

## Mécanismes physiopathologiques de la dengue : revue critique des hypothèses

Deparis X<sup>1</sup>, Maréchal V<sup>2</sup>, Matheus S<sup>3</sup>

1. Département d'épidémiologie et de santé publique, IRBA-IMTSSA, Le Pharo, Marseille, France.

2. Centre de Recherche des Cordeliers, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, UMRS 872, Paris, France.

3. Laboratoire de Virologie, Centre National de Référence des Arbovirus et Virus Influenza, Institut Pasteur de la Guyane, Cayenne, département de la Guyane.

*Med Trop* 2009; **69** : 351-357

**RÉSUMÉ** • La dengue est une arbovirose transmise par les moustiques *Aedes*. Il existe 4 virus de la dengue (DENV-1, 2, 3, 4). Cette arbovirose est la plus importante en termes de morbidité et de mortalité dans la zone intertropicale. Selon l'OMS, l'infection se traduit par des cas asymptomatiques, des fièvres de dengue de bon pronostic, ou des chocs de dengue pouvant conduire au décès. Depuis 40 ans, l'hypothèse immunologique des anticorps facilitants est considérée comme l'explication majeure de la physiopathologie de la dengue. Or, la sévérité de la dengue ne se traduit pas que par le choc de dengue, et de nombreuses observations permettent de remettre en cause la validité de l'hypothèse des anticorps facilitants. Une méta-analyse pourrait être une des solutions à ce débat dont l'enjeu est la fabrication rapide de vaccins monovalents contre la dengue.

**MOTS-CLÉS** • Dengue. Anticorps facilitants. Épidémiologie. Physiopathologie. Choc de dengue.

### PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF DENGUE FEVER: CRITICAL REVIEW OF CURRENT CONCEPTS

**ABSTRACT** • In the 20th century dengue fever became one of the leading causes of morbidity and mortality throughout the tropics. The dengue virus is an arbovirus transmitted by *Aedes* mosquitoes. There are four distinct serotypes of dengue arbovirus (DENV-1, 2, 3, 4). According to the World Health Organization, a person infected by one of the dengue viruses can develop symptoms ranging from the classical self-limiting form characterized by high temperature, headache, myalgia, and arthralgia to the severe, potentially fatal, form known as dengue shock syndrome. For over 40 years the main explanation for the pathogenesis of dengue has been based on the «antibody-dependent enhancement» (ADE) concept stating that enhancing antibodies acquired during a primary infection increase the number of infected cells, and thus the level of viremia, during secondary infection. However the severity of dengue is not limited to dengue shock syndrome and there are many cases that do not conform to the ADE concept. A meta-analysis could provide crucial information for resolving this controversy and open the way for development of a monovalent vaccine against the dengue virus as for the closely related yellow fever virus.

**KEY WORDS** • Dengue. Epidemiology. Antibody-dependent enhancement. Dengue shock syndrome.

Parmi les arboviroses, c'est la dengue qui est le plus sérieux problème de santé publique dans les régions intertropicales où elle sévit. C'est la première cause de fièvre hémorragique virale dans le monde. Dans le Sud-Est Asiatique, elle représente l'une des premières causes de décès des enfants. L'OMS estime que tous les ans, parmi les 2 milliards de personnes exposées au risque de faire une dengue, plus de 100 millions sont infectées et on observe plus de 20 000 décès. Par ailleurs, cette infection fait maintenant partie des maladies du voyageur au retour des tropiques.

Le virus de la dengue appartient à la famille des *Flaviviridae* et au genre *Flavivirus*. Il existe 4 virus différents ou sérotypes (DENV-1, 2, 3, et 4). L'infection par un sérotype entraîne une immunité protectrice définitive contre ce sérotype, mais pas contre les autres sérotypes. Ainsi, l'homme pourrait faire quatre fois la dengue durant sa vie. La première infection est désignée par le terme de dengue ou d'infection primaire, la deuxième par le terme de dengue ou d'infection secondaire et à partir de la troisième, le terme de dengue multiple est parfois employé. Dans cet article, les infections autres que primaires seront qualifiées de secondaires.

L'homme représente le principal réservoir de la dengue. Les vecteurs sont toujours des moustiques du genre *Aedes*. Sur le plan épidémiologique, on peut schématiquement distinguer 2 zones. Des zones endémiques où plusieurs sérotypes circulent en permanence. Il s'agit essentiellement du Sud-Est Asiatique et de l'Amérique du Sud. Des zones épidémiques, Caraïbes, îles du Pacifique et côtes orientales de l'Afrique principalement, où les épidémies sont souvent explosives : le taux d'attaque peut atteindre 40 à 50% de la population exposée.

Sur le plan clinique, l'infection peut être asymptomatique sans que l'on connaisse précisément la proportion de ces formes. Lorsque l'infection est symptomatique, les manifestations sont assez polymorphes. L'OMS, dans un guide publié régulièrement depuis les années 70, distingue la dengue classique ou DF (Dengue Fever), a priori bénigne, de la dengue hémorragique ou DHF (Dengue Haemorrhagic Fever). Au sein des cas classés DHF, 4 stades de sévérité existent, les stades 3 et 4 étant les seuls réellement sévères : ils correspondent à la dengue hémorragique avec syndrome de choc ou DSS (Dengue Shock Syndrome). Actuellement, des cas de dengue hémorragique sont rapportés dans toute l'Asie du Sud-Est, l'Inde, les îles du Pacifique, l'Amérique Centrale, l'Amérique du Sud et les Caraïbes. En Afrique, quelques cas hémorragiques sporadiques ont été notés.

• Correspondance : xavier.deparis@wanadoo.fr

La physiopathologie des cas de dengue grave reste méconnue. Elle est certainement plurifactorielle. La dengue est susceptible de provoquer de graves atteintes hépatiques et neurologiques et de provoquer une aplasie médullaire (1-3). Seule la physiopathologie des cas de dengue avec syndrome de choc a fait l'objet d'étude et de spéculations. Deux modifications principales sont observées durant le syndrome de choc : l'augmentation de la perméabilité vasculaire entraînant une perte de plasma avec choc hypovolémique et les troubles de l'hémostase. L'intensité du choc est directement liée à l'intensité de la fuite plasmatisque du fait de l'hypoprotidémie et de l'hypovolémie induites par la déplétion brutale du compartiment vasculaire. La fuite plasmatisque a lieu dans les territoires capillaires expliquant la survenue d'œdème séreux, en particulier des épanchements pleuraux (1). Le choc doit être distingué des hémorragies dues à la dengue, épistaxis, gingivorragies, etc., qui sont fréquentes et dont l'intensité n'est pas corrélée à la sévérité de la maladie (4, 5). Les mécanismes à l'origine de la fuite plasmatisque ne sont pas connus ; ils mettent toutefois en jeu des altérations transitoires des endothéliums vasculaires.

L'hypothèse de l'*Antibody Dependent Enhancement* (ADE) ou augmentation de l'infection dépendante des anticorps, soutenue par l'américain Scott Halstead, est l'hypothèse majeure retenue depuis environ 40 ans pour expliquer l'apparition du choc de dengue. Elle est née de constatations épidémiologiques dans les années 60 en Asie du Sud-Est où la dengue hémorragique survenait essentiellement au cours d'infection secondaire, que certains ont considéré comme un facteur de risque de DHF : c'est l'hypothèse de l'infection séquentielle. L'hypothèse de l'ADE explique celle de l'infection séquentielle en affirmant que des anticorps non-neutralisants pour un second sérotype pourraient être acquis lors d'une infection primaire. Ces anticorps non-neutralisants seraient capables de former des complexes avec un virus dengue d'un sérotype hétérologue acquis lors d'une infection secondaire. Ces complexes faciliteraient la pénétration du virus hétérologue dans les monocytes et augmenteraient sa capacité à répliquer. Lors de la lyse massive des monocytes, une concentration excessive de médiateurs vasoactifs et procoagulants serait rapidement atteinte, entraînant la fuite plasmatisque.

Bien que très élégante sur un plan conceptuel, l'implication du mécanisme de l'ADE n'a jamais pu être démontrée *in vivo* (6). Également, la survenue avérée de choc de dengue lors d'infections primaires ne peut pas être expliquée par l'hypothèse de l'ADE. Pour expliquer la physiopathologie du choc de dengue, deux opinions existent et qui s'opposent : celle qui soutient l'hypothèse de l'ADE, majoritaire par le nombre des publications, et celle soutenue par un petit nombre de scientifiques et qui tend à remettre en cause le rôle de l'ADE. Ces différences d'opinions ne seraient pas d'une importance considérable si elles n'avaient pas de conséquence sur la stratégie vaccinale. En effet, selon l'hypothèse de l'ADE, seul un vaccin tétravalent doit être utilisé : les difficultés techniques liées à la réalisation d'un tel vaccin ont jusqu'à présent fait échouer toute mise sur le marché. Par contre, si ce sont des facteurs liés au virus (virulence et inoculum viral) et à l'hôte qui expliquent la survenue des cas de dengue grave, il est possible d'envisager à plus court terme la fabrication de vaccins monovalents contre la dengue (6).

L'objectif de cet article est ici de faire le point sur la validité de l'hypothèse de l'ADE pour expliquer la survenue des cas sévères de dengue, en commençant par un rapide rappel historique sur l'origine de l'ADE, puis en s'interrogeant sur quelques critères permettant d'évaluer la pertinence d'une relation causale existant entre l'hypothèse de l'ADE et la gravité des cas de dengue.

## Quand et comment est née l'hypothèse de l'ADE ?

Jusqu'aux années 1950, la dengue était considérée comme une fièvre tropicale bénigne. En Asie du Sud-Est, des épidémies de fièvre hémorragique survinrent peu après la fin de la deuxième guerre mondiale. Les premières éclatèrent en 1953 puis 1956 à Manille aux Philippines. Au départ, l'hypothèse d'une nouvelle fièvre hémorragique fut émise (7, 8) avant que les virus dengue ne fussent découverts comme étant à l'origine des épidémies au début des années 1960 (7-9). Une autre épidémie de dengue avec des cas hémorragiques survint ensuite en Thaïlande à Bangkok en 1958 (10, 11). Dans les années qui suivirent, des cas de dengue hémorragique furent déclarés dans plusieurs grandes villes d'Asie du Sud-Est : Singapour, Saigon, Penang, Kuala Lumpur, Calcutta et plusieurs petites villes de Thaïlande, Malaisie ou Vietnam, suivant apparemment une extension parallèle aux routes et aux ports des principaux axes commerciaux (11). A Calcutta, en 1963, des cas de dengue graves primaires comme secondaires survinrent chez des adultes pour la première fois depuis la deuxième guerre mondiale (11, 12). Dans le milieu des années 1960, la dengue devint un important problème de santé publique dans tout le Sud-Est Asiatique, alors que l'Amérique et les Caraïbes étaient encore épargnées par les cas de dengue sévère.

En octobre 1964, à la conférence organisée par l'OMS à Bangkok, il fut décidé de standardiser les définitions des cas cliniques de dengue. C'est ainsi qu'apparurent pour la première fois les terminologies de DF (Dengue Fever), et de DHF (Dengue Hemorrhagic Fever) pour caractériser les cas sévères ou mortels de dengue. A la demande de certains des participants, deux catégories avaient été distinguées à l'intérieur des DHF, les cas sans choc hypovolémique (DHF grade I ou II) et les cas avec choc hypovolémique (DSS ou DHF de grade III ou IV). Dans la très grande majorité des cas, la sévérité était due à un choc hypovolémique qui survenait surtout chez des enfants, entre 3 et 4 ans. Le taux d'incidence des DHF semblait augmenter avec la fréquence des infections secondaires dans la population exposée. L'infection secondaire fut interprétée comme un facteur favorisant la gravité de la dengue. Cette hypothèse épidémiologique fut dénommée théorie de l'infection séquentielle (13). L'implication d'un mécanisme immunologique, celui de la facilitation immunologique par des anticorps ou ADE (*Antibody Dependent Enhancement*) fut suspectée quelques années plus tard (14).

En 1981, une épidémie de dengue-2 se déclencha à Cuba. Sa survenue a servi la cause de l'hypothèse de l'infection séquentielle. En effet, l'épidémie survint 4 années après une première épidémie de dengue-1 durant laquelle aucun cas de dengue hémorragique n'avait été rapporté : l'épidémie avait été considérée comme bénigne. Durant l'épidémie de 1981, plus de 10 000 cas de dengue furent hospitalisés et 158 décès furent confirmés. La majorité des cas étaient des infections secondaires. A partir de ce moment, le mécanisme de la facilitation immunologique fut considéré comme la cause majeure de la survenue des cas de dengue grave (15). Des études épidémiologiques prospectives conduites en Asie du Sud-Est ont ensuite estimé que les cas de dengue hémorragique survenaient dans environ 2 à 4 % des infections secondaires (16-18) alors que les cas parmi les infections primaires étaient rares ou inexistantes.

Pourtant, beaucoup des critères ou des méthodes utilisés pour démontrer la validité de l'ADE étaient en conflit avec les observations d'autres équipes (19-22). Plusieurs questions restaient objectivement sans réponse, empêchant l'hypothèse de l'ADE de définitivement s'imposer comme un facteur causal de la sévérité des cas de dengue (6).

### L'ADE : de l'*in vitro* à l'*in vivo*. Analyse des arguments expérimentaux

Sur un plan expérimental, le mécanisme des anticorps facilitants a été fréquemment décrit *in vitro* pour de nombreux virus. En particulier, mis en présence d'anticorps induits par le virus amaril, ou par le virus de l'encéphalite japonaise, ou par celui de l'encéphalite à tique ou du West Nile, (18, 23-27) les virus de la dengue pénètrent plus facilement dans les monocytes, supposant l'existence d'anticorps facilitants induits par les flavivirus précédemment cités. Or, il n'y a jamais eu de conséquences notables engendrées par les infections successives auxquelles sont soumises les populations vivant dans les zones d'endémie de ces virus. Par exemple, et heureusement, le taux d'incidence des cas de DSS dans les populations vaccinées contre la fièvre jaune n'a jamais présenté d'augmentation significative. Des observations faites *in vivo* lors d'essais vaccinaux ont démontré qu'il n'y avait aucun élément en faveur de l'existence de l'ADE après l'infection par un virus de la dengue de sérotype 1 ou 2 chez des personnes auparavant immunisées contre la fièvre jaune ou contre l'encéphalite à tique (28-30). De plus, *in vitro*, l'ADE a fonctionné aussi bien avec des isolats de souches virales n'ayant pas induit de cas de dengue grave chez l'homme qu'avec des isolats ayant été à l'origine de cas sévères (20).

L'ADE aurait été démontrée *in vivo* chez le singe au cours de deux expérimentations conduites par le même laboratoire (18, 31-33). Mais ces expériences souffraient de plusieurs problèmes méthodologiques mis en exergue par Rosen (20, 33-35), et Monath (19) : l'élévation de la virémie ne fut observée qu'avec des singes qui développaient une infection secondaire avec un virus dengue-2 et les infections secondaires avec les autres sérotypes n'étaient pas suivies d'une augmentation de la virémie (18). Aucun des animaux ne développa d'infection sévère de dengue (18, 20, 34, 35). Enfin, l'analyse des données est contestable et ces expérimentations ne furent jamais reproduites (6, 19). Peu avant la parution des résultats précédents, une autre expérience conduite *in vivo* sur 39 singes gibbons étudiait l'effet de l'infection séquentielle par des virus de la dengue (36). Les auteurs concluaient que la virémie durant les infections secondaires était plus basse que durant les infections primaires et que l'infection primaire offrait aux animaux une protection croisée suffisante pour empêcher l'infection secondaire par le virus dengue-1. Ces données ont été confirmées dans une expérience à visée vaccinale durant laquelle des infections séquentielles étaient pratiquées chez des singes Rhesus (37, 38). Plus intéressant encore, durant les années 30, du plasma humain prélevé sur des cas de dengue au 3<sup>e</sup> ou 4<sup>e</sup> jour de maladie a été injecté à un groupe de volontaires humains incluant des individus qui avaient déjà fait une première dengue (11, 39, 40). Les auteurs rapportent que les cas de dengue étaient moins sévères parmi les volontaires qui avaient déjà fait une première dengue que dans la population des volontaires vierges d'infection antérieure. Par ailleurs, suivant l'hypothèse de l'ADE, le niveau de la virémie observée devrait être plus élevé durant les infections secondaires que durant les infections primaires. Si plusieurs études ont montré que le niveau de la virémie variait d'un sérotype à un autre et d'un virus à un autre à l'intérieur d'un même sérotype (41, 42), aucune n'a démontré de façon évidente que la virémie était plus importante durant les infections secondaires que durant les infections primaires (43, 44). Au contraire, en Asie comme dans la région Pacifique, il a été observé que le niveau de la virémie était plus important dans la population des infections primaires que dans celle des infections secondaires (41, 42, 43, 45).

### L'ADE est-elle un facteur de risque de la sévérité des cas de dengue ?

#### 1) Si l'ADE est le principal facteur de causalité expliquant la sévérité de la dengue, alors les cas sévères ou mortels d'infection primaire devraient être exceptionnels.

Beaucoup d'études ont rapporté la survenue de cas mortels d'infection primaire de dengue en Asie (7, 8, 11, 16, 45-52, 53) dans la région Pacifique (4, 54-56) ou dans la région des Caraïbes et de l'Amérique du Sud (57) ou bien encore en Grèce (58). Ces cas primaires mortels écartent tout rôle possible de l'ADE dans la sévérité de l'infection. Parmi les enquêtes publiées, nous commenterons quatre exemples que nous estimons suffisamment explicites.

Le premier est l'épidémie survenue à Athènes en 1927/28. Une étude en faveur de l'ADE a tenté de montrer que l'épidémie de 1928 était due à une co-circulation de virus dengue-1 et dengue-2 et que l'hypothèse de l'ADE pouvait expliquer la survenue de cas sévères de dengue. Quant à l'épidémie de 1927, il était très difficile d'en identifier la cause (59). Pourtant, en relisant les articles publiés dans les années trente par les médecins grecs de l'Institut Pasteur d'Athènes (39, 40), il apparaît clairement qu'aucun des 20 000 malades de 1927 n'a contracté la dengue en 1928, ceux-là étant définitivement protégés. En s'appuyant sur les prélèvements biologiques effectués sur des personnes âgées qui avaient connu cette époque, Rosen a démontré que le sérotype dengue-2 a bien circulé en Grèce mais bien après 1928 (58). L'épidémie de 1927/28 qui avait coûté la vie à 1 061 personnes était due à un virus de sérotype 1 et tous les cas survenus en 1927 et 1928 étaient des cas d'infection primaire, y compris les cas sévères et mortels.

Le second exemple est l'épidémie survenue en Thaïlande à Ubon en 1964 où 8 décès furent rapportés parmi des cas d'infection primaire de dengue (11, 47, 49, 51).

Le troisième exemple s'appuie sur les épidémies survenues dans le Sud du Pacifique. En 1972, Rosen a parfaitement décrit l'épidémie de dengue survenue sur l'île de Niue, durant laquelle des cas fatals de dengue primaire étaient survenus (56). A Tahiti, durant l'épidémie de dengue-3 de 1989, liée à l'introduction d'une souche virale d'origine indonésienne *via* la Nouvelle-Calédonie (60), 11% des cas de dengue classés DHF étaient des infections primaires de dengue, et deux des 4 cas fatals étaient des infections primaires de dengue âgés de plus de un an (4, 22).

Enfin, quatrième exemple, en 1998, une épidémie de dengue impliquant les sérotypes 2 et 3 est survenue au Nicaragua (61). Le sérotype circulant était d'origine asiatique. Parmi les cas de DHF, 15% des infections primaires recensées par l'étude ont été classées DHF et la survenue des cas de DHF/DSS n'était pas significativement liée aux cas d'infection secondaire. Les auteurs concluaient qu'à l'évidence, l'épidémiologie de la dengue pouvait varier d'un continent à l'autre et en fonction des sérotypes de dengue en cause.

Si des infections primaires peuvent être mortelles ou sévères, alors l'ADE n'est pas l'unique facteur de gravité.

#### 2) Si l'on admet que l'ADE est un facteur de gravité, alors les cas sévères de dengue devraient être plus nombreux dans les populations où les infections secondaires sont fréquentes (62).

Aucun cas de dengue hémorragique n'est survenu en Inde ou au Cambodge alors que la co-circulation de plusieurs sérotypes de dengue y était démontrée durant les années 50 à 60 (12). Même

observation en Amérique du Sud et dans les Caraïbes où, avant 1981, les épidémies de dengue n'étaient pas accompagnées de cas sévères, malgré la circulation simultanée de plusieurs sérotypes (63-67). En réalité, il semble que la virulence de souches d'origine asiatique introduites au début des années 1980 soit plus à même d'expliquer la survenue des cas sévères de dengue que le phénomène de l'ADE. En effet, le virus dengue-2 responsable de l'épidémie particulièrement sévère à Cuba en 1981 était d'origine asiatique, tout comme la souche dengue-3, à nouveau d'origine asiatique, introduite dans les années 1980 et 1990, qui fut responsable d'une nouvelle et sévère épidémie de dengue au Nicaragua et à Panama en 1994 (57, 68, 69). Depuis, ces souches circulent sur le continent sud-américain, favorisant la survenue de cas de dengue sévère.

Par ailleurs, les études en faveur de l'hypothèse des anticorps facilitants en Asie souffrent de plusieurs biais épidémiologiques, comme l'ont écrit Monath (19) et Rosen (33, 35, 43). En étudiant l'influence de l'âge sur la distribution des taux d'incidence dans la population exposée en Thaïlande, il est évident que le taux d'incidence de la dengue varie avec l'âge des populations (69-74). La prévalence des Ac anti-dengue montre que la majorité des enfants ont déjà eu au moins une infection par la dengue avant l'âge de 6 ans en Thaïlande (17, 75). Avant toute interprétation, il est nécessaire d'ajuster les taux d'incidence ou de prévalence observés sur l'âge des populations exposées (7, 19, 22, 74, 76, 77). Or, il n'existe pas de dénominateur fiable dans la plupart des pays d'endémie et peu de laboratoires sont capables de distinguer une infection secondaire d'une infection primaire (78, 79). Pour compliquer encore plus les études, une part des infections primaires n'est pas confirmée du fait de l'absence d'un deuxième prélèvement biologique, ce qui conduit à sous estimer encore plus les taux d'incidence des formes graves de dengue primaire (33, 35, 79, 80).

### 3) Quels sont les indicateurs de morbidité et de mortalité utilisés pour démontrer que l'ADE explique la survenue des cas sévères de dengue ? Quels sont les critères de jugement employés ?

Etudier la relation causale entre infection secondaire, ADE et sévérité de la maladie nécessite d'utiliser des indicateurs de mortalité et de morbidité. Dans les études épidémiologiques publiées en faveur de l'hypothèse de l'ADE, ces indicateurs sont rarement disponibles et il est difficile d'évaluer la réelle sévérité des cas primaires et secondaires de dengue. En réalité, la sévérité des cas de dengue est mal représentée par la classification de l'OMS (81) et le pronostic des cas n'est pas lié au seul fait que les cas soient des infections primaires ou secondaires. C'est ce qu'a montré une étude menée sur 408 cas de dengue hospitalisés à Tahiti entre 1989 et 1998 (4). La classification de l'OMS sur la sévérité des cas de dengue ne prend pas en compte la gravité des hépatites, des encéphalites ou encore des infections opportunistes pourtant fréquemment rapportées et à l'origine de cas mortels (4, 8, 11, 12, 39, 43, 46, 48, 82-95). Selon la classification de l'OMS, hépatite, encéphalite et infection opportuniste, en l'absence de choc, sont classés DF : il est donc possible de mourir d'une dengue bénigne ! L'incidence des encéphalites de dengue en Asie est probablement sous estimée car l'encéphalite n'est pas reconnue par l'OMS comme une complication sévère de la dengue, contrairement au choc hémorragique (96).

Apprécier la relation causale existant entre infection secondaire et sévérité des cas de dengue déclarés en utilisant uniquement la classification de l'OMS devient un exercice difficile (4, 96). C'est une des raisons pour lesquelles une révision des critères de classification adoptés par l'OMS a déjà été proposée par plusieurs auteurs (4, 6, 20).

### Existe-t-il un biais de publication en faveur de l'ADE ?

La majorité des articles scientifiques publiés dans les revues médicales à fort impact est en faveur de l'hypothèse de l'infection séquentielle et de l'ADE, hypothèse intellectuellement séduisante (6). Dans les plus grands journaux médicaux, il est remarquable que la quasi totalité des revues récemment publiées sur la dengue ne cite jamais explicitement les articles documentés qui vont à l'encontre de l'hypothèse des anticorps facilitants (97). Ces articles sont en général peu utilisés, pour ne pas dire oubliés, parmi les travaux de référence sur la dengue (4, 61, 98-100).

Par exemple, depuis 1981, les publications décrivant l'épidémie de dengue-2 à Cuba ont convaincu un grand nombre de scientifiques de la validité de l'hypothèse de l'infection séquentielle et de l'ADE. La littérature médicale cubaine n'est pourtant pas exempte de publications, jamais citées, aux résultats dérangeants à l'encontre de la théorie de l'ADE (101, 102). Ainsi, durant l'épidémie de 1981, des médecins hospitaliers cubains relatent que sur une série de 250 cas hospitalisés, il existait respectivement 54 et 63 cas de DHF/DSS parmi les 112 infections secondaires et les 138 infections primaires composant la série. Leur expérience les amène à conclure que l'infection secondaire n'est pas un facteur de risque de dengue sévère (103). Ces observations permettent d'entretenir le doute sur l'interprétation des données publiées lors de l'épidémie de 1981 à Cuba.

Nous avons aussi effectué une recherche bibliographique sur la base PubMed, de l'US National Library of Medicine and the National Institutes of Health. Depuis 2005, 18 publications ont été identifiées en utilisant les mots clés « dengue AND ADE » : l'hypothèse de l'ADE y est présentée comme un acquis et aucune thèse contraire n'est évoquée.

Dans ces conditions, en l'absence de méta-analyse, comment est-il possible de mener un débat objectif et raisonnable sur la question de la physiopathologie de la dengue ?

Comme Hammon l'écrivait déjà à propos de l'épidémie de Ubon durant laquelle des cas mortels de dengue primaire en Thaïlande ont été décrits (11), l'hypothèse de l'ADE est incapable d'expliquer la brutale émergence des épidémies de dengue hémorragique à la fin des années 50 en Asie du Sud-Est. Reprenant des critères plus classiques, comme le rôle propre du virus et de l'inoculum viral, les interactions virus-hôte et virus-vecteur (9, 22, 55, 98, 104-110) l'émergence des épidémies peut être expliquée.

### Arguments épidémiologiques

Les grandes épidémies de dengue hémorragique ont émergé à la fin des années 1950 dans le Sud-Est Asiatique dans de grandes mégapoles, toutes des cités portuaires. Elles se sont ensuite propagées le long des routes, mais elles ont toujours été limitées dans leur extension par les zones connues auparavant comme étant des zones d'endémie de dengue où la population était immunisée contre les sérotypes ruraux circulants. Rudnick avait expliqué que les épidémies de dengue hémorragique dans les cités portuaires étaient survenues brutalement du fait de l'introduction de souches virales particulièrement virulentes dans une population vierge. En effet, il avait isolé du virus dengue dans des populations de singes vivant dans la jungle de Malaisie. La dengue dispose d'un cycle selvatique en Asie (7, 57, 65, 70, 106, 111-115) et en Afrique de l'Ouest (70, 106,

## Mécanismes physiopathologiques de la dengue : revue critique des hypothèses

114, 116). Pour Rudnick, les souches selvatiques asiatiques possédaient un profil commun de virulence, étant depuis longtemps adaptées à leurs hôtes animaux et aux vecteurs forestiers, dont *Ae. albopictus* faisait partie (70). Sorties de leur environnement, ces souches virales pouvaient posséder un grand potentiel de virulence sur un hôte humain (7, 65, 106).

L'urbanisation galopante et l'introduction massive d'*Ae. aegypti* dès le début du 20<sup>e</sup> siècle a bouleversé cet écosystème en favorisant l'apparition d'épidémies urbaines de dengue hémorragique, alors que jusque là, la dengue était surtout présente en zone rurale (70). Une des explications de ce bouleversement épidémiologique serait le commerce intensif des singes *Cynomolgus*, habitants des jungles asiatiques, dès la fin de la deuxième guerre mondiale (11, 117). Des dizaines de milliers d'animaux sont partis en bateau à cette époque pour les Etats-Unis en transitant dans des grandes villes portuaires comme Manille, Bangkok, Singapour, etc. Ce commerce trouvait son origine dans les besoins en animaux pour la fabrication du vaccin anti-poliomyélitique (11). Ces singes en attente de départ étaient enfermés dans des cages posées sur les quais des ports. Ils ont été piqués par des *Ae. aegypti* qui se sont infectés avec des souches selvatiques capables d'induire des virémies suffisantes et donc particulièrement virulentes pour l'homme (114, 117). De grandes épidémies sont survenues dans les cités portuaires où les populations humaines étaient non immunes vis à vis de la dengue, alors que dans les zones rurales endémiques où circulaient depuis longtemps des virus peu virulents adaptés à *Ae. albopictus*, l'extension géographique des nouvelles souches a été évidemment plus lente, s'organisant en suivant les agglomérations situées sur les grands axes routiers et ferroviaires (11, 70). Petit à petit, cette situation a évolué vers un cycle endémo-épidémique de la dengue en Asie. C'est exactement ce que rapportent des études de séroprévalence menées durant les années 1950, en Malaisie. La séroprévalence de la dengue était plus élevée en zone rurale qu'en zone urbaine alors que jusqu'aux années 1980, la prévalence des cas de dengue hémorragique est restée plus élevée en zone urbaine qu'en zone rurale, pour s'équilibrer ensuite (70). L'hypothèse de Rudnick peut donc expliquer la distribution géographique particulière des épidémies de dengue au cours des années 50 à 60 en Asie du Sud-Est, contrairement à l'hypothèse de l'ADE (8).

### Conclusion

Durant les trente dernières années, la physiopathologie de la dengue a été le sujet d'un débat dont les conséquences directes ont été d'imposer la fabrication d'un vaccin tétravalent pour protéger les populations exposées, puisque la théorie des anticorps facilitants a été admise par l'OMS comme une référence officielle (118, 119). Pourtant, des faits avérés permettent de remettre en question la validité de la théorie de l'ADE. Une méta-analyse pourrait être une des solutions au débat. Remettre en cause l'hypothèse des anticorps facilitants pour expliquer la pathogénèse de la dengue, c'est ouvrir la voie à la fabrication de vaccins monovalents, beaucoup plus aisés à concevoir qu'un vaccin tétravalent.

Remerciement • Les auteurs remercient le MP Gaétan Texier pour sa relecture efficace.

### Références

- Burke T. Dengue haemorrhagic fever: a pathological study. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1968; 62 : 682-92.
- Murgue B, Cassar O, Guigon M, Chungue E. Dengue virus inhibits human haematopoietic progenitor growth *in vitro*. *J Infect Dis* 1997; 175 : 1497-501.
- Murgue B, Cassar O, Deparis X, Guigon M, Chungue E. Implication of macrophage inflammatory protein-1alpha in the inhibition of human haematopoietic progenitor growth by dengue virus. *J Gen Virol* 1998; 79 : 1889-93.
- Murgue B, Deparis X, Chungue E, Cassar O, Roche C. Dengue: an evaluation of dengue severity in French Polynesia based on an analysis of 403 laboratory-confirmed cases. *Trop Med Int Health* 1999; 4 : 765-73.
- Rodríguez Arias O, Pérez Pérez A, Despaigne Bicot A, Irraragiri Dorado CA. Caracterización de pacientes con diagnóstico presuntivo de dengue en el brote epidémico del año 1997. *Rev Cubana Med Trop* 2001; 53 : 24-7.
- Deparis X. A new approach to dengue epidemiology. Sequential infection and ADE Hypothesis: The Story of a dogma. Horizon Scientific Press ed, United Kingdom, 2006.
- George R. Dengue haemorrhagic fever in Malaysia: a review. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987; 18 : 278-83.
- Lum LC, Lam SK, George R, Devi S. Fulminant hepatitis in dengue infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1993; 24 : 467-71.
- Rosen L, Gubler D. The use of mosquitoes to detect and propagate dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg* 1974; 23 : 1153-60.
- Gubler DJ. The emergence of dengue/dengue hemorrhagic fever as a global public health problem. In « Saluzzo JF, Dodet B. Factors in the emergence of arbovirus diseases ». Elsevier ed, Paris, 1997, pp 83-92.
- Hammon WM. Dengue hemorrhagic fever-do we know its cause? *Am J Trop Med Hyg* 1973; 22 : 82-91.
- Johnson KM, Halstead SB, Cohen SN. Hemorrhagic fevers of Southeast Asia and South America: A comparative appraisal. *Prog Med Virol* 1967; 9 : 105-58.
- Halstead SB. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. VI. Hypotheses and discussion. *Yale J Biol Med* 1970; 42 : 350-62.
- Morens DM. Antibody-dependent enhancement of infection and the pathogenesis of viral disease. *Clin Infect Dis* 1994; 19 : 500-12.
- Halstead SB. Dengue haemorrhagic fever-a public health problem and a field for research. *Bull World Health Organ* 1980; 58 : 1-21.
- Thein S, Aung MM, Shwe TN, Aye M, Zaw A, Aye K, et al. Risk factors in dengue shock syndrome. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56 : 566-72.
- Burke DS, Nisalak A, Johnson DE, Scott RM. A prospective study of dengue infections in Bangkok. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38 : 172-80.
- Halstead SB. Immune enhancement of viral infection. *Prog Allergy* 1982; 31 : 301-64.
- Monath TP. The Arboviruses: epidemiology and ecology. In « Monath TP. The arboviruses; epidemiology and ecology ». CRC Press Boca Raton ed, Florida, 1988. pp 224-60.
- Rosen L. The Emperor's New Clothes revisited, or reflections on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1977; 26 : 337-43.
- Dechant EJ, Rigau-Pérez JG. Hospitalizations for suspected dengue in Puerto Rico, 1991-1995: estimation by capture-recapture methods. The Puerto Rico Association of Epidemiologists. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61 : 574-8.
- Deparis X, Roche C, Murgue B, Chungue E. Possible dengue sequential infection: dengue spread in a neighbourhood during the 1996/97 dengue-2 epidemic in French Polynesia. *Trop Med Int Health* 1998; 3 : 866-71.
- Fagbami A, Halstead SB, Marchette N, Larsen K. Heterologous flavivirus infection-enhancing antibodies in sera of Nigerians. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38 : 205-7.
- Phillipotts RJ, Stephenson JR, Porterfield JS. Antibody-dependent enhancement of tick-borne encephalitis virus infectivity. *J Gen Virol* 1985; 66 : 1831-7.
- Fagbami AH, Halstead SB, Marchette NJ, Larsen K. Cross-infection enhancement among African flaviviruses by immune mouse ascitic fluids. *Cytobios* 1987; 49 : 49-55.
- Gould EA, Buckley A. Antibody-dependent enhancement of yellow fever and Japanese encephalitis virus neurovirulence. *J Gen Virol* 1989; 70 : 1605-8.
- Goncalves AP, Engle RE, St Claire M, Purcell RH, Lai CJ. Monoclonal antibody-mediated enhancement of dengue virus infection *in vitro* and *in vivo* and strategies for prevention. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104 : 9422-7.
- Bancroft WH, Scott RM, Eckels KH, Hoke CH Jr, Simms TE, Jesrani KD et al. Dengue virus type 2 vaccine: reactogenicity and immunogenicity in soldiers. *J Infect Dis* 1984; 149 : 1005-10.
- McKee KT Jr, Bancroft WH, Eckels KH, Redfield RR, Summers PL, Russell PK. Lack of attenuation of a candidate dengue 1 vaccine (45AZ5) in human volunteers. *Am J Trop Med Hyg* 1987; 36 : 435-42.
- Monath TP. Epidemiology of yellow fever: Current status and speculations on future trends. In « Saluzzo JF, Dodet B, editors. Factors in the emergence of arbovirus diseases ». Elsevier ed, Paris, 1997, pp 143-56.

## Deparis X et Collaborateurs

31. Marchette NJ, Halstead SB, Falkler WA Jr, Stenhouse A, Nash D. Studies on the pathogenesis of dengue infection in monkeys. 3. Sequential distribution of virus in primary and heterologous infections. *J Infect Dis* 1973; 128 : 23-30.
32. Halstead SB. *in vivo* enhancement of dengue virus infection in rhesus monkeys by passively transferred antibody. *J Infect Dis* 1979; 140 : 527-33.
33. Rosen L. Disease exacerbation caused by sequential dengue infections: myth or reality? *Rev Infect Dis* 1989; 11 : S840-2.
34. Rosen L. Dengue hemorrhagic fever. *Bull Soc Pathol Exot* 1996; 89 : 91-3.
35. Rosen L. La pathogenèse de la dengue hémorragique : discussion critique des hypothèses actuelles. *Bull Soc Pathol Exot* 1986; 79 : 342-9.
36. Whitehead RH, Chaicumpa V, Olson LC, Russell PK. Sequential dengue virus infections in the white-handed gibbon (*Hylobates lar*). *Am J Trop Med Hyg* 1970; 19 : 94-102.
37. Halstead SB, Casals J, Shotwell H, Palumbo N. Studies on the immunization of monkeys against dengue. I. Protection derived from single and sequential virus infections. *Am J Trop Med Hyg* 1973; 22 : 365-74.
38. Halstead SB, Palumbo NE. Studies on the immunization of monkeys against dengue. II. Protection following inoculation of combinations of viruses. *Am J Trop Med Hyg* 1973; 22 : 375-81.
39. Levaditi C, Lepine P, Alphonse P, Bequignon R, Bijl P, Blanc G *et al.* Les ultraviruses des maladies humaines. Librairie Maloine ed, Paris, 1938.
40. Joyeux C. Précis de médecine coloniale. Troisième édition. Masson et Cie ed, 1944, pp 774-85.
41. Gubler DJ, Suharyono W, Lubis I, Eram S, Sulianti Saroso J. Epidemic dengue hemorrhagic fever in rural Indonesia. I. Virological and epidemiological studies. *Am J Trop Med Hyg* 1979; 28 : 701-10.
42. Gubler DJ, Suharyono W, Lubis I, Eram S, Gunarso S. Epidemic dengue 3 in central Java, associated with low viremia in man. *Am J Trop Med Hyg* 1981; 30 : 1094-9.
43. Kuberski T, Rosen L, Reed D, Mataika J. Clinical and laboratory observations on patients with primary and secondary dengue type 1 infections with hemorrhagic manifestations in Fiji. *Am J Trop Med Hyg* 1977; 26 : 775-83.
44. Gubler DJ, Suharyono W, Tan R, Abidin M, Sie A. Viraemia in patients with naturally acquired dengue infection. *Bull World Health Organ* 1981; 59 : 623-30.
45. Eram S, Setyabudi Y, Sadono TI, Sutrisno DS, Gubler DJ, Sulianti Saroso J. Epidemic dengue hemorrhagic fever in rural Indonesia. II. Clinical studies. *Am J Trop Med Hyg* 1979; 28 : 711-6.
46. Lum LC, Lam SK, Choy YS, George R, Harun F. Dengue encephalitis: a true entity? *Am J Trop Med Hyg* 1996; 54 : 256-9.
47. Halstead SB. Dengue and hemorrhagic fevers of Southeast Asia. *Yale J Biol Med* 1965; 37 : 434-54.
48. Kuo CH, Tai DI, Chang-Chien CS, Lan CK, Chiou SS, Liaw YF. Liver biochemical tests and dengue fever. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47 : 265-70.
49. Halstead SB, Yamarat C. Recent epidemics of hemorrhagic fever in Thailand. Observations related to pathogenesis of a «New» dengue disease. *Am J Public Health Nations Health* 1965; 55 : 1386-95.
50. Pancharoen C, Thisyakorn U. Dengue virus infection during infancy. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; 95 : 307-8.
51. Nimmannitya S, Halstead SB, Cohen SN, Margiotta MR. Dengue and chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962-1964. I. Observations on hospitalized patients with hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1969; 18 : 954-71.
52. Halstead SB, Udomsakdi S, Scanlon JE, Rohitayodhin S. Dengue and chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962-1964. V. Epidemiologic observations outside Bangkok. *Am J Trop Med Hyg* 1969; 18 : 1022-33.
53. Li FS, Yang FR, Song JC, Gao H, Tang JQ, Zou CH, *et al.* Etiologic and serologic investigations of the 1980 epidemic of dengue fever on Hainan Island, China. *Am J Trop Med Hyg* 1986; 35 : 1051-4.
54. Reed D, Maguire T, Mataika J. Type 1 dengue with hemorrhagic disease in Fiji: epidemiologic findings. *Am J Trop Med Hyg* 1977; 26 : 784-91.
55. Gubler DJ, Reed D, Rosen L, Hitchcock JR Jr. Epidemiologic, clinical, and virologic observations on dengue in the Kingdom of Tonga. *Am J Trop Med Hyg* 1978; 27 : 581-9.
56. Barnes WJ, Rosen L. Fatal hemorrhagic disease and shock associated with primary dengue infection on a Pacific island. *Am J Trop Med Hyg* 1974; 23 : 495-506.
57. Pinheiro F, Chuit R. Emergence of dengue hemorrhagic fever in the Americas. *Infect Med* 1998; 15 : 244-51.
58. Rosen L. Dengue in Greece in 1927 and 1928 and the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever: new data and a different conclusion. *Am J Trop Med Hyg* 1986; 35 : 642-53.
59. Halstead SB, Papaevangelou G. Transmission of dengue 1 and 2 viruses in Greece in 1928. *Am J Trop Med Hyg* 1980; 29 : 635-7.
60. Chungue E, Deparis X, Murgue B. Dengue in French Polynesia: major features, surveillance, molecular epidemiology and current situation. *Pacific Health Dialog* 1998; 5 : 154-62.
61. Harris E, Videá E, Pérez L, Sandoval E, Téllez Y, Pérez ML *et al.* Clinical, epidemiologic, and virologic features of dengue in the 1998 epidemic in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 63 : 5-11.
62. Recker M, Blyuss KB, Simmons CP, Hien TT, Wills B, Farrar J *et al.* Immunological serotype interactions and their effect on the epidemiological pattern of dengue. *Proc Biol Sci* 2009; 276 : 2541-8.
63. Rigau-Pérez JG, Vorndam AV, Clark GG. The dengue and dengue hemorrhagic fever epidemic in Puerto Rico, 1994-1995. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 64 : 67-74.
64. Armstrong PM, Rico-Hesse R. Differential susceptibility of *Aedes aegypti* to infection by the American and Southeast Asian genotypes of dengue type 2 virus. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2001; 1 : 159-68.
65. Wang E, Ni H, Xu R, Barrett AD, Watowich SJ, Gubler DJ *et al.* Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. *J Virol* 2000; 74 : 3227-34.
66. Tolou H, Couissinier-Paris P, Mercier V, Pisano MR, de Lamballerie X, de Micco P *et al.* Complete genomic sequence of a dengue type 2 virus from the French West Indies. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 277 : 89-92.
67. Peyrefitte CN, Couissinier-Paris P, Mercier-Perennec V, Bessaud M, Martial J, Kenane N *et al.* Genetic characterization of newly reintroduced dengue virus type 3 in Martinique (French West Indies). *J Clin Microbiol* 2003; 41 : 5195-8.
68. Fauran P. Prévision et prévention des épidémies de dengue. *Bull Soc Pathol Exot* 1996; 89 : 123-7.
69. Pan American Health Organization. Dengue and dengue hemorrhagic fever, 1996. *PAHO Bulletin* 1996; 17 : 12-4.
70. Kuno G. Review of the factors modulating dengue transmission. *Epidemiol Rev* 1995; 17 : 321-35.
71. Focks DA, Daniels E, Haile DG, Keesling JE. A simulation model of the epidemiology of urban dengue fever: literature analysis, model development, preliminary validation, and samples of simulation results. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 53 : 489-506.
72. Winter PE, Yuill TM, Udumsakdi S, Gould D, Nantapanich S, Russell PK. An insular outbreak of dengue hemorrhagic fever. I. Epidemiologic observations. *Am J Trop Med Hyg* 1968; 17 : 590-9.
73. Winter PE, Nantapanich S, Nisalak A, Udumsakdi S, Dewey RW, Russell PK. Recurrence of epidemic dengue hemorrhagic fever in an insular setting. *Am J Trop Med Hyg* 1969; 18 : 573-9.
74. Pongsumpun P, Tang IM. A realistic age structured transmission model for dengue hemorrhagic fever in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001; 32 : 336-40.
75. Russell PK, Yuill TM, Nisalak A, Udumsakdi S, Gould DJ, Winter PE. An insular outbreak of dengue hemorrhagic fever. II. Virologic and serologic studies. *Am J Trop Med Hyg* 1968; 17 : 600-8.
76. Halstead SB, Nimmannitya S, Margiotta MR. Dengue and chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962-1964. II. Observations on disease in outpatients. *Am J Trop Med Hyg* 1969; 18 : 972-83.
77. Hayes CG, Phillips IA, Callahan JD, Griebenow WF, Hyams KC, Wu SJ *et al.* The epidemiology of dengue virus infection among urban, jungle, and rural populations in the Amazon region of Peru. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 55 : 459-63.
78. Kuno G, Gubler DJ, Oliver A. Use of 'original antigenic sin' theory to determine the serotypes of previous dengue infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993; 87 : 103-5.
79. de Souza VA, Fernandes S, Araújo ES, Tateno AF, Oliveira OM, Oliveira RR *et al.* Use of an immunoglobulin G avidity test to discriminate between primary and secondary dengue virus infections. *J Clin Microbiol* 2004; 42 : 1782-4.
80. Matheus S, Deparis X, Labeau B, Lelarge J, Morvan J, Dussart P. Discrimination between primary and secondary dengue virus infection by an immunoglobulin G avidity test using a single acute-phase serum sample. *J Clin Microbiol* 2005; 43 : 2793-7.
81. Binh PT, Matheus S, Huong VT, Deparis X, Marechal V. Early clinical and biological features of severe clinical manifestations of dengue in Vietnamese adults. *J Clin Virol* 2009; 16.
82. Reynes JM, Laurent A, Deubel V, Telliam E, Moreau JP. Etude rétrospective, clinique et virologique des cas de dengue hémorragique de l'épidémie de dengue de 1991-1992 en Guyane française. *Bull Soc Pathol Exot* 1993; 86 : 467.
83. Qiu FX, Chen QQ, Ho QY, Chen WZ, Zhao ZG, Zhao BW. The first epidemic of dengue hemorrhagic fever in the People's Republic of China. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 44 : 364-70.

Mécanismes physiopathologiques de la dengue : revue critique des hypothèses

84. Dietz V, Gubler DJ, Ortiz S, Kuno G, Casta-Vélez A, Sather GE *et al.* The 1986 dengue and dengue hemorrhagic fever epidemic in Puerto Rico: epidemiologic and clinical observations. *PR Health Sci J* 1996; 15 : 201-10.
85. Vasconcelos PF, Lima JW, da Rosa AP, Timbó MJ, da Rosa ES, Lima HR *et al.* Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará inquérito soro-epidemiológico aleatório. *Rev Saude Publica* 1998; 32 : 447-54.
86. Innis BL, Myint KS, Nisalak A, Ishak KG, Nimmannitya S, Laohapand T, *et al.* Acute liver failure is one important cause of fatal dengue infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1990; 21 : 695-6.
87. Mansuy JM, Delor R, Mehdaoui H, Elizabeth L. Premier cas de dengue hémorragique avec syndrome de choc observé en Martinique. *Bull Soc Pathol Exot* 1996; 89 : 243-4.
88. Baruah HC, Mohapatra PK, Kire M, Pegu DK, Mahanta J. Haemorrhagic manifestations associated with dengue virus infection in Nagaland. *J Commun Dis* 1996; 28 : 301-3.
89. Schwartz E, Mendelson E, Sidi Y. Dengue fever among travelers. *Am J Med* 1996; 101 : 516-20.
90. López-Vélez R, Pérez-Casas C, Vorndam AV, Rigau J. Dengue in Spanish travelers returning from the tropics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15 : 823-6.
91. Venot C, Texereau M, Le Guenno B, Bourgoin A, Beby A, Breux JP *et al.* Un cas de dengue d'importation à forme hémorragique en France métropolitaine. *Med Mal Infect* 1997; 27 : 1037-9.
92. Isarangkura PB, Pongpanich B, Pintadit P, Phanichyakarn P, Valyasevi A. Hemostatic derangement in dengue haemorrhagic fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987; 18 : 331-9.
93. Nimmannitya S, Thisyakorn U, Hemsrchart V. Dengue haemorrhagic fever with unusual manifestations. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987; 18 : 398-406.
94. del Valle Díaz S, Piñera Martínez M, Guasch Saent-Félix F. Hepatitis reactiva por virus del dengue hemorrágico. *Rev Cubana Med Trop* 2001; 53 : 28-31.
95. Guzmán MG, Kourí G, Morier L, Soler M, Fernández A. A study of fatal hemorrhagic dengue cases in Cuba, 1981. *Bull Pan Am Health Organ* 1984; 18 : 213-20.
96. Solomon T, Dung NM, Vaughn DW, Kneen R, Thao LT, Raengsakulrach B *et al.* Neurological manifestations of dengue infection. *Lancet* 2000 25; 355 : 1053-9.
97. Guzmán MG, Kourí G. Dengue: an update. *Lancet Infect Dis.* 2002; 2 : 33-42.
98. Murgue B, Roche C, Chungue E, Deparis X. Prospective study of the duration and magnitude of viraemia in children hospitalised during the 1996-1997 dengue-2 outbreak in French Polynesia. *J Med Virol* 2000; 60 : 432-8.
99. Fakeeh M, Zaki AM. Virologic and serologic surveillance for dengue fever in Jeddah, Saudi Arabia, 1994-1999. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65 : 764-7.
100. Seglen PO. Why the impact factor of journals should not be used for evaluating research. *BMJ* 1997; 314 : 498-502.
101. Martínez E, Guzmán MG, Valdés M, Soler M, Kourí G. Fiebre del dengue y dengue hemorrágico en infantes con infección primaria. *Rev Cubana Med Trop* 1993; 45 : 97-101.
102. Palacios Serrano H, Vargas Caballero ME, Aguirre Portuondo TM. Dengue hemorrágico en dengue primario. *Rev Cubana Med Trop* 2001; 53 : 59-62.
103. Senado-Dumoy J, Adolfo Capote Perez C, Sharrager NN. Fiebre hemorrágica dengue: patogenia y fisiopatología. *Cubana Medicina* 1984; 23 : 374-82.
104. Sehgal R. Dengue fever and El Niño. *Lancet* 1997; 349 : 729.
105. Holmes EC. Molecular epidemiology of dengue virus-the time for big science. *Trop Med Int Health* 1998; 3 : 855-6.
106. Rodhain F. The role of monkeys in the biology of dengue and yellow fever. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1991; 14 : 9-19.
107. Corwin AL, Larasati RP, Bangs MJ, Wuryadi S, Arjoso S, Sukri N *et al.* Epidemic dengue transmission in southern Sumatra, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; 95 : 257-65.
108. Murgue B, Cassar O, Deparis X. Plasma concentrations of sVCAM-1 and severity of dengue infections. *J Med Virol* 2001; 65 : 97-104.
109. Watts DM, Porter KR, Putvatana P, Vasquez B, Calampa C, Hayes CG *et al.* Failure of secondary infection with American genotype dengue 2 to cause dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 1999; 354 : 1431-4.
110. Matheus S, Meynard JB, Lacoste V, Morvan J, Deparis X. Use of capillary blood samples as a new approach for diagnosis of Dengue virus infection. *J Clin Microbiol* 2007; 45 : 887-90.
111. de Thoisy B, Lacoste V, Germain A, Muñoz-Jordán J, Colón C, Mauffrey JF *et al.* Dengue infection in neotropical forest mammals. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2009; 9 : 157-70.
112. Wolfe ND, Kilbourn AM, Karesh WB, Rahman HA, Bosi EJ, Cropp BC *et al.* Sylvatic transmission of arboviruses among Bornean orangutans. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 64 : 310-6.
113. Rosen L, Rozeboom LE, Sweet BH, Sabin AB. The transmission of dengue by *Aedes polynesiensis* Marks. *Am J Trop Med Hyg* 1954; 3 : 878-82.
114. Moncayo AC, Fernandez Z, Ortiz D, Diallo M, Sall A, Hartman S *et al.* Dengue emergence and adaptation to peridomestic mosquitoes. *Emerg Infect Dis* 2004; 10 : 1790-6.
115. de Silva AM, Dittus WP, Amerasinghe PH, Amerasinghe FP. Serologic evidence for an epizootic dengue virus infecting toque macaques (*Macaca sinica*) at Polonnaruwa, Sri Lanka. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60 : 300-6.
116. Diallo M, Ba Y, Sall AA, Diop OM, Ndione JA, Mondo M *et al.* Amplification of the sylvatic cycle of dengue virus type 2, Senegal, 1999-2000: entomologic findings and epidemiologic considerations. *Emerg Infect Dis* 2003; 9 : 362-7.
117. Rosen L, Roseboom LE, Gubler DJ, Lien JC, Chaniotis BN. Comparative susceptibility of mosquito species and strains to oral and parenteral infection with dengue and Japanese encephalitis viruses. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34 : 603-15.
118. Halstead SB, Heinz FX, Barrett AD, Roehrig JT. Dengue virus: molecular basis of cell entry and pathogenesis, 25-27 June 2003, Vienna, Austria. *Vaccine* 2005; 23 : 849-56.
119. WHO. Guide for diagnosis, treatment and control of dengue hemorrhagic fever. WHO ed, Geneva, 1997.