



information
formation
recherche
coopération internationale

SRAS : critères et méthodes diagnostiques

Michel Couillard, Ph. D.
Laboratoire de santé publique du Québec

12 et 17 décembre 2003

Institut national
de santé publique
Québec

Plan de la présentation

- Critères diagnostiques
 - Définition de cas suspect
 - Justification
- Méthodes de diagnostic
 - Isolement
 - Sérodiagnostic

2 formation

Institut national
de santé publique
Québec

Critères diagnostiques



information



formation




recherche



coopération
internationale

Institut national
de santé publique

Québec 

Situation épidémiologique

- 5 juillet 2003 : interruption de la dernière chaîne de transmission de la maladie [Organisation mondiale de la santé]
- Réémergence du SRAS chez l'humain = **urgence de santé publique mondiale**



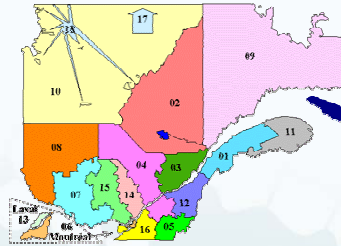
formation

Institut national
de santé publique

Québec 

Activités de surveillance

- Zone de résurgence potentielle (Chine)
- Zones nodales (Toronto)
- Zones à faible risque



5

Surveillance difficile

- Détecter rapidement les syndromes respiratoires graves
 - Pas de test rapide et fiable précocement
 - Autres infections respiratoires saisonnières
- Implanter rapidement des mesures de prévention pour réduire la transmission



6

Critères de diagnostic

- La recherche pour le SRAS CoV ne devrait être entreprise que si les critères de la définition d'un cas de maladie respiratoire sévère potentiellement associée au SRAS sont rencontrés
- Les investigations devraient être entreprises après entente avec les autorités de santé publique

7



Institut national
de santé publique
Québec

Autres maladies à éliminer

- Virus respiratoires communs
 - Adénovirus
 - Parainfluenza 1 à 4
 - Influenza
 - Virus respiratoire syncytial
 - Entérovirus
- Bactéries
 - *Mycobacterium tuberculosis*
 - *Mycoplasma pneumoniae*
 - *Chlamydomphila pneumoniae*
 - *Chlamydomphila psittaci*
 - *Legionella*

8



Institut national
de santé publique
Québec

Type d'échantillons Autres maladies respiratoires sévères

- Hémoculture
- Expectoration pour culture et coloration
- Écouvillonnage nasopharyngé dans un milieu de transport pour :
 - *Chlamydophila pneumoniae* – PCR ou culture
 - *Mycoplasma pneumoniae* – PCR ou culture
- Sérologie pour *Mycoplasma pneumoniae*
- Expectoration ou LBA pour *M. tuberculosis*
- Urine, expecto., LBA, sérums pour *Legionella*



formation

9

Institut national
de santé publique
Québec



Définition de cas

- Situation de pré-alerte
 - Aucun nouveau cas identifié
- Situation d'alerte
 - Un nouveau cas identifié dans le monde



formation

10

Institut national
de santé publique
Québec



Définition de cas suspect

- ✓ Fièvre (> 38 °C) ET
- ✓ Toux ou difficultés à respirer ET
- ✓ Radiographie pulmonaire avec évidences d'infiltrats (pneumonie ou syndrome de détresse respiratoire) ne répondant pas à l'antibiothérapie 72 h post traitement ET
- ✓ Aucune autre cause connue expliquant la maladie actuelle ET
- ✓ Une ou plusieurs expositions à risque dans les 10 jours précédant le début des symptômes

11

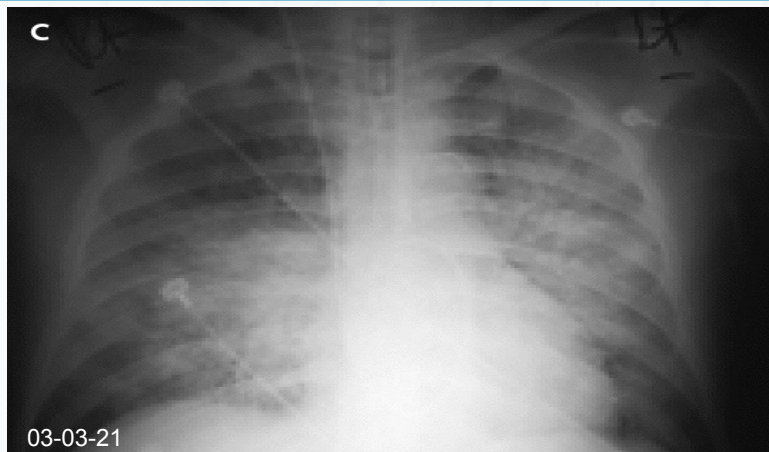


formation

Institut national
de santé publique
Québec



Radiographie - Infiltrats pulmonaires



12



formation

Institut national
de santé publique
Québec



Définition de cas suspect (suite)

OU

- ✓ Personne décédée avec autopsie correspondant à la pathologie du syndrome de détresse respiratoire sans cause connue ET
- ✓ Une ou plusieurs expositions à risque dans les 10 jours qui ont précédé le début des symptômes ayant mené au décès

Il ne s'agit pas un cas suspect de SRAS si un autre diagnostic peut expliquer la maladie.

13



formation

Institut national
de santé publique
Québec



Expositions à risque

- Résidence, voyage récent ou visite dans une zone potentielle d'émergence ou de résurgence
 - Chine continentale
 - Taiwan
 - Région administrative de Hong Kong
- Contacts étroits avec une personne présentant une maladie respiratoire fébrile et voyage
- Travail en laboratoire **avec le virus** SRAS CoV
- Membres du personnel hospitalier (soins aigus)

14



formation

Institut national
de santé publique
Québec



Justification pour l'analyse

- Des investigations de laboratoire sont **nécessaires** pour tout cas identifié de maladie respiratoire sévère potentiellement associée au SRAS
 - ✓ Enquête épidémiologique effectuée
 - ✓ Tableau clinique = définition
 - ✓ Exposition à risque = critères

15

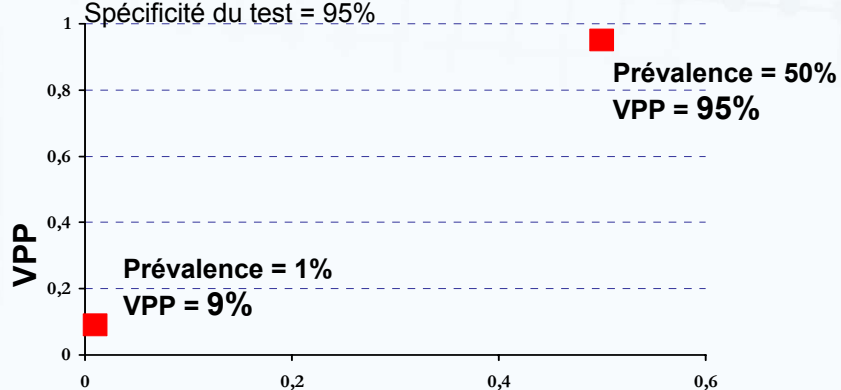


Institut national
de santé publique
Québec

Importance d'une justification

Si : Sensibilité de détection dans un échantillon clinique est de 50%

Spécificité du test = 95%



Prévalence de SARS parmi les personnes testées

VPP = valeur prédictive positive

16

Institut national
de santé publique
Québec

Méthodes diagnostiques



information



formation



recherche



coopération
internationale

Institut national
de santé publique

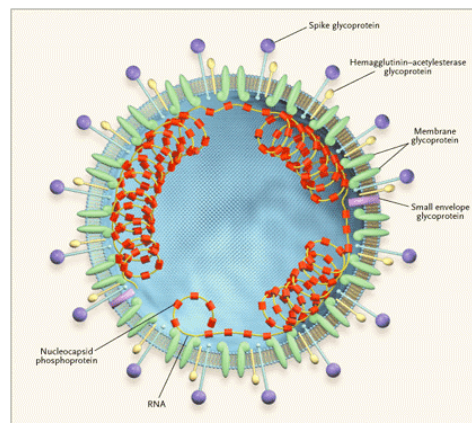
Québec



Diagnostic virologique en laboratoire

5 approches

- visualisation
- isolement viral
- détection d'antigènes
- détection d'acides nucléiques
- détection d'anticorps (sérodiagnostic)



Visualisation en microscopie électronique



Source : C. Humphrey, CDC

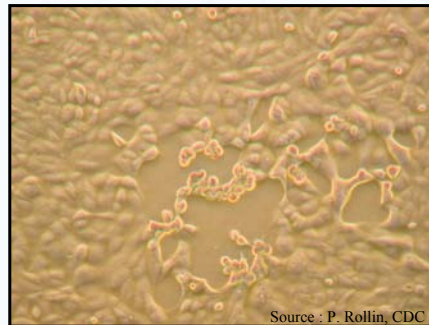
- Titre viral suffisant?
- Pas spécifique
- Pas en routine

Institut national
de santé publique
Québec

19

Isolement viral

- Épreuve de référence
- Nécessite un niveau de confinement 3
- Multiplication sur Vero E6
 - Infection par foyers
 - Cellules arrondies
 - Cellules infectées réfringentes
- Identification par RT-PCR



Source : P. Rollin, CDC



20

Institut national
de santé publique
Québec

Isolement viral

- Matériel et méthodes
 - Tubes, bouteilles, plaques ou flacons?
 - Centrifugation des échantillons?
- Résultats
 - RT-PCR avec ECP et sans ECP?
- Interprétation d'un isolement positif
 - Une culture virale positive fournit une excellente preuve de l'infection

21



Institut national
de santé publique
Québec



Type d'échantillons pour l'isolement

- Écouvillon ou aspiration nasopharyngée dans un milieu de transport pour la virologie (MTV)
- Selle ou écouvillon rectal dans un MTV
- Répéter si négatif
- Si possible :
 - Échantillons des voies respiratoires inférieures (LBA ou aspiration trachéale dans un contenant stérile)
 - Tissu congelé et non fixé provenant de biopsie ou d'autopsie (poumon, intestin, rate, ganglions lymphatiques)?



22



Institut national
de santé publique
Québec



Quand faire le prélèvement?

Peiris et al. Lancet, 24 mai 2003

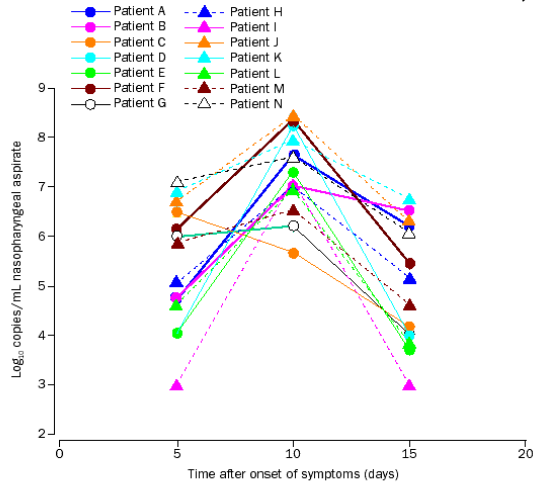


Figure 4: Sequential quantitative RT-PCR for SARS-associated coronavirus in nasopharyngeal aspirates of 14 SARS patients

23

Détection d'antigènes

- Concentration de virus dans les échantillons cliniques ?
- Détection à l'aide d'anticorps spécifiques
- Pas de trousse disponibles

24

Détection d'acides nucléiques – RT-PCR



- Présentée par
Hugues Charest

25



formation

Institut national
de santé publique
Québec

Sérodiagnostic

- Épreuves « maisons » développées par des laboratoires de référence
- Trousses commerciales disponibles évaluées avec un nombre limité d'échantillons

26



formation

Institut national
de santé publique
Québec

Sérodiagnostic Épreuve immunoenzymatique (EIA)

- Problèmes de spécificité (réactions croisées avec d'autres coronavirus)
- Détection d'anticorps 8 à 10 jours après le début des symptômes
- Une sérologie est considérée négative s'il n'y a pas d'anticorps >28 jours après le début des symptômes

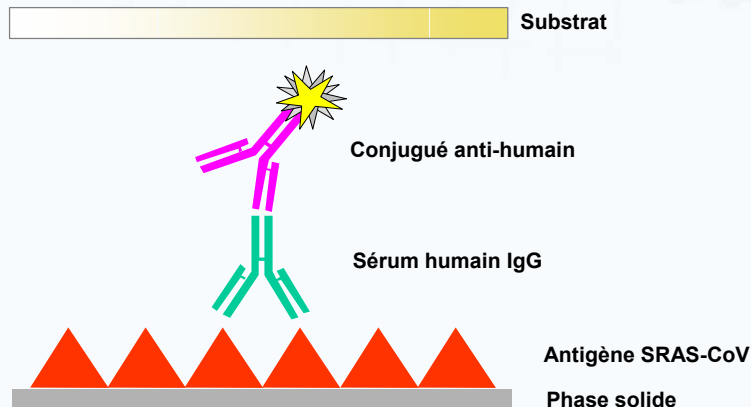
27



formation

Institut national
de santé publique
Québec

Sérodiagnostic - EIA



Source : CDC

28

Institut national
de santé publique
Québec

Sérodiagnostic Épreuve immunoenzymatique (EIA)

- Trousse commerciale disponible (Adaltis)
- Peptides SRAS CoV
- Sensibilité (24 cas positifs) = 91,7%
- Spécificité (23 contrôles) = 95,7%
- Possibilité de résultats faussement réactifs (faible prévalence)
- Reprendre l'analyse si négatif (21 j. post-Sx)

29



formation

Institut national
de santé publique
Québec



Sérodiagnostic Épreuve d'immunofluorescence indirecte

- Source d'antigène : cellules infectées par le SRAS CoV
- Possibilité de faire une détection des IgM et des IgG
- Détection d'anticorps 10 jours après le début des symptômes
- Sensibilité (147 patients)
 - Euroimmun AG : 98% IgG; 79% IgM
- Spécificité (285 contacts + 45 VIH, VHC ou VHB)
 - Euroimmun AG : 100%
 - Réalité : réactions croisées possibles?

30

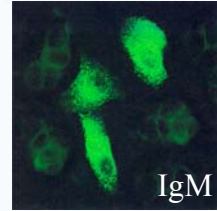
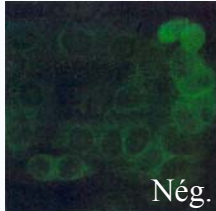
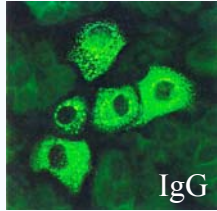


formation

Institut national
de santé publique
Québec



Sérodiagnostic Épreuve d'immunofluorescence indirecte

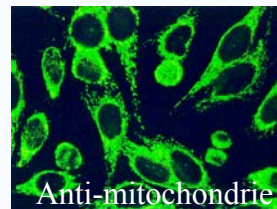
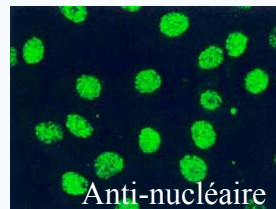
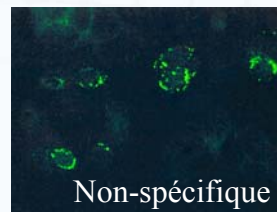
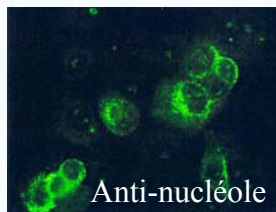


Source : Euroimmun

31

Institut national
de santé publique
Québec

Sérodiagnostic Épreuve d'immunofluorescence indirecte



Source : Euroimmun

32

Institut national
de santé publique
Québec

Type d'échantillons pour la sérologie

- Sérum précoce et tardif
 - 2 à 3 ml chacun
 - Délai de 2 semaines entre les prélèvements
- Prélever un troisième sérum à 28 jours s'il y a absence de séroconversion

33



formation

Institut national
de santé publique
Québec

Interprétation d'une sérologie positive

- Séroconversion mesurée par
 - Épreuve d'immunofluorescence ou
 - Épreuve immunoenzymatiqueET
- Confirmée par
 - Épreuve de neutralisation

34

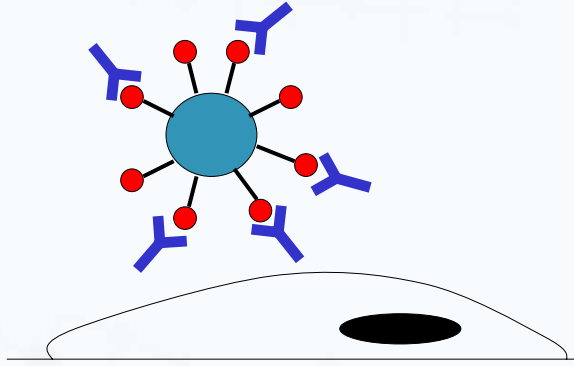


formation

Institut national
de santé publique
Québec

Sérodiagnostic Épreuve de neutralisation

Culture du virus en niveau de confinement 3

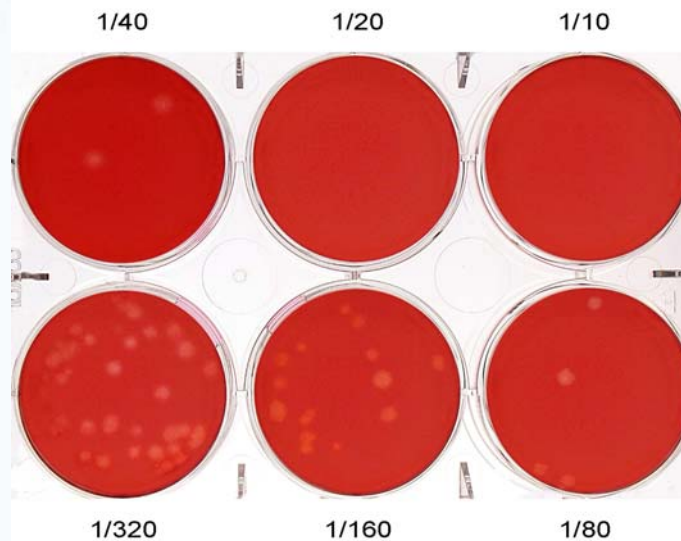


35



Institut national
de santé publique
Québec

Épreuve de neutralisation par réduction des plages de lyse (PRNT)



36

Sérodiagnostic – Développements

- Antigènes recombinants
 - Phosphoprotéine de la nucléocapside
 - Glycoprotéine des spicules
 - Glycoprotéine membranaire
- Élimination des réactions croisées
- Détection précoce : épreuves IgM

37

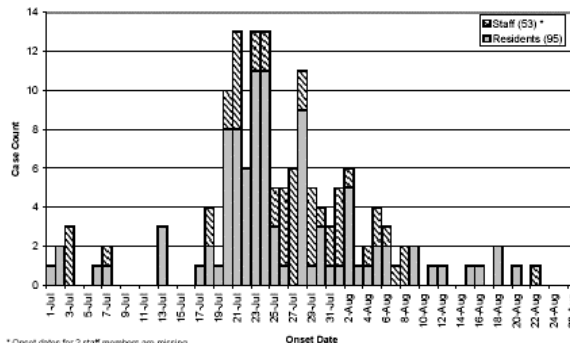


Institut national
de santé publique
Québec

Émission de résultats : prudence

Événement au foyer *Surrey's Kinsmen Place Lodge*

Onset of Respiratory Illness in a Long Term Care Facility
- Preliminary Results, August 25, 2003 -



* Onset dates for 2 staff members are missing

Source : BCCDC

38



Institut national
de santé publique
Québec

Émission de résultats : prudence

Événement au foyer *Surrey's Kinsmen Place Lodge*

- Définition de cas
 - Fièvre
 - Difficultés à respirer
 - Mal de gorge
 - Nez qui coule
 - Toux
- 12% des résidents avec pneumonie
- 8 décès dont 6 de pneumonie

39



formation

Institut national
de santé publique
Québec



Émission de résultats : prudence

Événement au foyer *Surrey's Kinsmen Place Lodge*

- Tests initiaux (BCCDC)
 - Négatifs pour les virus respiratoires communs (adéno, parainfluenza 1 à 4, influenza, entéro, VRS)
 - Négatifs pour les bactéries (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *C. psittaci*, *Legionella*)
 - Négatifs pour SRAS CoV
- Tests supplémentaires (LNM)
 - 4 individus positifs pour métapneumovirus
 - 9 individus positifs pour SRAS CoV par RT-PCR
 - 4 sérums positifs à l'ELISA rec SRAS CoV (Ag N)
 - 7 sérums positifs au WB SRAS CoV

40



formation

Institut national
de santé publique
Québec



Émission de résultats : prudence

Événement au foyer *Surrey's Kinsmen Place Lodge*

- Autres tests supplémentaires (CDC)
 - Réactions croisées avec d'autres coronavirus (OC43 et 229E)
 - Sérologies EIA et IFA négatives pour SRAS CoV
- Confirmation de l'étiologie
 - Virus similaire au Coronavirus OC43 (BCCDC et LNM)

41



Institut national
de santé publique
Québec

Diagnostic de laboratoire

- Standardisation des réactifs
- Échantillons contrôles (sérum de patients)
- Programmes d'assurance qualité
 - Réseau de laboratoires de référence

42



Institut national
de santé publique
Québec