

INSPQ

INSTITUT NATIONAL
DE SANTÉ PUBLIQUE
DU QUÉBEC

Centre d'expertise
et de référence

Outils moléculaires de surveillance de laboratoire

Hugues Charest

Laboratoire de santé publique du Québec

Faculté de médecine, Université de Montréal

www.inspq.qc.ca

Conflits d'intérêts

Je déclare n'avoir aucun conflit d'intérêt.

Hugues Charest



Outils moléculaires



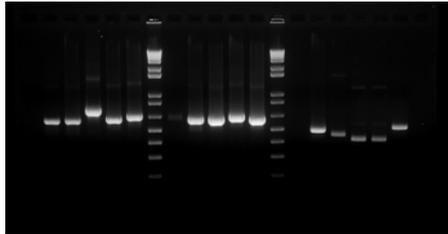
Ensemble des techniques et méthodes analytiques utilisées pour identifier une signature génique.

Avantages

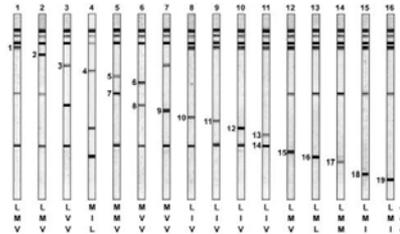
- Rapidité – efficacité P/R aux méthodes classiques
- Sensibilité – spécificité accrues
- Catalogue des microbes détectables plus important
- Pathogénie et résistance
- Précisions quant aux orientations et aux suivis de traitements (typage, antibiogrammes – antivirogrammes)

Exemples de signatures géniques utilisées en routine pour des applications en microbiologie

PCR-FLP



PCR-LPA



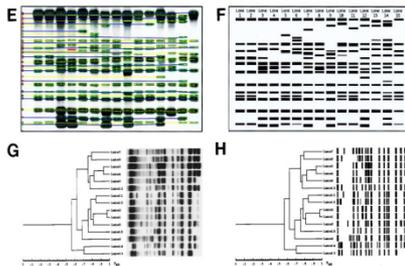
Séquence génique partielle

```

      10      20      30      40      50      60      70      80
Den 1  . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . |
Den 1  A G T T G T T A G T C T A C G T G G A C C G A C A A G A A C A G T T T C G A A T C G G A A G C T T G C T T A A C G T A G T T C T A A C A G T T T T T A T T A G
Den 2  A G T T G T T A G T C T A C G T G G A C C G A C A A G A C A G A T T C T T T G A G G A G C T A A G C T C A A C G T A G T T C T A A C A G T T T T T A A T T
Den 3  A G T T G T T A G T C T A C G T G G A C C G A C A A G A A C A G T T T C G A C T C G G A A G C T T G C T T A A C G T A G T G C T G A C A G T T T T T A T T A G
Den 4  A G T T G T T A G T C T G T G T G G A C C G A C A A G G A C A G T T C C A A T C G G A A G C T T G C T T A A C A C A G T T C T A A C A G T T T G T T T A A A T

      90      100     110     120     130     140     150     160
Den 1  . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . |
Den 1  A G A G C A G A T C T C T G A T G A A C A A C C A A C G G A A A A A G A C G G G T C G A C C G T C T T C A A T A T G C T G A A A C G C G C G A A A C C G C
Den 2  A G A G C A G A T C T C T G A T G A A T A A C C A A C G A A A A A A G G C G A G A A G T A C G C C T T C A A T A T G C T G A A A C G C G A G A G A A A C C
Den 3  A G A G C A G A T C T C T G A T G A A C A A C C A A C G G A A G A A G A C G G G A A A A C C G T C T A T C A A T A T G C T G A A A C G C G T G A G A A A C C G T
Den 4  A G A G C A G A T C T C T G A A A A A A T G A A C C A A C G A A A A A A G G T G G T T A G A C C A C C T T T C A A T A T G C T G A A A C G C G A G A G A A A
    
```

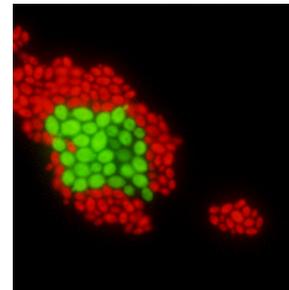
RAPD



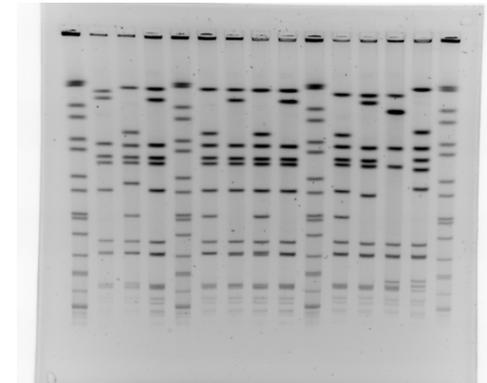
PCR-EIA



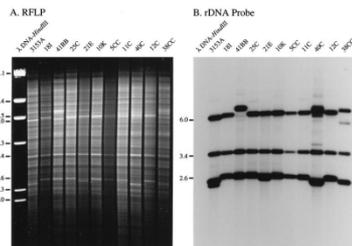
FISH- PNA



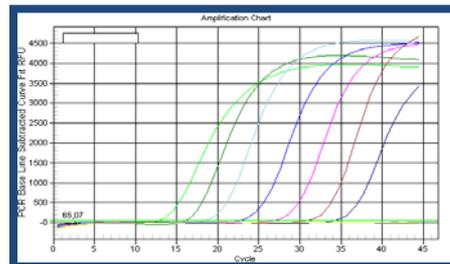
Pulsovars



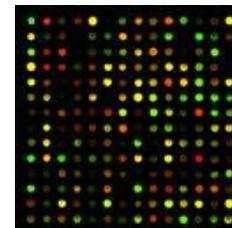
RFLP - ribotype



PCR en temps réel

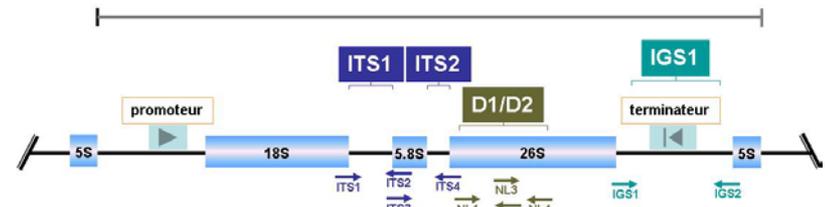
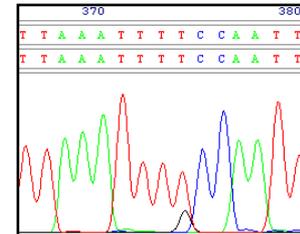
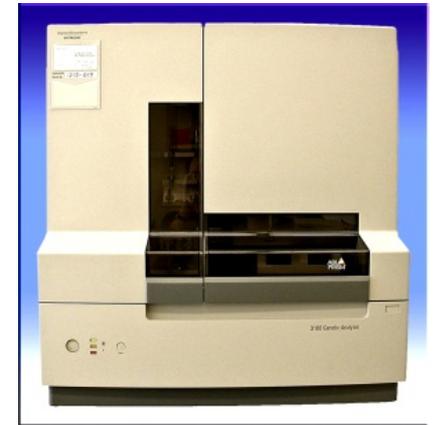
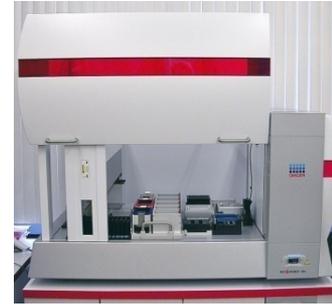


Micropuces à faible densité



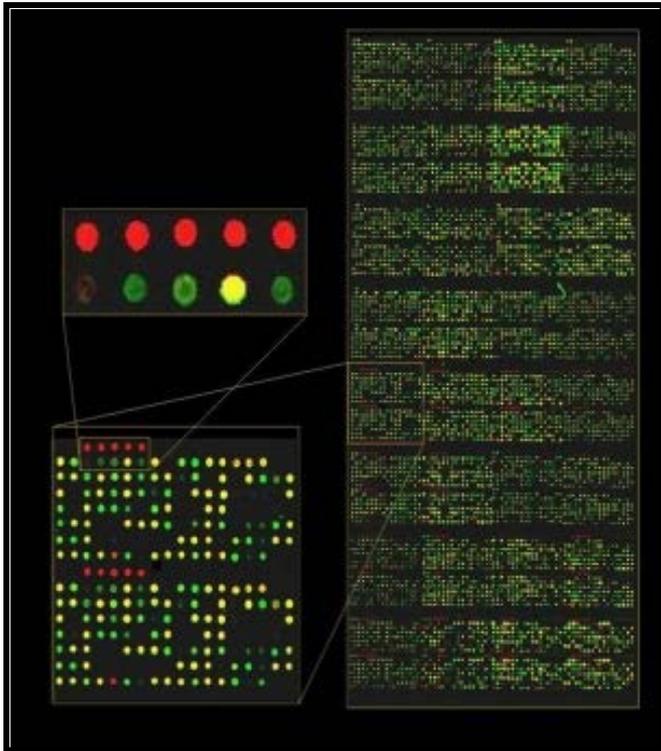
Applications actuelles au LSPQ

- Identification et différenciation
 - mycètes
 - bactéries
 - virus
 - parasites
- Profilage génique
 - transmission
 - dissémination
 - virulence
- Résistance aux antimicrobiens
 - antibiotiques
 - antiviraux

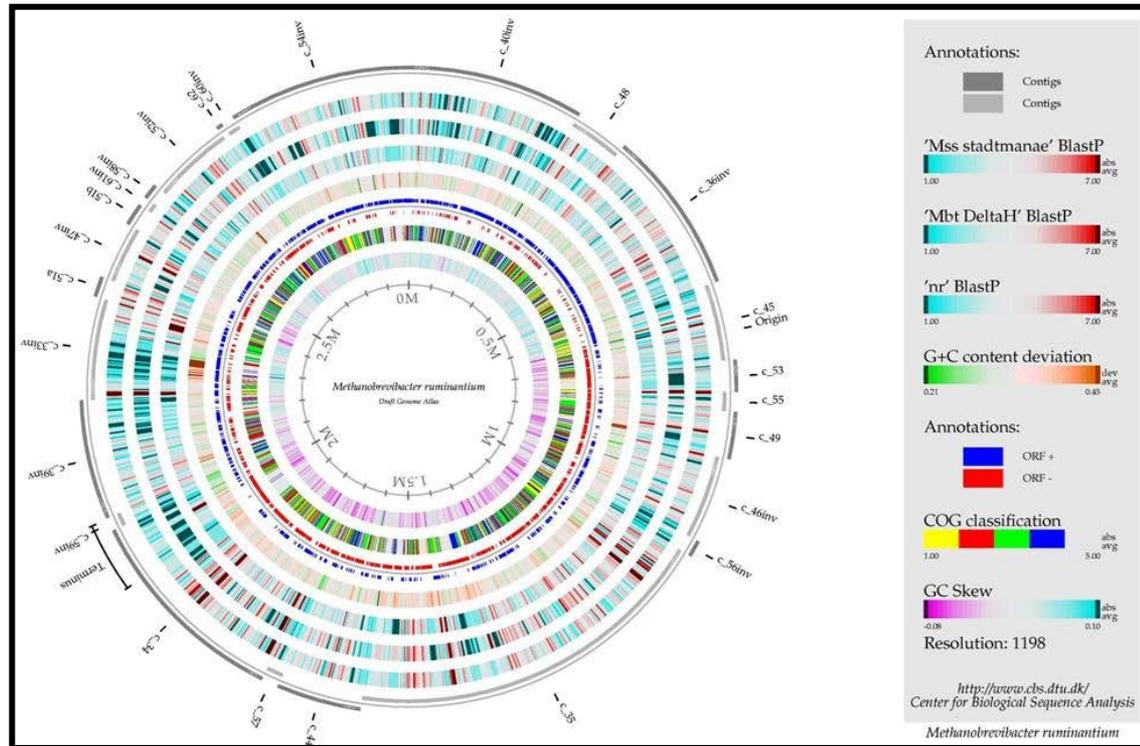


Signatures géniques améliorées (génomique)

Micropuces à forte densité



Séquençage complet

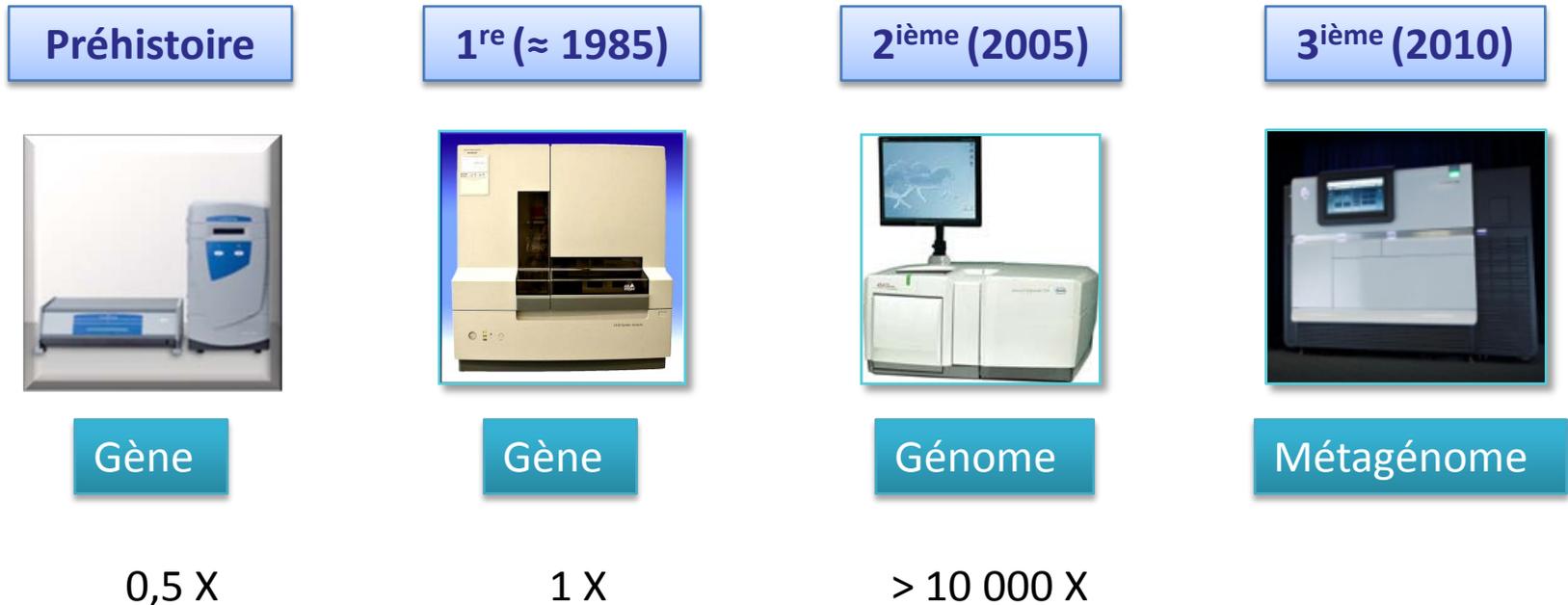


Génomique structurale

- La somme de toutes les informations définissant l'identité génétique d'un organisme – **identification définitive**
- Approche « globale » pour:
 - Détection des pathogènes en émergence
 - Description et compréhension des :
 - des facteurs de virulence – adaptation
 - de la transmission – dissémination - écologie
 - mécanismes de résistance de l'hôte
- Complémentaire aux tests phénotypiques



Séquençage automatique de l'ADN



‘DNA sequencing is so boring that it should be done by prisoners...’
Sydney Brenner

Première versus deuxième génération

Génération



Préparation des ADN



Analyse des données
du séquençage



Exemples de l'utilité actuelle de la génomique en maladies infectieuses

- Diagnostic clinique
 - Le séquençage « profond » du génome du VIH est devenu nécessaire pour détecter même une faible proportion de quasi-espèces portant des mutations de résistance, afin d'optimiser un traitement antirétroviral
- Applications en épidémiologie moléculaire
 - Chaînes de transmission (infections alimentaires, nosocomiales, communautaires)
 - Métagénomique - découvertes de nouveaux pathogènes
 - Facteurs de virulence vs génotypes

Publié le 19 septembre 2012 à 14h29 | Mis à jour le 20 septembre 2012 à 01h00

Légionellose à Québec: un immeuble identifié



La source de l'écllosion de *Legionella* à Québec en 2012

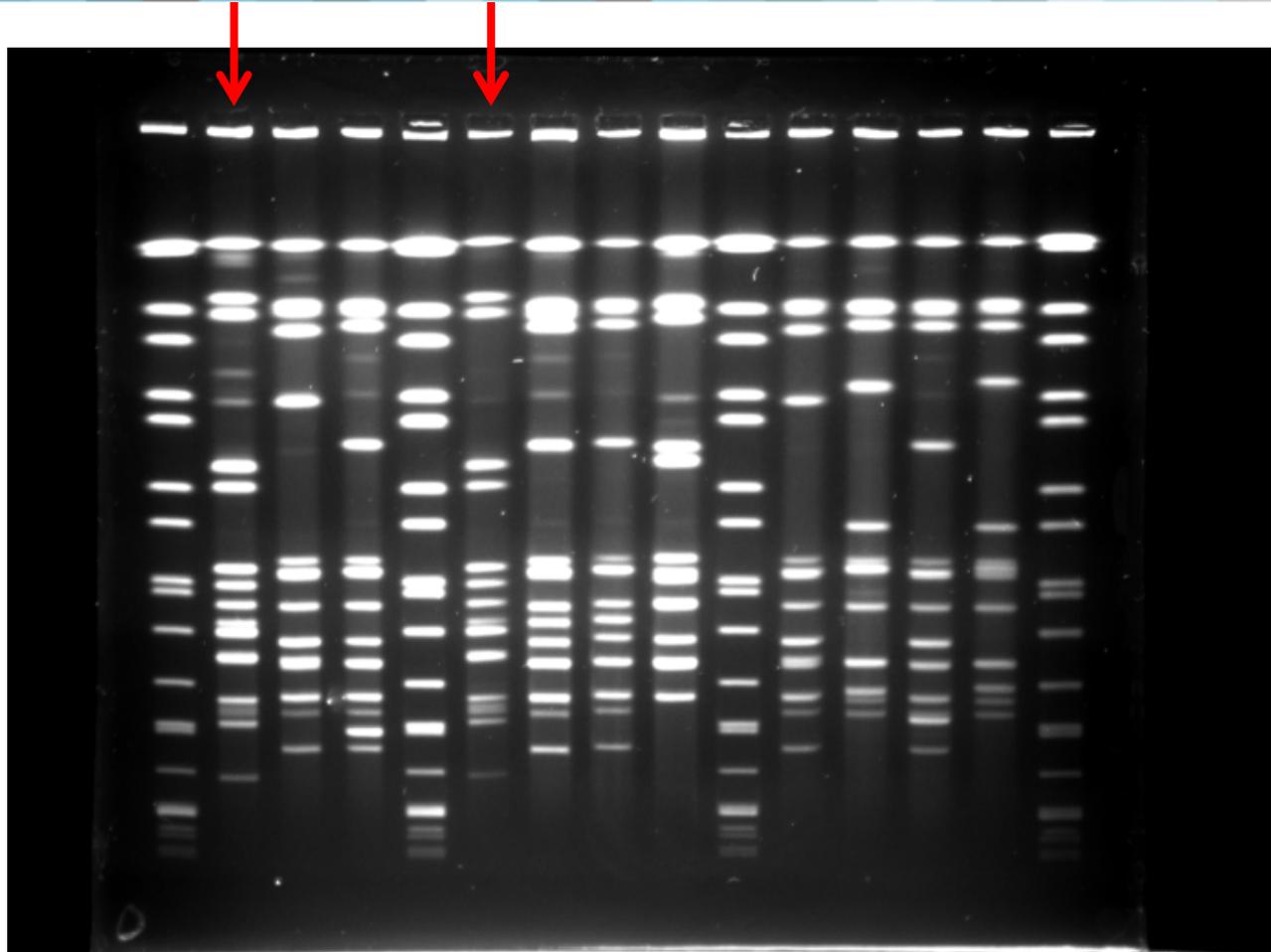
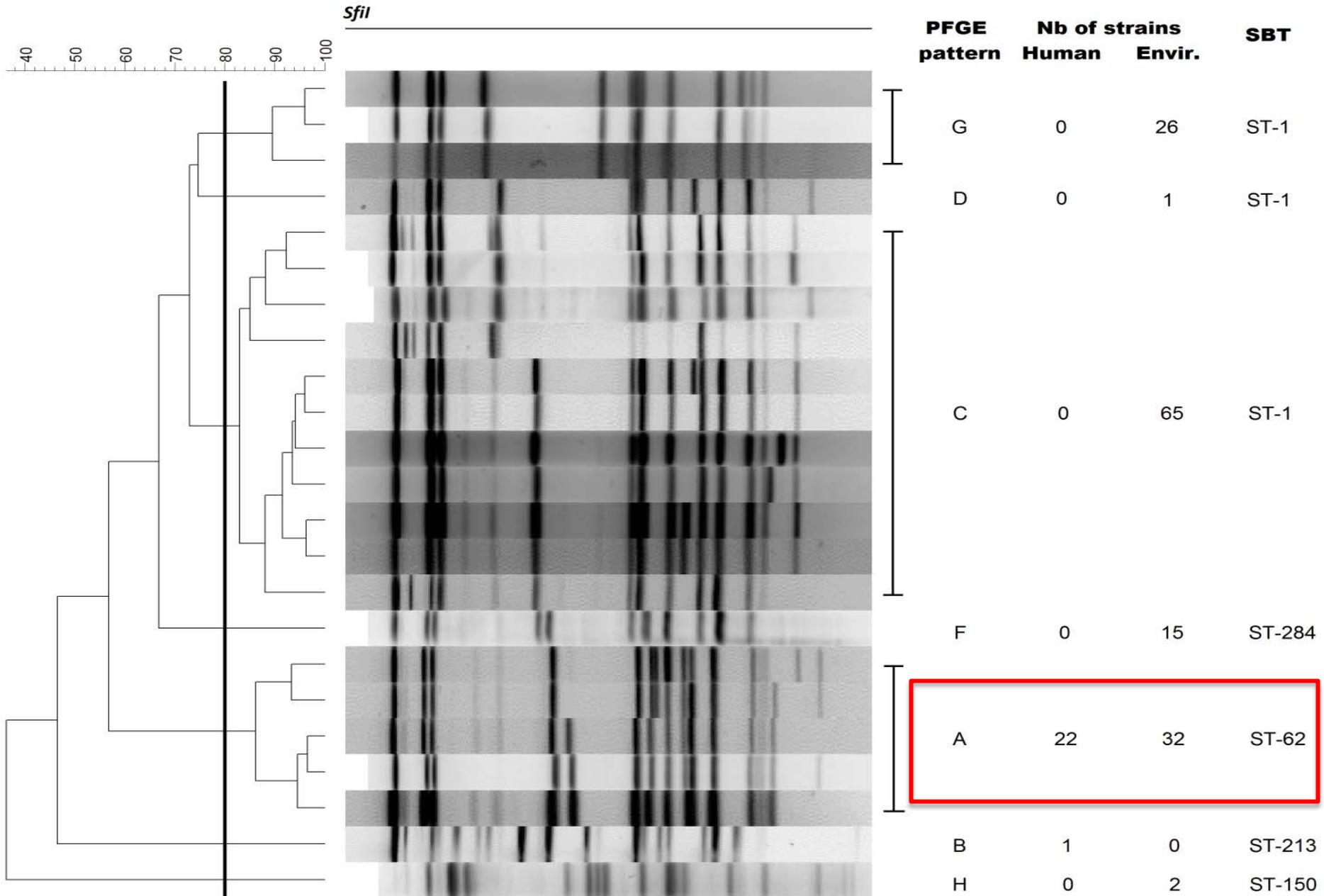
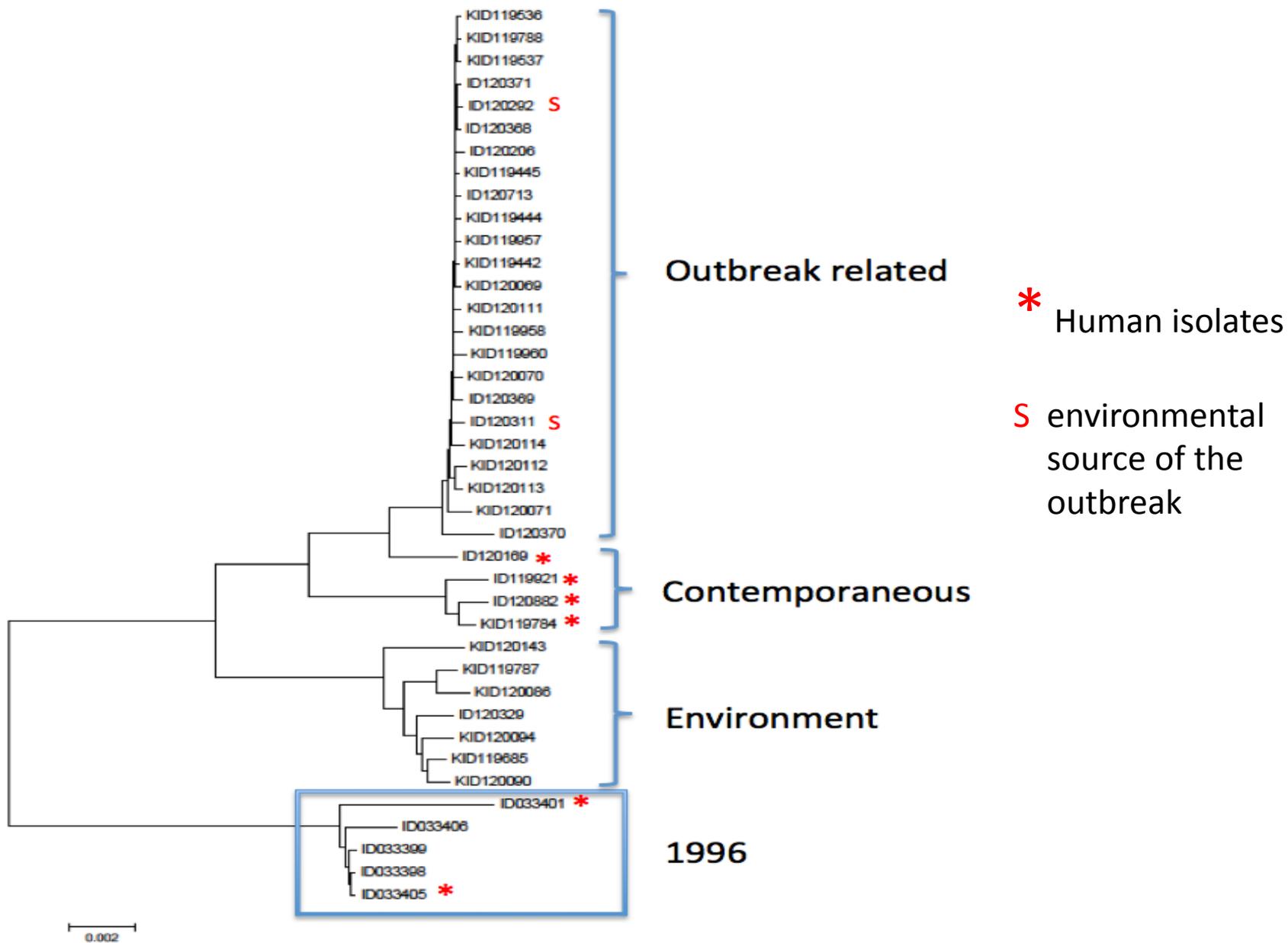


Photo: LSPQ

Profils des isolats de l'éclosion de la ville de Québec de 2012 par EGCP et SBT



Arbre phylogénétique des souches de *L. pneumophila* séro groupe 1 analysées par WGS



Virus de la grippe porcine A(H3N2)v

Volume 17, Number 9–September 2011

Research

Multiple Reassortment between Pandemic (H1N1) 2009 and Endemic Influenza Viruses in Pigs, United States

Mariette F. Ducatez, Ben Hause, Evelyn Stigger-Rosser, Daniel Darnell, Cesar Corzo, Kevin Juleen, Randy Simonson, Christy Brockwell-Staats, Adam Rubrum, David Wang, Ashley Webb, Jeri-Carol Crumpton, James Lowe, Marie Gramer, and Richard J. Webby ✉

	PB2	PB1	PA	HA	NP	NA	M	NS
sw/MN/239105/09			■		■		■	
sw/IN/240218/10	■							■
sw/MN/239106/10		■						
sw/NC/239108/10		■						■
sw/NC/226126/10								
sw/MN/226128/10	*	*						
sw/MN/340304/10	*	*	*	*	*	*	*	*

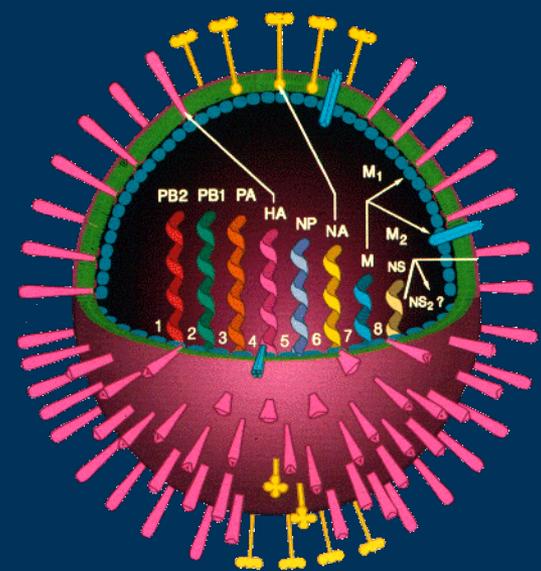
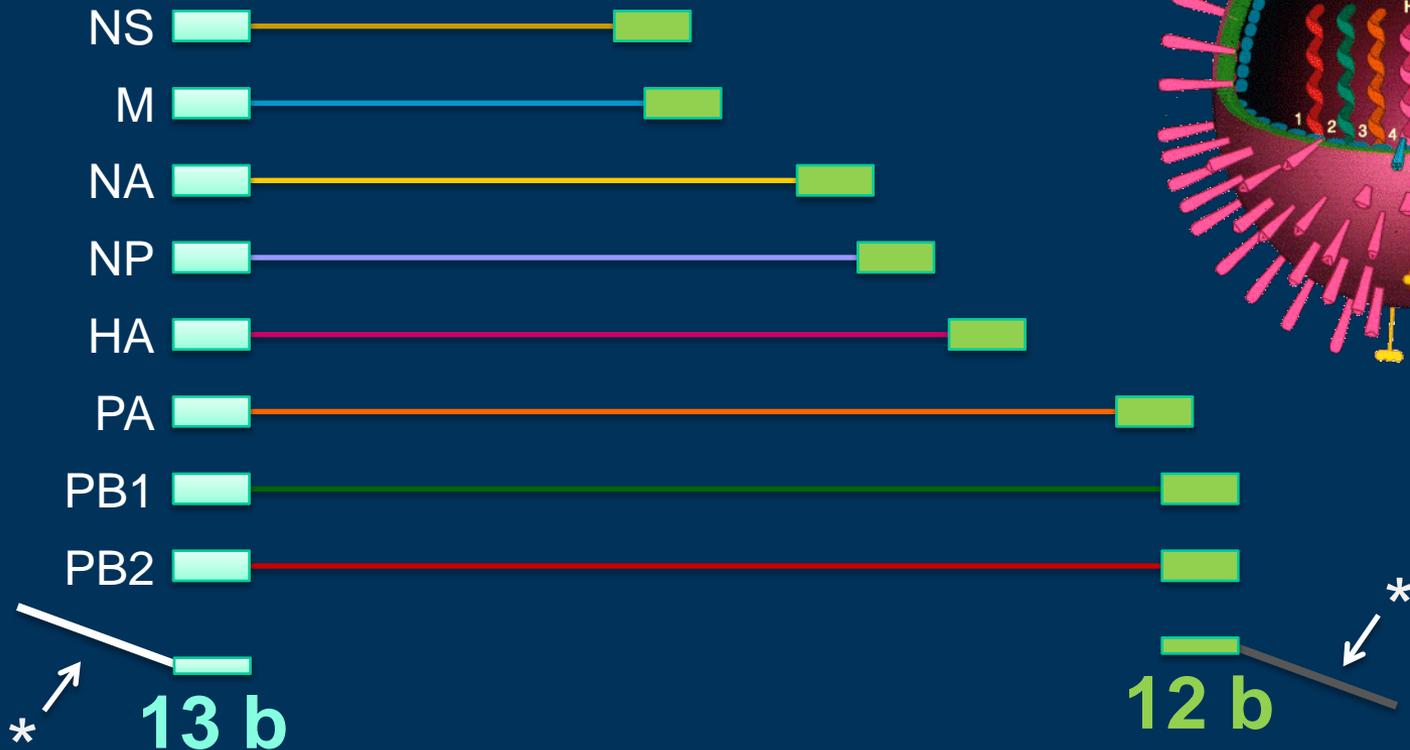
- Identifiés chez le porc en Amérique du Nord et en Europe en 2010.
- M du (H1N1)pdm2009
- Transmission interhumaine limitée; symptomatologie peu sévère.
- En 2012, aux USA, 309 cas humains détectés dans 12 États, tous reliés à une exposition soutenue avec des porcs infectés pendant des foires agricoles: 19 hospitalisations, 1 décès.
- En 2013: 19 cas; une hospitalisation; aucun décès.
- Les enfants sont plus à risque.

Reassortant Pandemic (H1N1) 2009 Virus in Pigs, United Kingdom

Wendy A. Howard, Steve C. Essen, Benjamin W. Strugnell, Christine Russell, Laura Barrass, Scott M. Reid, and Ian H. Brown

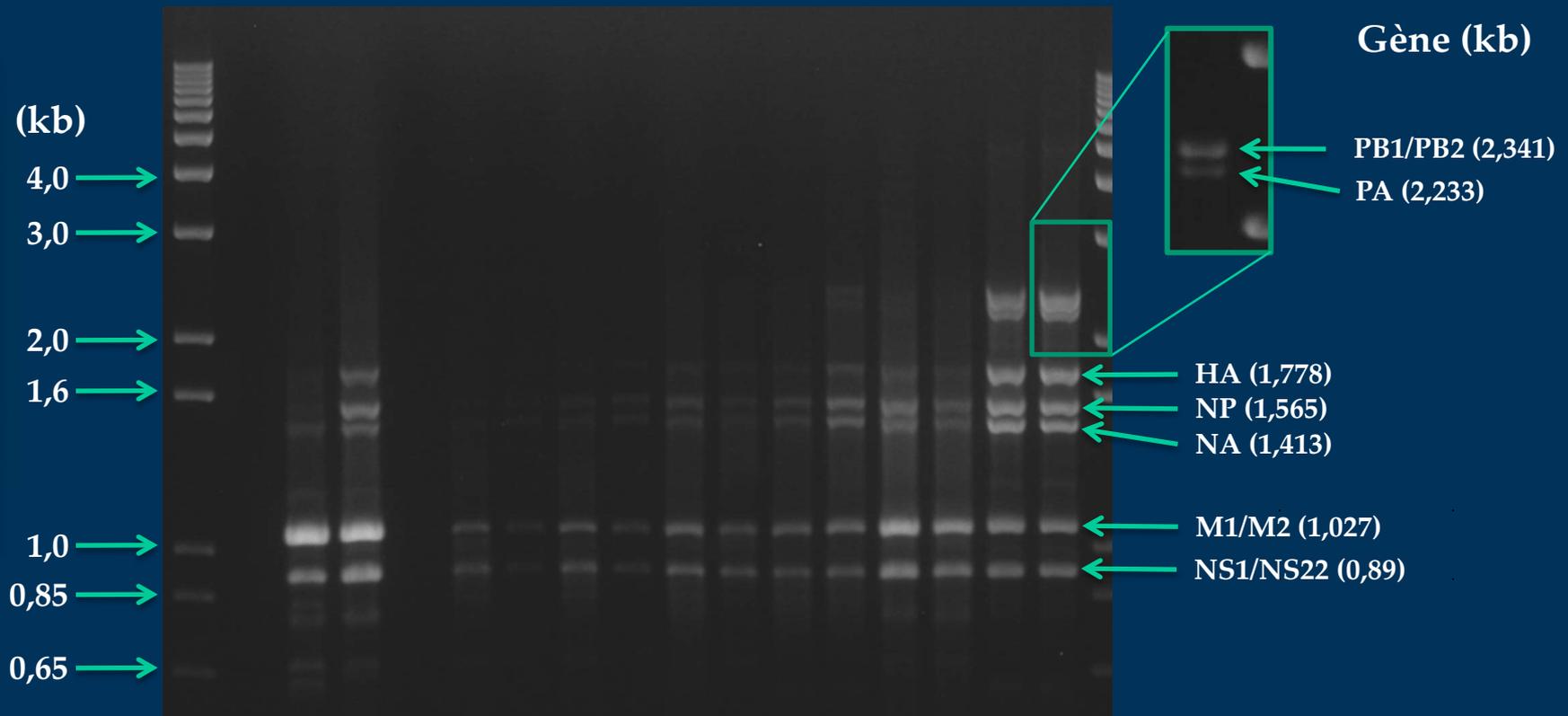


Amplification du génome segmenté du virus de l'influenza A



* séquences non spécifiques

Amplification du génome segmenté du virus de l'influenza A – optimisation.





Observatoire d'épidémiologie moléculaire pour la surveillance d'agents étiologiques.

Objectif : améliorer la performance des programmes de surveillance épidémiologique par la conciliation et l'intégration de signatures géniques et de données sociodémographiques (génomique et géomatique).

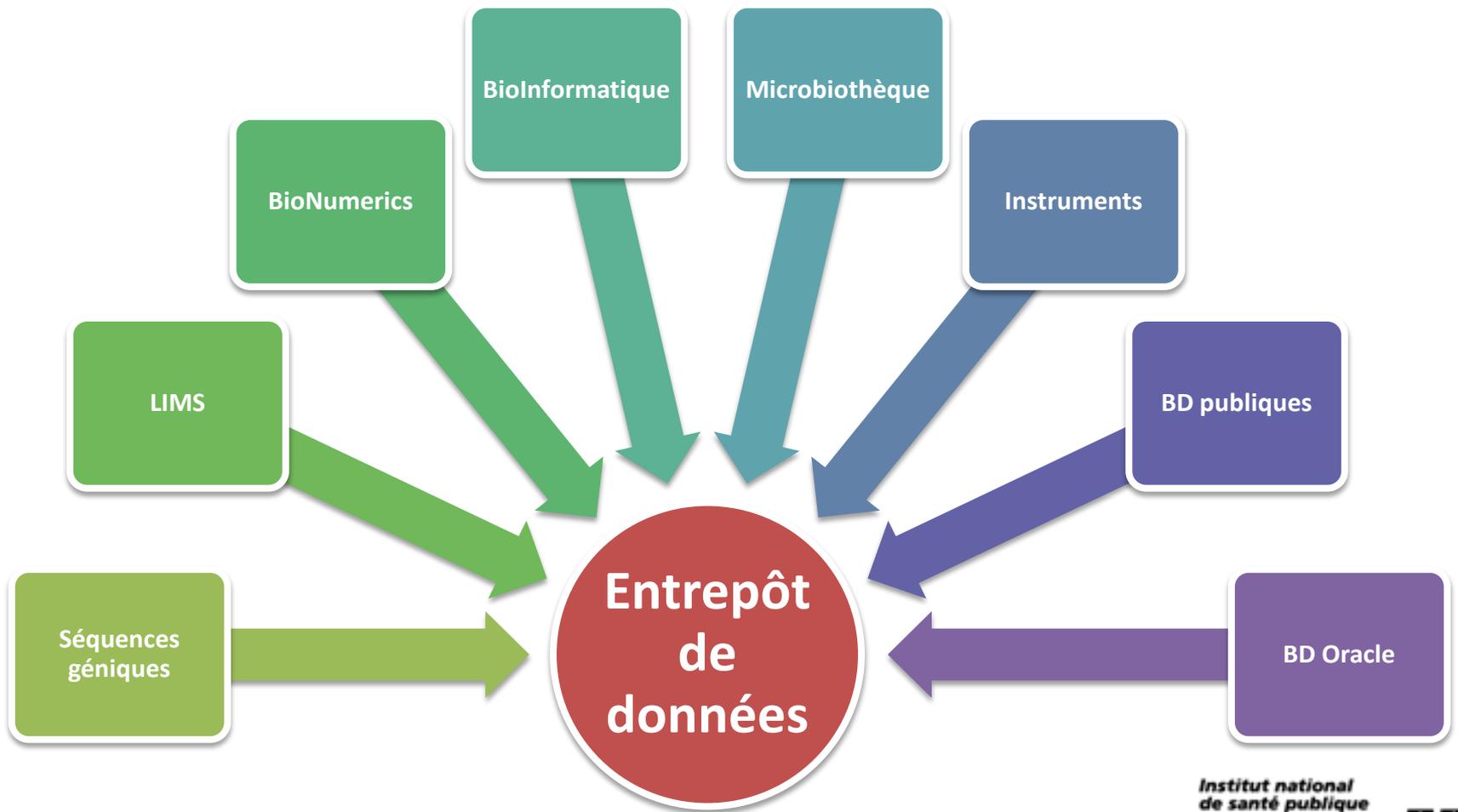
Afin de:

- améliorer les tests diagnostiques ;
- contribuer, par la diffusion des données, à élaborer des recommandations pour la prévention et le contrôle des infections en temps opportun (**intelligence épidémiologique**).

Observatoire : plateforme/organisation assurant le rassemblement, le catalogage et la diffusion de l'information – appliqué à l'évolution du microbiome et du résistome des pathogènes dans le temps et l'espace



Consolidation





Entrepôt de données

Structure informatique dans laquelle est centralisé un volume important de données consolidées à partir des diverses bases de données internes et externes d'une organisation, et qui est conçue pour offrir un accès rapide à l'information stratégique nécessaire à la prise de décision.



- Interfaces informationnelles



- Analyses multivariées
- Modèles prédictifs



Gains en performance

- Caractérisation plus poussée des agents étiologiques circulants (microbiome étiologique)
- Surveillance globale en temps opportun des épidémies – maladies en émergence
- Meilleure thérapeutique – prévention primaire (vaccination – utilisation des antimicrobiens)
- Nouvelles possibilités d'identifier de nouveaux pathogènes



SYMPOSIUM SUR LES NOUVELLES APPROCHES DE SURVEILLANCE DES MALADIES INFECTIEUSES – SOUS L'OPTIQUE DE LA SANTÉ PUBLIQUE.

JEUDI 22 MAI 2014

Au pavillon principal de l'Université de Montréal



OBJECTIF GÉNÉRAL

Apprécier certaines approches et technologies novatrices de surveillance sous l'optique de la santé publique, leurs forces et faiblesses, ainsi que leurs possibilités d'application dans certains domaines des maladies infectieuses.

Initiateurs

Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ), en collaboration avec le Département de microbiologie, infectiologie et immunologie de la Faculté de médecine, l'École de santé publique (ESPUM) et la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal (UdeM) ainsi que la Direction des risques biologiques et de la santé au travail (DRBST) de l'INSPQ.

Contexte

La surveillance en santé publique est définie comme un processus systématique de recueil, d'analyse, d'interprétation et de dissémination périodique des données relatives à la santé aux personnes concernées à des fins d'intervention visant au contrôle et à la prévention de la morbidité et de la mortalité dans la population, en d'autres termes « l'information pour l'action ». Les méthodes traditionnelles de surveillance, dont celles basées sur la déclaration ou le signalement des cas et sur les résultats d'analyses de laboratoire (labovigilance), bien qu'elles aient déjà fait leurs preuves, peuvent bénéficier des nouvelles approches mise de l'avant au cours des dernières années. Le LSPQ de l'INSPQ contribue de longue date aux fonctions de surveillance, tant par ses services d'expertise de laboratoire auprès des autorités de santé publique que par l'implantation de la labovigilance dans divers domaines, dont il est un des fers de lance. Dans le cadre des festivités de la 120^e année de la fondation du LSPQ, il est apparu pertinent de faire le point sur quelques unes de ces approches modernes en ce qui concerne les maladies infectieuses, sous l'optique de la santé publique, au moyen d'un symposium réunissant les principaux acteurs œuvrant en surveillance ou utilisant ses produits.

Horaire provisoire du programme *

- | | |
|--|--|
| • 07:30 - 08:15 - Salle P310 | Accueil |
| • 08:15 - 08:45 - Salle P310 | Mot de bienvenue et contexte |
| • 08:45 - 09:30 - Salle P310 | Génomique et méta-génomique |
| • 09:30 - 10:15 - Salle P310 | Surveillance syndromique ou non spécifique |
| • 10:15 - 10:30 | Pause-santé |
| • 10:30 - 11:15 - Salle P310 | Géomatique |
| • 11:15 - 12:00 - Salle P310 | Surveillance sentinelle |
| • 12:00 - 13:30 | Dîner et réseautage |
| • 13:30 - 15:30
Salles P310, P613, N425-3 et N425-4 | Toxi-infections alimentaires
Infections transmissibles sexuellement et par le sang
Infections respiratoires
Zoonoses et maladies vectorielles |
| • 15:30 - 15:45 | Pause-santé |
| • 15:45 - 16:45 - Salle P310 | Discussion en plénière |
| • 16:45 - 17:00 - Salle P310 | Mot de clôture et rappel concernant l'évaluation |

* Titres détaillés, conférenciers, modérateurs et objectifs spécifiques de chaque session sont à venir.





*La surveillance d'agents
étiologiques en temps réel est la
meilleure arme pour éviter une
nouvelle menace infectieuse*

WHO, Bill & Melinda Gates Foundation, World Bank - NIH