* respectivement comme vecteurs de transmission domestique et péri domestique. Les DENV sont regroupés en quatre sérotypes génétiquement apparentés mais distincts sur le plan antigénique : DEN-1, DEN-2, DEN-3 et DEN-4 (1). Ils sont extrêmement limités dans leur gamme d'hôte vertébré naturel, qui ne comprend que les primates (2, 3). Après la Seconde Guerre mondiale on a assisté à une expansion géographique des quatre sérotypes de DENV favorisée par l'urbanisation incontrôlée, le mouvement des populations ainsi que des programmes non durables de lutte anti vectorielle (4). À l'heure actuelle, tous les quatre sérotypes de DENV peuvent être trouvés dans presque tous les environnements urbains et péri-urbains des régions tropicales et subtropicales. Ainsi, la répartition mondiale de ces deux vecteurs majeurs met près d'un tiers de la population humaine mondiale à risque d'infection (5). La dengue est devenue endémique dans plus de 100 pays à travers le monde (6).

La grande majorité des infections sont accompagnées ou non de petits signes. Les infections symptomatiques courantes se manifestent comme une grippe ou comme une maladie bénigne caractérisée par l'apparition soudaine de fièvre (DF), d'arthralgies, de myalgies, de maux de tête, d'éruption maculo-papuleuse et de thrombopénie. Environ 1 à 2 % des infections humaines présentent

cliniquement les formes les plus graves de la maladie à savoir la dengue hémorragique (DHF) et la dengue avec syndrome de choc (DSS). Ces formes sont caractérisées par des fuites et/ou une hémorragie vasculaire, conduisant à plus de 500.000 cas d'hospitalisations annuelles avec un taux de létalité d'environ 5 % (7).

En raison de la sous-déclaration de la maladie et la sous-utilisation des services de santé, en particulier dans les pays à ressources limitées, le véritable fardeau sanitaire et économique des infections par les DENV est difficile à estimer (8). Néanmoins, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'il y aurait 50 à 100 millions de cas de dengue dans le monde chaque année. Ce virus serait responsable de 20 000 à 30 000 décès par an survenant principalement chez les enfants (9).

Le Burkina Faso, tout comme bien d'autres pays tropicaux africains, n'est pas épargné de la menace de ce virus à extension rapide et est d'ailleurs considéré par l'OMS comme un pays endémique. La première épidémie de dengue se serait déroulée en 1925 dans notre pays (10). Par la suite, un nombre important de cas aurait été identifié dans les années 1980 (10, 11). Le Burkina Faso fait partie des 34 pays en Afrique où l'on rapporte des cas de dengue depuis les années 2000 (10, 12). Seulement la dengue est un sujet encore nouveau pour la population et les professionnels de santé au Burkina Faso. Un diagnostic différentiel et précis est essentiel pour exclure les autres pathologies qui ont les mêmes symptômes ou des symptômes proches de la dengue afin d'orienter les modalités de prise en charge adéquate.

C'est ainsi que nous nous sommes proposés de mener une étude sur le diagnostic biologique différentiel entre le paludisme et la dengue chez des patients fébriles dans la ville de Ouagadougou. Cette étude avait pour objectifs d'établir la responsabilité des arbovirus de la dengue dans des cas de maladies au Burkina Faso d'une part, et d'autre part de proposer des pistes de diagnostic biologique différentiel entre la dengue et le paludisme.

1. Matériel et méthodes

1.1 Cadre d'étude

L'étude s'est déroulée à Ouagadougou, capitale du Burkina Faso, au Laboratoire de Biologie moléculaire et de Génétique (LABIOGENE) de l'Université Joseph KI-ZERBO en collaboration avec le Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA) et la Clinique Médicale les Opportunités (CMO). La ville de Ouagadougou est la ville la plus peuplée du pays avec un environnement propice au développement du vecteur de la dengue. Elle comporte cinq (05) districts sanitaires en dehors du Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo (CHU-YO).

1.2 Type et période d'étude

Il s'est agi d'une étude transversale qui s'est déroulée sur une période de dix mois, du 02 Novembre 2014 au 30 Août 2015. La collecte des échantillons et toutes les analyses biologiques ont été réalisées dans cette période.

1.3 Population d'étude

Au total 204 patients ont été inclus dans l'étude. Notre population d'étude était constituée de patients de tout âge, de toutes professions et catégories sociales confondues présentant au moins

un signe évocateur de la dengue. Tous les patients reçus en consultation pendant la période de collecte des échantillons et présentant une température supérieure à 37,8 °C ont été inclus dans cette étude excepté les patients ayant une pathologie déjà bien connue.

1.4 Collecte des échantillons

Les échantillons de sang ont été prélevés dans des tubes imprégnés d'EDTA et dans des tubes secs. Des analyses biochimiques ont été effectuées. Après centrifugation à 4 000 g pendant 5 mn les plasmas et les sérums ont été aliquotés dans des cryotubes et conservés à -80 °C jusqu'à la réalisation des analyses moléculaires. Les données sociodémographiques des patients telles que le sexe et l'âge ont été répertoriés.

1.5 Diagnostic biologique de la dengue

Pour notre étude nous avons utilisé le test de détermination de la dengue « Dengue Duo (NS1 Ag+IgM/IgG) de SD Bioline » (République de Corée). Pour se faire, ce test a été directement effectué à partir des échantillons de sang obtenus par prélèvement de sang veineux au pli du coude. Les résultats ont été lus entre 15 et 20 mn.

1.6 Examens biologiques complémentaires

1.6.1 Numération plaquettaire

La numération plaquettaire a été réalisée à partir du sang total sur l'automate Abacus 380 du groupe Diatron (Messtechnik, Hungary) conformément aux procédures du fabricant. Les valeurs normales sont de 150 000 à 300 000 plaquettes par mm³.

1.6.2 Dosage de la Protéine C-Réactive (CRP)

Le dosage des CRP a été réalisé avec le réactif CRP-TURBILATEX de SPINREACT (Espagne). C'est un test quantitatif de mesure de turbidité de CRP dans le sérum humain. L'appareil utilisé était le PICTUS 400 du groupe Diatron (Hungary). Les valeurs de référence sont de 0 à 6 mg/L.

1.6.3 Recherche de plasmodium

La recherche de plasmodium s'est effectuée par la confection d'une goutte épaisse de sang total sur lame suivi d'une coloration au Giemsa et d'une lecture au microscope optique à l'objectif 100 selon le protocole standard.

1.7 La RT-PCR (Reverse Transcription et Réaction de Polymérisation en Chaîne)

1.7.1 Extraction de l'ARN viral

L'extraction a été faite à partir du plasma en utilisant le kit « Ribo-Sorb RNA/DNA (référence K-2-1/100, lot 14J15R257) de Sacace Biotechnologies (Como, Italy) en suivant le protocole fourni par le fabriquant.

1.7.2. Amplification et détection de l'ARN de DENV

L'amplification et la détection ont été réalisées à l'aide du kit « Dengue virus », (Immunospark, Rome, Italy ; référence HV023) sur l'appareil 7500 FAST Real-Time PCR system selon le programme suivant : Une étape de transcription reverse à 50 °C pendant 30 mn et une étape d'activation de

l'enzyme à 95 °C pendant 15 mn, suivie de 45 cycles successifs de dénaturation à 72 °C pendant 20 sec, appariement à 60 °C pendant 40 sec et extension à 72 °C pendant 1 mn et enfin une étape d'extension finale à 60 °C pendant 1 mn.

1.8 Analyse des données

Les données saisies sur Microsoft Excel 2013 ont été analysées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 20.0. Le test de Chi carré a été utilisé pour les comparaisons. La différence a été considérée comme statistiquement significative pour $p < 0,05$.

1.9 Considérations éthiques

Cette étude a été réalisée en tenant compte du consentement libre et éclairé des patients, de l'autorisation des parents ou tuteurs dans le cas des enfants, et de l'autorisation du comité d'éthique du Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA/LABIOGENE). Le respect de la confidentialité et l'anonymat par rapport aux informations fournies étaient de mise.

2. Résultats

2.1 Prévalence de DENV

Dans cette étude nous avons recherché trois marqueurs de DENV à savoir les Antigènes NS1, les Immunoglobulines M et les Immunoglobulines G chez les patients cliniquement suspects de dengue. Sur les 204 échantillons analysés, 53 patients avaient été en contact avec les DENV selon les résultats des tests de diagnostic rapide soit 25,98 % de notre population d'étude. Parmi ces patients testés positifs, 79,2 % (42/53) avaient une infection aiguë de la dengue (antigèneNS1+), 1,8 % (1/53) avaient les marqueurs antigèneNS1+/Immunoglobuline M+ et 20,7 % (11/53) présentaient une infection secondaire ou une exposition passée au virus (Immunoglobuline G+). De plus, 1,8% (1/53) avaient une première infection tardive ou une récente infection secondaire de la dengue (Immunoglobuline M+/Immunoglobuline G+) (tableau I).

Tableau I : prévalence d'Ag NS1, d'Ac de type IgG et IgM chez les patients

	AgNS1		Ac IgG		Ac IgM	
	N	%	N	%	N	%
Négatif	162	79,4	188	92,2	199	97,5
Positif	42	20,6	16	7,8	5	2,5
Total	204	100	204	100	204	100

2.2 Infection à DENV en fonction de l'âge et du sexe

La population d'étude était composée de 97 (47,5 %) hommes contre 107 (52,5 %) femmes soit un sexe ratio de 1,03. Les patients ayant au plus 14 ans (≤ 14 ans) représentaient 38,2 % (78/204) de notre population d'étude contre 42,6 % (87/204) dont l'âge était compris entre 15 et 49 ans inclus. L'âge moyen était de $35,7 \pm 17,6$ ans avec 19,1 % de patients ayant 50 (39/204) ans et plus.

La classe d'âge de 0 à 14 était la plus touchée par la phase aiguë de la maladie avec 24,35 % (19/78) de TDR antigène NS1 positifs contre 18,39 % (16/87) de tests d'anticorps Immunoglobulines positifs et 12,82 % (5/39) de tests d'Immunoglobulines M positifs correspondant à des cas de convalescences (tableau II). Notons cependant que ces différences entre les classes d'âge n'étaient pas statistiquement significatives avec des valeurs de $p=0,149$ et $p=0,743$ respectivement pour l'antigène NS1 et les Immunoglobulines G.

Tableau II : Infection à DENV en fonction du sexe et de l'âge

		Nombre	AgNS1 (N = 42)		Ac IgG (N = 16)		Ac IgM (N = 5)	
			positif	%	Positif	%	Positif	%
l'âge ans)	0 - 14	78	19	24,35	08	10,25	05	6,41
	15 - 49	87	16	18,39	05	5,74	00	00
	≥ 50	39	07	17,94	03	7,69	00	00
sexe	Femmes	107	24	22,42	05	4,67	00	00
	Hommes	97	18	18,55	11	11,34	05	5,15

% : pourcentage N= nombre de cas positifs

L'analyse de nos résultats en fonction du sexe montre que les femmes étaient plus nombreuses à souffrir d'une infection aiguë à DENV avec 22,42 % (24/107) de tests positifs à l'antigène NS1 contre 18,55 % (18/97) chez les hommes. En revanche la positivité globale au niveau des trois marqueurs place les hommes en tête avec 35,05 % (34/97) de marqueurs positifs contre 27,10 % (29/107) chez les femmes. Ces différences n'étaient cependant pas statistiquement significatives avec des valeurs de $p = 0,343$ pour l'antigène NS1 et $p = 0,078$ pour les Immunoglobulines G.

2.3 Relation entre l'infection à DENV et les paramètres biologiques (plaquettes, CRP)

Tous les 204 échantillons analysés dans cette étude ont fait l'objet de numération plaquettaire et de dosage des protéines C-réactives.

Sur l'ensemble des échantillons testés, 26,96 % (55/204) avaient une thrombopénie (taux de plaquettes $< 150000/\text{mm}^3$) parmi lesquels 9,09 % (5/55) étaient positifs aux Immunoglobulines G (IgG+), 1,81 % (1/55) positifs aux Immunoglobulines M(IgM+) et 29,09% (16/55) positifs à l'antigène NS1(Ag NS1+). Plus de la moitié (54,41 % soit 111/204) des échantillons avaient un taux de plaquettes normal (entre 150000 et 300000 plaquettes / mm^3). Parmi eux, nous avons trouvé 8,10 % (9/111) d'Immunoglobulines G+; 2,70 % (3/111) d'Immunoglobulines M+ et 20,72 % (23/111) d'antigènes NS1+. A ce niveau, le taux de plaquettes comparé à la positivité aux Immunoglobulines G et Immunoglobulines M n'était pas statistiquement significatif avec $p=0,787$ et $p=0,939$ respectivement. En revanche, il y avait une différence statistiquement significative

entre le taux de plaquettes et la positivité à l'antigène NS1 ($p = 0,046$). Plus de dix-huit pour cent (18,62 % soit 38/204) des patients avaient un taux de plaquettes élevé. Parmi eux 7,89 % (3/38) étaient positifs à l'antigène NS1, 5,26 % (2/38) aux anticorps Immunoglobulines G et 2,62 % (1/38) aux anticorps Immunoglobulines M. Nous n'avons pas trouvé d'association statistiquement significative entre la positivité à ces trois marqueurs et le taux élevé de plaquettes ($p=0,787$, $p=0,939$ et $p=0,543$ respectivement pour les Ac Immunoglobulines G, Immunoglobulines M et l'antigène NS1).

En ce qui concerne les CRP, 8,77 % (5/57) étaient positifs aux Immunoglobulines G, 3,50 % (2/57) aux Immunoglobulines M et 26,31 % (15/57) à l'antigène NS1 parmi les 27,94 % (57/204) d'échantillons qui avaient des taux de CRP normaux. 72,05 % (147/204) des patients avaient des taux de CRP élevés dont 7,48 % (11/147) étaient positifs aux Immunoglobulines G, 2,04 % (3/147) aux Immunoglobulines M et 18,36 % (27/147) à l'antigène NS1 (tableau III). Nous n'avons pas observé de différences statistiquement significatives entre le taux de CRP et la positivité à ces trois marqueurs de DENV avec des valeurs de $p=0,478$, de $p=0,430$ et de $p=0,143$ respectivement pour les a Immunoglobulines G, les Immunoglobulines M et l'antigène NS1.

2.4 Relation entre DENV, paludisme et paramètres biologiques

Parmi les 204 patients, 171 (83,8 %) avaient une goutte épaisse négative contre 33 (16,2 %) qui avaient une goutte épaisse positive donc souffraient du paludisme. Parmi les patients ayant une goutte épaisse positive, seule une personne (3,03 % soit 1/33) avait un test positif aux anticorps de type Immunoglobulines M et Immunoglobulines G. Au niveau des patients ayant un test antigène NS1 positif, nous avons obtenu 04 résultats positifs à la goutte épaisse. Des différences non statistiquement significatives ont été observées entre la positivité au test de paludisme et celle des trois marqueurs de la dengue ($p = 0,231$, $p = 0,590$, $p = 0,139$ respectivement).

Sur 57 échantillons ayant des résultats CRP normaux, nous avons obtenu 04 gouttes épaisses positives soit 7,02%. Par contre, sur 147 échantillons ayant une CRP élevée, 29 (19,73 %) avaient une goutte épaisse positive. Ce qui est statistiquement significatif avec $p = 0,018$.

Sur 55 cas de thrombopénies, il y avait 19 soit 34,54 % cas de gouttes épaisses positives contre 9,91 % (11/111) chez les patients ayant des taux normaux de plaquettes et contre 8,57 % (3/35) chez les patients ayant une thrombocytose. La différence était statistiquement significative ($p = 0,0001$).

2.5 Résultats de la PCR en fonction des TDR

Sur les 204 échantillons testés par TDR, 83 (soit 53 échantillons positifs et 30 échantillons négatifs) ont pu être passés à la RT-PCR en temps réel. Tous les 53 échantillons avaient au moins un des trois marqueurs de DENV positifs. Parmi les 53 échantillons positifs au TDR, seuls 02 soit 3,77 % ont été confirmés positifs par la RT-PCR. Aussi, tous les 30 échantillons négatifs au TDR ont été confirmés négatifs par la RT-PCR en temps réel.

Tableau III : Relation entre infection à DENV, taux de plaquettes et de CRP

Caractéristiques	AgNSI			IgG			IgM			
	Total	Positif n(%)	Négatif n(%)	p	Positif n(%)	Négatif n(%)	p	Positif n(%)	Négatif n(%)	p
plaquettes/	55	16 (29,09)	39 (70,90)		5 (9,09)	50 (90,90)		1 (1,81)	54 (98,18)	
mm3	111	23 (20,72)	88 (79,27)	0,046	9 (8,10)	102 (91,89)	0,787	3 (2,70)	108 (97,29)	0,939
	$\leq X \leq 300.000$									
	38	3 (7,89)	35 (92,10)		2 (5,26)	36 (94,73)		1 (2,63)	37 (97,36)	
CRP	57	15 (26,31)	42 (73,68)		5 (8,77)	52 (91,22)		2 (3,50)	55 (96,49)	
	147	27 (18,36)	120 (81,63)	0,208	11 (7,48)	136 (7,48)	0,759	3 (2,04)	144 (97,95)	0,543

3. Discussion

Les femmes étaient plus nombreuses à souffrir d'une infection aiguë à DENV avec 22,42 % (24/107) de tests positifs à l'antigène NS1 contre 18,55 % (18/97) chez les hommes. En revanche la positivité globale au niveau des trois marqueurs place les hommes en tête avec 35,05% (34/97) de marqueurs positifs contre 27,10 % (29/107) chez les femmes soit un sexe ratio de 1,17. Ces différences n'étaient cependant pas statistiquement significatives avec des valeurs de $p = 0,343$ pour l'antigène NS1 et $p = 0,078$ pour les Immunoglobulines G. Ces résultats indiquent que la maladie touche les deux sexes presque de façon équitable et sont proches de ceux d'une étude menée au Gabon et qui a trouvé un sexe ratio de 1,3 (13). Cependant, ces résultats infirment ceux d'une étude menée au Vietnam qui avait trouvé que les hommes étaient surreprésentés parmi les cas de dengue avec toutefois un risque plus élevé de développer la forme sévère de la maladie chez les sujets de sexe féminin (14).

L'âge moyen des patients positifs aux TDR de dengue était de $35,7 \pm 17,6$ ans. Cela est similaire à celui trouvé par Caron et al en 2013 au Gabon qui était de $32,2 \pm 16,2$ ans. Si la maladie de la dengue est historiquement associée à des populations pédiatriques surtout dans les régions d'hyper-endémie (15, 16), les infections aux DENV en fonction de l'âge de notre étude révèlent que même les adultes sont à risque. La tranche d'âge de 0 à 14 ans était la plus touchée par la phase aiguë de la maladie avec 24,35 % (19 /78) de TDR antigène NS1 positifs contre 18,39 % (16/87) chez les patients ayant 15 à 49 ans et 17,94 % (7/39) chez les patients ayant 50 ans et plus. Mais ces différences n'étaient pas statistiquement significatives. Ces résultats confirment ceux d'une étude réalisée en Malaisie qui a montré que les adultes ne sont pas épargnés de la menace de cette maladie (17).

Les résultats des trois marqueurs de DENV recherchés par TDR dans cette étude ont montré que 25,98 % (53/204) des patients n'étaient pas naïfs vis-à-vis des DENV. Cette prévalence est supérieure à celles trouvées dans les zones semi-urbaines de Kaya et de Zorgho qui étaient respectivement de 9,9 % et de 2,7 % en 2013 (18). Le niveau d'urbanisation entre ces trois localités à savoir Ouagadougou, Kaya et Zorgho pourrait expliquer ces différences surtout que l'on sait que la concentration des populations est un facteur propice à l'expansion de DENV (19). De plus, le fait que l'étude de Ridde et al (2014) n'ait pris en compte que les enfants de 0 à 10 ans pourrait expliquer cette différence. Une autre étude qui a été réalisée en 2003 sur six virus pathogènes humains dont celui de la dengue chez les femmes enceintes et les donneurs de sang en milieu rural et urbain au Burkina Faso (20), a révélé des prévalences de la dengue certes différentes en fonction des lieux de collecte des échantillons (26,3 % à Nouna ; 36,5 % à Ouagadougou) mais supérieures à celles que nous rapportons dans la présente étude. Ces différences pourraient s'expliquer par la qualité des tests utilisés dans chaque étude. Collenberg (2006) a utilisé des tests sérologiques ELISA alors que nous avons utilisé des tests de diagnostic rapide.

Notre étude a révélé une association statistiquement significative ($p = 0,046$) entre le taux de plaquettes et la positivité à l'antigène NS1. Elle a rapporté 16 cas positifs à l'antigène NS1 sur 55 cas de thrombopénie soit 29,09 %. Ces résultats sont nettement inférieurs à ceux rapportés dans d'autres études qui étaient de 87,17 % (Japon) et de 71 % (Pakistan) (21, 22). Notons que ces études ont porté sur des cas de dengue hémorragique et de dengue avec syndrome de choc uniquement alors que la nôtre a concerné toutes les formes de dengue (DF, DHF, DSS). Nous pensons à ce titre que la thrombopénie est probablement observée occasionnellement dans les DF, mais est une caractéristique constante et l'un des critères de diagnostic dans les DHF et DSS.

Nous n'avons pas observé de différences statistiquement significatives entre le taux de CRP et la positivité à ces trois marqueurs de DENV. Par contre 87,87 % (29 /33) des patients qui avaient des gouttes épaisses positives avaient également des taux de CRP élevés. Ce qui était statistiquement significatif avec $p = 0,018$. Ces résultats corroborent ceux d'une étude menée à Taiwan qui a montré que le taux de CRP était utile pour distinguer les patients atteints de paludisme par rapport à ceux atteints de la dengue, avec des valeurs de CRP significativement plus élevées chez les paludéens que chez des patients souffrant de dengue (23).

L'un des enjeux de cette étude était de savoir si, à partir de données biologiques moins onéreux comme le taux de plaquettes, le taux de CRP, on pouvait établir des possibilités de distinguer le paludisme de la dengue dans un contexte d'endémie de ces deux maladies. Cela est crucial à notre sens car nous sommes dans un pays à ressources limitées où les tests de diagnostic spécifiques de la dengue ne sont disponibles que dans très peu de laboratoires et sont très coûteux (16). Le niveau de CRP a été décrit comme un outil utile, sensible et simple pour identifier les patients à faible risque de paludisme pendant les épidémies de dengue (24)

Notre étude a montré d'ailleurs que la combinaison des résultats de taux de plaquettes et de taux de CRP devrait permettre aux personnels soignants de différencier le paludisme de la dengue. Cependant, en cas de disponibilité des tests de diagnostic du paludisme et de la dengue, il est clair que le diagnostic différentiel se basera sur les résultats de ces tests. En effet, nos résultats ont montré des différences statistiquement significatives entre la thrombopénie et la positivité aux antigènes NS1 de DENV ($p = 0,046$) ainsi que la thrombopénie et la positivité à la goutte épaisse ($p = 0,0001$). En plus, une association statistiquement significative a été observée entre la positivité à la goutte épaisse et l'élévation du taux de CRP ($p = 0,018$). Ainsi, l'association thrombopénie, taux de CRP normal et une goutte épaisse négative pourraient orienter vers la dengue tandis qu'une thrombopénie conjuguée à un taux de CRP élevé pourrait orienter vers le paludisme. Au regard du nombre de cas élevé de paludisme identifié chaque année au Burkina Faso, des coinfections ne sont pas à exclure d'où la nécessité de prendre avec prudence ces propositions de diagnostic différentiel.

Dans cette étude, il n'a pas été possible d'effectuer les bilans paracliniques (numération globulaire complète, tests d'exploration des fonctions hépatiques) qui auraient été utiles pour une description du profil clinique permettant une comparaison avec les critères de classification de l'OMS 2009 et avec les caractéristiques cliniques de cas de dengue hémorragique observés au département des maladies infectieuses du CHU Yalgado Ouédraogo, à Ouagadougou (25). La température des patients lors des consultations a été la seule donnée clinique que nous avons pu obtenir. Aussi, certains symptômes clés (hépatomégalie, sensibilité abdominale à la palpation, signes de détresse respiratoire) et d'autres signes cliniques (tension artérielle, pouls) utilisés pour déterminer la gravité de la dengue n'ont pas été utilisés par manque de données. Tous les symptômes non signalés dans le questionnaire étaient considérés comme absents. Cette absence d'informations spécifiques et de renseignements sur la durée de la fièvre ont sérieusement limité notre capacité à identifier les infections primaires et secondaires ou d'exclure de faux positifs ou encore de confirmer les faux négatifs qui pourraient découler de la sensibilité et de la spécificité limitées des TDR (26, 27).

Dans cette étude nous avons cherché à comparer les résultats de la PCR en temps réel et ceux des TDR. Deux échantillons se sont avérés positifs à la PCR sur 53 échantillons positifs à au moins un des trois marqueurs recherchés par TDR de dengue. Cependant, il faut noter que sur les 53 TDR positifs, 42 étaient antigène NS1+, donc susceptibles d'être positifs à la PCR. En effet, la présence

de l'antigène NS1 correspond en grande partie à la phase de virémie de la dengue. Le taux de confirmation des TDR par la PCR est de 4,8% par rapport à la positivité aux Ag NS1. Une étude récente a rapporté un taux de confirmation de cas suspects de dengue TDR positifs par la RT-PCR à 54,3 % lors de l'épidémie de 2016 au Burkina Faso. Notons que les réactifs utilisés lors de cette étude provenaient du CDC Atlanta et que la différence pourrait s'expliquer par la sensibilité des amorces et des sondes (28) Une évaluation de la RT-PCR menée au Brésil a montré que cette technique donnait de meilleures performances dans la phase symptomatique précoce (début des signes < 5 jours) de dengue et était indiquée pour confirmer le diagnostic de la dengue (29). Etant donné que la période de début des signes n'a pas été déterminée avec précision dans la présente étude, nous ne pouvons exclure la possibilité que l'ARN viral soit déjà dégradé au moment du prélèvement sanguin.

Ces résultats peuvent également s'expliquer par la qualité des TDR utilisés (spécificité) mais aussi par des réactions croisées avec d'autres *Flavivirus*. Une surveillance entomologique des arbovirus effectuée au Burkina Faso de 1983 à 1986 a permis l'isolement de 59 souches virales à partir de 9 espèces de moustiques (30). Plus récemment, une étude réalisée dans notre pays fournit des informations entomologiques assez intéressantes avec 97,9% de moustiques du genre *Culex* (moustique vecteur du virus West-Nile) retrouvés à Ouagadougou sur un total de 3873 moustiques capturés entre Décembre 2013 et Janvier 2014 (31). En outre, une étude menée au Nigéria a montré que 48% des patients avaient eu une infection à un arbovirus. Parmi eux, 67,7% avaient des anticorps neutralisants contre les DENV, 50% contre le virus Chikungunya, 25% contre le virus West-Nile et 8,7% contre le virus de la fièvre jaune (32). Au regard des conditions environnementales assez proches, nous pensons qu'il est tout à fait possible que d'autres arbovirus comme le West-Nile soient en circulation dans notre pays. Or, une étude menée à Porto-Rico a trouvé 56% de réactions croisées entre les antigènes de West-Nile et DENV avec les tests sérologiques et aucune réactivité croisée avec la RT-PCR (26).

En dépit de ces limites, nous considérons que cette étude exploratoire est utile car elle fournit des informations sur la présence de la dengue au Burkina Faso et sur les défis qu'elle pose au système national de santé habitué à la lutte contre le paludisme.

Conclusion

Dans cette étude nous avons pu confirmer l'implication des arbovirus de la dengue dans des cas de maladie au Burkina Faso et nous proposons des pistes de diagnostic différentiel entre la dengue et le paludisme grâce à des tests moins onéreux (numération plaquettaire, CRP, goutte épaisse) dans un contexte endémique et de pauvreté. Cette étude nous a permis d'avoir une idée de la prévalence des virus de la dengue chez les patients cliniquement suspects dans la ville de Ouagadougou. L'étude met à la disposition des professionnels de la santé et des populations des données utiles quant à la situation réelle de la maladie de la dengue à Ouagadougou. Elle revêt également d'une grande importance dans la prévention et la surveillance de cette maladie à extension très rapide.

Conflits d'intérêts

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le l'hôpital Saint Camille de Ouagadougou, le Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni/Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique (CERBA/LABIOGENE), et le Centre Médical les Opportunités (CMO) pour leur précieuse aide dans la collecte des échantillons.

Références bibliographiques

1. **Chen R, Vasilakis N.** Dengue--quo tu et quo vadis? *Viruses*. 2011;3(9):1562-608.
2. **Rice CM, Lenches EM, Eddy SR, Shin SJ, Sheets RL, Strauss JH.** Nucleotide sequence of yellow fever virus: implications for flavivirus gene expression and evolution. *Science*. 1985;229(4715):726-33.
3. **Westaway EG, Mackenzie JM, Khromykh AA.** Kunjin RNA replication and applications of Kunjin replicons. *Advances in virus research*. 2003;59:99-140.
4. **Allison SL, Tao YJ, O'Riordain G, Mandl CW, Harrison SC, Heinz FX.** Two distinct size classes of immature and mature subviral particles from tick-borne encephalitis virus. *Journal of virology*. 2003;77(21):11357-66.
5. **Baum A, Sachidanandam R, Garcia-Sastre A.** Preference of RIG-I for short viral RNA molecules in infected cells revealed by next-generation sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(37):16303-8.
6. **Gritsun TS, Gould EA.** Direct repeats in the 3' untranslated regions of mosquito-borne flaviviruses: possible implications for virus transmission. *The Journal of general virology*. 2006;87(Pt 11):3297-305.
7. **Thurner C, Witwer C, Hofacker IL, Stadler PF.** Conserved RNA secondary structures in Flaviviridae genomes. *The Journal of general virology*. 2004;85(Pt 5):1113-24.
8. **Roche C, Cassar O, Laille M, Murgue B.** Dengue-3 virus genomic differences that correlate with in vitro phenotype on a human cell line but not with disease severity. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2007;9(1):63-9.
9. **OMS.** . Organisation mondiale de la Santé. Dengue et dengue hémorragique. Aide mémoire n°117 2012. . 2012.
10. **Amarasinghe A, Kuritsk JN, Letson GW, Margolis HS.** Dengue virus infection in Africa. *Emerging infectious diseases*. 2011;17(8):1349-54.
11. **Gonzalez JP, Du Saussay C, Gautun JC, McCormick JB, Mouchet J.** [Dengue in Burkina Faso (ex-Upper Volta): seasonal epidemics in the urban area of Ouagadougou]. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique et de ses filiales*. 1985;78(1):7-14.
12. **Messina JP, Brady OJ, Scott TW, Zou C, Pigott DM, Duda KA, et al.** Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. *Trends in microbiology*. 2014;22(3):138-46.
13. **Caron M, Grard G, Paupy C, Mombo IM, Bikie Bi Nso B, Kassa Kassa FR, et al.** First evidence of simultaneous circulation of three different dengue virus serotypes in Africa. *PLoS one*. 2013;8(10):e78030.
14. **Anders KL, Nguyet NM, Chau NV, Hung NT, Thuy TT, Lien le B, et al.** Epidemiological factors associated with dengue shock syndrome and mortality in hospitalized dengue patients in Ho Chi Minh City, Vietnam. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2011;84(1):127-34.
15. **Kalayanarooj S, Nimmannitya S.** Clinical presentations of dengue hemorrhagic fever in infants compared to children. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet*. 2003;86 *Suppl 3*:S673-80.
16. **Witayathawornwong P.** DHF in infants, late infants and older children: a comparative study. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*. 2005;36(4):896-900.
17. **Tee HP, How SH, Jamalludin AR, Safhan MN, Sopian MM, Kuan YC, et al.** Risk factors associated with development of dengue haemorrhagic fever or dengue shock syndrome in adults in Hospital Tengku Ampuan Afzan Kuantan. *The Medical journal of Malaysia*. 2009;64(4):316-20.
18. **Ridde V, Carabali M, Ly A, Druetz T, Kouanda S, Bonnet E, et al.** The need for more research and public health interventions on dengue Fever in Burkina Faso. *PLoS neglected tropical diseases*. 2014;8(6):e2859.

19. **Gubler DJ.** Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. *Oxon.* 1997;1-22.
20. **Collenberg E OT, Ganame´ J, Fick- enscher H, Kynast-Wolf G, et al.** Sero- prevalence of six different viruses among preg- nant women and blood donors in rural and urban Burkina Faso: a comparative analysis. *J Med Virol* 2006, 78: 683–692.
21. **Saito M, Oishi K, Inoue S, Dimaano EM, Alera MT, Robles AM, et al.** Association of increased platelet-associated immunoglobulins with thrombocytopenia and the severity of disease in secondary dengue virus infections. *Clinical and experimental immunology.* 2004;138(2):299-303.
22. **Khan DM, Kuppusamy K, S S, V RM.** Evaluation of thrombocytopenia in dengue infection along with seasonal variation in rural melmaruvathur. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR.* 2014;8(1):39-42.
23. **Ho TS, Wang SM, Lin YS, Liu CC.** Clinical and laboratory predictive markers for acute dengue infection. *Journal of biomedical science.* 2013;20:75.
24. **Epelboin L, Boule C, Ouar-Epelboin S, Hanf M, Dussart P, Djossou F, et al.** Discriminating malaria from dengue fever in endemic areas: clinical and biological criteria, prognostic score and utility of the C-reactive protein: a retrospective matched-pair study in *French Guiana. PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(9):e2420.
25. **Mamoudou S, Boushab BM.** [Hemorrhagic form of dengue fever observed at the Infectious Diseases Department CHU Yalgado Ouedraogo, Burkina Faso]. *Pan Afr Med J.* 2016;23:168.
26. **Hunsperger E, Beltran M, Acosta LN, Jordan-Munoz J, Torres J, Luce R, et al.** Serological evaluation of suspected West Nile virus human cases following its introduction during a dengue outbreak in Puerto Rico in 2007. *Clinical and vaccine immunology : CVI.* 2011;18(6):978-83.
27. **Tontulawat P, Pongsiri P, Thongmee C, Theamboonlers A, Kamolvarin N, Poovorawan Y.** Evaluation of rapid immunochromatographic NS1 test, anti-dengue IgM test, semi-nested PCR and IgM ELISA for detection of dengue virus. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health.* 2011;42(3):570-8.
28. **Tarnagda Z, Cisse A, Bicaba BW, Diabougua S, Sagna T, Iboudo AK, et al.** Dengue Fever in Burkina Faso, 2016. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(1):170-2.
29. **Levi JE, Tateno AF, Machado AF, Ramalho DC, de Souza VA, Guilarde AO, et al.** Evaluation of a commercial real-time PCR kit for detection of dengue virus in samples collected during an outbreak in Goiania, Central Brazil, in 2005. *Journal of clinical microbiology.* 2007;45(6):1893-7.
30. **Robert V, Lhuillier M, Meunier D, Sarthou JL, Monteny N, Digoutte JP, et al.** [Yellow fever virus, dengue 2 and other arboviruses isolated from mosquitos, in Burkina Faso, from 1983 to 1986. Entomological and epidemiological considerations]. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique.* 1993;86(2):90-100.
31. **Ridde V, Agier I, Bonnet E, Carabali M, Dabire KR, Fournet F, et al.** Presence of three dengue serotypes in Ouagadougou (Burkina Faso): research and public health implications. *Infectious diseases of poverty.* 2016;5:23.
32. **Baba M, Logue CH, Oderinde B, Abdulmaleek H, Williams J, Lewis J, et al.** Evidence of arbovirus co-infection in suspected febrile malaria and typhoid patients in Nigeria. *Journal of infection in developing countries.* 2013;7(1):51-9.