



**PRÉPARATION À UNE
PANDÉMIE DE GRIPPE**

LIGNES DIRECTRICES À L'INTENTION DES CLINIENS
ET DES LABORATOIRES DU QUÉBEC SUR L'UTILISATION
DES ÉPREUVES DE LABORATOIRE POUR LES VIRUS INFLUENZA

INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC



information



formation



recherche



coopération
internationale

PRÉPARATION À UNE PANDÉMIE DE GRIPPE

LIGNES DIRECTRICES À L'INTENTION DES CLINICIENS
ET DES LABORATOIRES DU QUÉBEC SUR L'UTILISATION
DES ÉPREUVES DE LABORATOIRE POUR LES VIRUS INFLUENZA

LABORATOIRE DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC

ASSOCIATION DES MÉDECINS MICROBIOLOGISTES INFECTIOLOGUES DU QUÉBEC

OCTOBRE 2006

AUTEURS

Micheline Fauvel, M. Sc.
Coordonnatrice, recherche et gestion de projets
Direction Planification, recherche et innovation
Institut national de santé publique du Québec

Michel Couillard, Ph. D.
Coordonnateur scientifique
Laboratoire de santé publique du Québec
Institut national de santé publique du Québec

AVEC LA COLLABORATION DE

Guy Boivin, M.D.
Microbiologiste infectiologue
Laboratoire régional de virologie
Centre hospitalier de l'Université Laval
Centre hospitalier universitaire de Québec

Anne-Marie Bourgault, M.D.
Microbiologiste infectiologue et directrice
Laboratoire de santé publique du Québec
Institut national de santé publique du Québec

Céline Rousseau, M.D.
Pédiatre et microbiologiste infectiologue
Laboratoire de microbiologie
Hôpital Sainte-Justine

Francine Tourangeau, M.D.
Microbiologiste infectiologue
Laboratoire de microbiologie
Hôpital régional de Rimouski

Ce document est disponible intégralement en format électronique (PDF) sur le site Web de l'Institut national de santé publique du Québec au : <http://www.inspq.qc.ca>.

Les reproductions à des fins d'étude privée ou de recherche sont autorisées en vertu de l'article 29 de la Loi sur le droit d'auteur. Toute autre utilisation doit faire l'objet d'une autorisation du gouvernement du Québec qui détient les droits exclusifs de propriété intellectuelle sur ce document. Cette autorisation peut être obtenue en formulant une demande au guichet central du Service de la gestion des droits d'auteur des Publications du Québec à l'aide d'un formulaire en ligne accessible à l'adresse suivante : <http://www.droitauteur.gouv.qc.ca/autorisation.php>, ou en écrivant un courriel à : droit.auteur@cspq.gouv.qc.ca.

Les données contenues dans le document peuvent être citées, à condition d'en mentionner la source.

CONCEPTION GRAPHIQUE
MARIE PIER ROY

DOCUMENT DÉPOSÉ À SANTÉCom (<http://www.santecom.qc.ca>)

DÉPÔT LÉGAL – 4^E TRIMESTRE 2006
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES NATIONALES DU QUÉBEC
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES CANADA
ISBN-13 : 978-2-550-48594-0 (VERSION IMPRIMÉE)
ISBN-10 : 2-550-48594-7 (VERSION IMPRIMÉE)
ISBN-13 : 978-2-550-48595-7 (VERSION PDF)
ISBN-10 : 2-550-48595-5 (VERSION PDF)

AVANT-PROPOS

Le rôle du laboratoire de microbiologie est déterminant pour distinguer une souche grippale saisonnière d'une souche virale inhabituelle à potentiel pandémique. Initiée par une demande clinique, la démarche du laboratoire s'inscrit aussi dans un cadre de surveillance et de vigie de la grippe. Par l'identification et la confirmation d'un pathogène émergent, les mesures déjà planifiées de traitement et de contrôle pourront être mises en place afin de prévenir ou limiter la propagation de la maladie.

Au cours des dernières années, le Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) a participé à l'élaboration de l'annexe du plan canadien portant sur les épreuves de laboratoire. L'annexe C du plan canadien a été élaborée avec des représentants des laboratoires de santé publique provinciaux et du Laboratoire national de microbiologie (LNM) de l'Agence de santé publique du Canada (ASPC). L'accessibilité aux épreuves de laboratoire varie d'une province à l'autre de sorte que les procédures énumérées dans l'annexe doivent être adaptées selon les contextes propres à chaque province. La situation du Québec est particulière puisque toutes les épreuves de laboratoire pour l'influenza sont effectuées dans des laboratoires hospitaliers. Les paragraphes suivants contiennent des propositions spécifiques de modalités à mettre en œuvre au Québec.

Au Québec, le LSPQ a été sollicité pour préparer les lignes directrices adaptées à la réalité québécoise en s'inspirant du plan canadien. Afin de mieux refléter la réalité des laboratoires hospitaliers de microbiologie, ce document a été élaboré grâce à la participation de membres de l'Association des médecins microbiologistes infectiologues du Québec.

MANDAT

Dans le cadre de la préparation à la pandémie, l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) s'est doté d'un plan d'action. Compte tenu de sa fonction et de son rôle au sein de l'INSPQ, le LSPQ a reçu le mandat de préparer le présent avis dans le but de rassembler l'information disponible sur les épreuves de laboratoire afin de renseigner les décideurs, les autorités de santé publique, les cliniciens et le personnel des laboratoires de microbiologie.

De plus, au cours d'une rencontre tenue à la Direction générale des services de santé et de médecine universitaire du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) le 10 mars 2006, le LSPQ a aussi reçu le mandat de développer des recommandations « terrain » à l'intention des cliniciens concernant l'utilisation des tests de laboratoire avant, au début et pendant une pandémie de grippe.

Ce document est constitué de deux parties. La première partie, s'adressant aux cliniciens, propose des recommandations sur l'utilisation des épreuves de laboratoire pour mettre en évidence le virus de la grippe pendant les périodes interpandémique, d'alerte prépandémique et pandémique. La deuxième partie, s'adressant au personnel de laboratoire, apporte des précisions sur les tests disponibles et des recommandations quant à leur utilisation en fonction de la phase de pandémie. Pendant la saison régulière, une attention particulière est apportée à la recherche du virus influenza A d'origine aviaire (H5) ou d'autres virus humains circulant ces dernières années (H1, H3).

TABLE DES MATIÈRES

ABRÉVIATIONS ET SIGLES	VII
1. PORTRAIT DE LA CAPACITÉ ANALYTIQUE AU QUÉBEC EN 2005-2006.....	1
2. SYSTÈME DE SURVEILLANCE PASSIVE DE L'INFLUENZA AU QUÉBEC.....	3
3. LE DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE DE L'INFLUENZA	5
3.1. Tests disponibles.....	5
3.2. Culture cellulaire.....	5
3.3. Détection d'antigènes par immunofluorescence.....	6
3.4. Détection d'acides nucléiques	7
3.5. Tests rapides de détection des antigènes	7
3.6. Sérologie	7
3.7. Évaluation de la résistance aux antiviraux.....	7
3.7.1. Évaluation de la résistance à l'amantadine.....	7
3.7.2. Évaluation de la résistance à l'oseltamivir (Tamiflu).....	8
4. TESTS RAPIDES : VALEUR ET LIMITES	9
4.1. Sensibilité et spécificité de deux tests rapides approuvés aux États-Unis	9
4.2. Implications.....	10
4.3. Limites des tests rapides	11
5. DIRECTIVES PARTICULIÈRES POUR LES MANUFACTURIERS DE TROUSSES DE DIAGNOSTIC <i>IN VITRO</i> POUR LA DÉTECTION DE VIRUS INFLUENZA A	13
6. TYPES D'ÉCHANTILLONS CLINIQUES REQUIS.....	15
6.1. Virus influenza A humains H3 et H1	15
6.2. Nouveau virus influenza d'origine aviaire ou autre	15
7. TECHNIQUES DE PRÉLÈVEMENTS.....	17
7.1. Aspiration nasopharyngée (ANP)	17
7.2. Lavage nasopharyngé	17
7.3. Écouvillonnage nasopharyngé	17
7.4. Écouvillonnage pharyngé	17
7.5. Lavage bronchoalvéolaire.....	18
8. RECOMMANDATIONS EN MATIÈRE DE BIOSÉCURITÉ	19
8.1. Recherche d'un nouveau virus influenza d'origine aviaire ou autre en phase 3.....	19
8.2. En phases 4, 5 et 6.....	20

9. TRANSPORT DES SPÉCIMENS	21
10. PÉRIODES ET PHASES PANDÉMIQUES SELON L'OMS.....	23
10.1. Période interpandémique	23
10.2. Période d'alerte à la pandémie.....	23
10.3. Période de pandémie	24
11. RECOMMANDATIONS À L'INTENTION DES CLINICIENS.....	25
11.1. Facteurs permettant d'orienter la décision de l'évaluation de laboratoire	25
11.2. Recommandations aux cliniciens en lien avec les phases pandémiques de l'OMS	26
11.2.1. Nouveau virus influenza A d'origine aviaire ou autre en périodes interpandémique et d'alerte prépandémique	26
11.2.2. Période pandémique.....	28
12. RECOMMANDATIONS À L'INTENTION DES LABORATOIRES	29
12.1. Général.....	29
12.2. Phase 3	29
12.3. Investigation de cas de grippe aviaire en phase 3	30
12.4. Phases 4 et 5	31
12.5. Phase 6	31
13. RÉFÉRENCES.....	33
ANNEXE 1 LISTE DES LABORATOIRES DU RÉSEAU EFFECTUANT DES ÉPREUVES POUR LES VIRUS INFLUENZA.....	35
ANNEXE 2 LISTE DES TROUSSES DIAGNOSTIQUES <i>IN VITRO</i> HOMOLOGUÉES PAR SANTÉ CANADA POUR LA DÉTECTION RAPIDE DE L'INFLUENZA.....	41
ANNEXE 3 LIGNES DIRECTRICES POUR LA SÉLECTION DES SOUCHES ISOLÉES DE VIRUS INFLUENZA POUR CARACTÉRISATION AU LABORATOIRE NATIONAL DE MICROBIOLOGIE, AGENCE DE SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA, WINNIPEG.....	45
ANNEXE 4 CRITÈRES CLINIQUES ET ÉPIDÉMIOLOGIQUES POUR LA RECHERCHE D'UN NOUVEAU VIRUS INFLUENZA A D'ORIGINE AVIAIRE OU AUTRE EN PÉRIODES INTERPANDÉMIQUE ET D'ALERTE.....	49
ANNEXE 5 AVIS SCIENTIFIQUE SUR LE PORT DU MASQUE DANS LES LABORATOIRES EN SITUATION DE PANDÉMIE D'INFLUENZA	53

ABRÉVIATIONS ET SIGLES

ARN	Acide ribonucléique
ASPC	Agence de santé publique du Canada
CDC	Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA
CHSLD	Centre hospitalier de soins de longue durée
DSP	Direction de santé publique
ESB	Enceinte de sécurité biologique
FDA	Food and Drug Administration, U.S. Department of Health and Human Services
IFA	Épreuve d'immunofluorescence
INSPQ	Institut national de santé publique du Québec
LNM	Laboratoire national de microbiologie, Winnipeg
LSPQ	Laboratoire de santé publique du Québec
MDCK	Madin-Darby canine kidney
MRS	Maladie respiratoire sévère
MSSS	Ministère de la Santé et des Services sociaux
NC	Niveau de confinement
OACI	Organisation de l'aviation civile internationale
OMS	Organisation mondiale de la santé
ONU	Organisation des nations unies
PMK	Primary monkey kidney
RT-PCR	Reverse transcription- Polymerase chain reaction
SAG	Syndrome d'allure grippale
TAAN	Test d'amplification d'acides nucléiques
VPN	Valeur prédictive négative
VPP	Valeur prédictive positive

1. PORTRAIT DE LA CAPACITÉ ANALYTIQUE AU QUÉBEC EN 2005-2006

À l'automne 2005, le LSPQ a fait parvenir un questionnaire¹ aux laboratoires de microbiologie du Québec afin de mettre à jour la liste des services présentement disponibles pour la détection du virus de l'influenza et d'identifier leurs capacités et leurs besoins en période de pandémie. Des 117 laboratoires visés, 114 ont répondu au questionnaire.

En octobre 2005, 74 laboratoires rapportaient effectuer une ou quelques épreuves pour la détection du virus influenza (annexe 1). Les trousse utilisées au moment du sondage étaient les suivantes (certains laboratoires utilisaient aussi une deuxième trousse de détection rapide) :

Nombre de laboratoires	Trousse	Manufacturier
54	Directigen Flu A+B	Becton-Dickinson
15	NOW Flu A & Flu B	Binax, Oxoid
3	Directigen Flu A	Becton-Dickinson
3	QuickVue Flu A/B	Quidel
1	Xpect Flu A & B	Remel
1	Non précisé	

Il faut réaliser que ce portrait est ponctuel et qu'il pourrait varier en fonction de différents facteurs dont les conditions d'approvisionnements spécifiques et l'homologation de nouvelles trousse.

La majorité des laboratoires (70/74) du réseau qui offrent des épreuves pour le diagnostic de l'influenza utilise des tests rapides de détection d'antigènes.

Parmi les 9 laboratoires qui utilisent une trousse d'immunofluorescence (IFA), 3 ne l'utilisent que pour la détection d'antigènes sur des échantillons cliniques d'origine respiratoire tandis que les 6 autres l'utilisent aussi pour l'identification du virus en culture.

De plus, 10 laboratoires effectuent la culture virale, 5 la détection d'acides nucléiques et 6 offrent le sérodiagnostic. Les laboratoires qui rapportent utiliser la détection d'acides nucléiques le font dans des algorithmes analytiques variables et en sont à différentes étapes de développement.

La capacité diagnostique des laboratoires varie en fonction des saisons. Au Québec, la recherche du virus de l'influenza décline généralement à partir de la fin du mois d'avril et les activités reprennent vers le début de novembre. Quelques laboratoires possédant les cellules MDCK pour l'isolement cessent totalement de les utiliser durant l'été.

Il faut compter au moins 2 à 3 semaines pour permettre à ces laboratoires de repartir les lignées cellulaires appropriées et de fabriquer une quantité suffisante de cellules pour leur inoculation avec des spécimens cliniques en dehors de la saison grippale. Des 10 laboratoires du Québec qui effectuent l'isolement (voir annexe 1), au moins 4 maintiennent à l'année longue des cellules compétentes (MDCK, poumon de vison ou primaires de rein de singe) permettant de cultiver les virus influenza.

2. SYSTÈME DE SURVEILLANCE PASSIVE DE L'INFLUENZA AU QUÉBEC

Depuis plusieurs années déjà, le LSPQ recueille les données sur les épreuves pour l'influenza réalisées par un nombre croissant de laboratoires hospitaliers dans chaque région. Cette surveillance passive permet de dresser un profil représentatif de la situation au Québec. En 2005-2006, 29 laboratoires fournissent leurs données sur une base hebdomadaire. Les données compilées au LSPQ sont envoyées au Bureau de surveillance et de vigie du MSSS et à l'ASPC. Ces données sont disponibles sur le site de l'INSPQ à l'adresse courriel suivante :

<http://www.inspq.qc.ca/dossiers/influenza/surveillance/20052006/DonneesHebdo.asp?DS=Inf&DS2=2&DS3=3> et sur le site de l'ASPC à : http://www.phac-aspc.gc.ca/bid-bmi/dsd-dsm/rvdi-divr/index_f.html.

Pendant la saison grippale 2004-2005, 28 laboratoires sentinelles participaient à la surveillance de l'influenza. De la fin novembre au début d'avril, 20 450 spécimens cliniques ont été analysés par ces laboratoires pour la recherche de virus respiratoires et 3 727 (18 %) se sont avérés positifs pour l'influenza. Pendant l'activité maximale de cette saison, plus de 1 400 tests étaient effectués hebdomadairement par ces laboratoires sentinelles et jusqu'à 500 spécimens positifs pour l'influenza (36 %) étaient rapportés pendant les deux semaines de pointe.

Afin d'améliorer ce système en vue de sa préparation à une pandémie, le LSPQ a développé un portail pour la saisie électronique de ces données. Cet outil permettra d'obtenir un portrait de la situation en temps réel et ce projet a aussi pour objectif d'enrôler tous les laboratoires effectuant des analyses pour l'influenza.

3. LE DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE DE L'INFLUENZA

3.1. TESTS DISPONIBLES

Plusieurs tests de laboratoire peuvent mettre en évidence le virus de l'influenza : la culture virale, l'IFA, les tests d'amplification d'acides nucléiques (TAAN) et les tests rapides (essais immunoenzymatiques, immunochromatographiques et autres). La culture virale et les TAAN (ex. RT-PCR) peuvent être utilisés pour la confirmation d'un test rapide positif pour la présence d'un virus influenza et aussi dans le cas de tests rapides négatifs.

La compréhension du niveau d'activité de l'influenza et des limites des épreuves est un élément critique pour l'utilisation appropriée des tests rapides afin de guider l'intervention thérapeutique et pour appliquer les mesures de prévention de l'infection. Les tests rapides ne permettent pas d'identifier le sous-type du virus de l'influenza. Il sera donc important d'effectuer des épreuves supplémentaires de confirmation dans plusieurs circonstances.

En plus de la confirmation de l'infection chez des patients, les épreuves adéquates sont requises pour maintenir une vigie, pour détecter des nouveaux sous-types en émergence, pour confirmer une infection pendant des périodes de faible prévalence, pour surveiller les types et sous-types des souches circulant dans la province. Ces données sont essentielles à la sélection des souches vaccinales et à la surveillance de l'apparition de la résistance aux antiviraux.

3.2. CULTURE CELLULAIRE

La culture virale est une technique sensible pour démontrer la présence du virus influenza et offre l'avantage de rendre le virus disponible pour son identification, sa caractérisation antigénique et génomique, l'analyse de sa résistance aux antiviraux et la préparation vaccinale.

La lignée cellulaire MDCK est la lignée de choix pour isoler le virus de l'influenza. Les cellules de poumon de vison offrent une alternative acceptable; toutefois, peu de laboratoires utilisent cette lignée à l'heure actuelle. Certains laboratoires préfèrent utiliser des cellules primaires de rein de singe (PMK), plus polyvalentes, car elles permettent l'isolement d'autres virus des voies respiratoires; ces cellules sont toutefois moins sensibles à l'infection par le virus de l'influenza.

La mise en culture se fait dans *un milieu sans sérum de veau mais contenant de la trypsine* pour permettre aux virions de pénétrer dans les cellules. L'infection virale est détectée par l'apparition d'un effet cytopathogène; la confirmation du type viral est réalisée par immunofluorescence à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques aux virus de l'influenza A ou B. Les cultures virales qui ne montrent pas d'effet cytopathogène sont soumises à une épreuve d'hémadsorption pour vérifier la présence du virus avant de les considérer

négatives. Les cultures donnant une hémadsorption positive sont inoculées à nouveau sur des cellules fraîches jusqu'à l'obtention d'un effet cytopathogène.

Le sous-typage de souches sélectionnées est effectué au LNM à Winnipeg, Section des virus respiratoires, par inhibition de l'héماغlutination avec des antisérums animaux. En périodes pré-pandémique et pandémique (phases 3 à 6 de l'OMS), une caractérisation rapide de la souche pandémique sera faite au LSPQ par une épreuve d'amplification d'acides nucléiques. L'identification pour la première fois d'un nouveau sous-type viral dans la province devra être confirmée par un autre laboratoire avant de déclencher une alerte de santé publique. Il est important de préciser que les isolats viraux constituent une matière infectieuse amplifiée et que des précautions particulières doivent être prises au moment de l'emballage et du transport du matériel.

3.3. DÉTECTION D'ANTIGÈNES PAR IMMUNOFLUORESCENCE

La technique de préparation des frottis pour la détection d'antigènes par immunofluorescence varie selon les laboratoires. La réussite de la technique dépend en grande partie de la qualité du prélèvement qui doit contenir un nombre suffisant de cellules. Il n'existe pas de consensus à ce sujet : les directives de certains tests rapides recommandent d'observer 20 cellules épithéliales avant d'émettre un résultat négatif, le guide de l'AMMIQ² précise que <25 cellules épithéliales par puits représente une quantité sous-optimale alors que certains laboratoires ont adopté 10 cellules par puits comme valeur seuil.

La technique de base consiste à centrifuger le milieu liquide contenant ces cellules de façon à les concentrer puis à les déposer, après lavage ou non dépendant de la présence de mucus, sur des puits d'une lame porte-objet à microscopie optique.

Des lames à plusieurs puits spécifiques pour l'immunofluorescence sont disponibles commercialement. Il est important de disposer une quantité suffisante de cellules sur chaque puits (au moins 2 puits), de laisser sécher puis de fixer à l'acétone froide pendant 10 minutes. La préparation est ensuite colorée avec des anticorps monoclonaux spécifiques, idéalement conjugués à l'isothiocyanate de fluorescéine (immunofluorescence directe). La réaction des antigènes viraux avec des anticorps monoclonaux non conjugués doit être mise en évidence avec des anticorps anti-souris marqués (immunofluorescence indirecte).

Lorsque comparée à la culture virale, la sensibilité de la technique d'immunofluorescence pour détecter les antigènes de l'influenza dans les spécimens respiratoires varie de 70-100 %, la spécificité de 80-100 %, la valeur prédictive positive (VPP) de 85-94 % et la valeur prédictive négative (VPN) de 96-100 %.

3.4. DÉTECTION D'ACIDES NUCLÉIQUES

Il n'existe pas pour l'instant de trousse commerciale homologuée permettant la recherche d'acides nucléiques du virus de l'influenza dans les spécimens cliniques à des fins de diagnostic. Les techniques de RT-PCR ne sont disponibles actuellement que dans 5 laboratoires au Québec. Elles peuvent être utilisées pour le sous-typage d'isolats cliniques à des fins de diagnostic, de recherche ou de surveillance.

L'amplification génique permet la détection de l'ARN du virus de l'influenza provenant de particules viables et non viables. Elle est généralement plus sensible que la culture virale. Des taux de détection supérieurs à la culture de l'ordre de 2 à 13 % sont rapportés.

3.5. TESTS RAPIDES DE DÉTECTION DES ANTIGÈNES

La plupart des laboratoires de microbiologie qui offrent le diagnostic de l'influenza au Québec utilisent des tests rapides de détection d'antigène influenza. Les prélèvements respiratoires sont habituellement traités avec un détergent ou un réactif provoquant la lyse des cellules et permettant ainsi la libération des antigènes viraux. Les instructions du manufacturier contenues dans la trousse doivent être suivies rigoureusement. La prochaine section de ce document traite spécifiquement de la valeur de ces tests en fonction de l'incidence de la grippe dans la population ciblée et de leurs limites.

3.6. SÉROLOGIE

La sérologie est d'une utilité limitée pour le diagnostic de l'influenza; elle fournit un résultat qui ne peut être obtenu rapidement. La technique sérologique utilisée dans les laboratoires au Québec est la fixation du complément. Cette technique est disponible dans 4 laboratoires.

Un diagnostic sérologique présomptif d'influenza ne peut être établi sans qu'il soit possible d'observer une séroconversion ou une hausse significative du taux d'anticorps (au moins 4 fois le titre ou 2 dilutions) entre un sérum prélevé en phase aiguë de la maladie et un deuxième prélevé environ 2 à 3 semaines plus tard. Un titre élevé à partir d'un seul sérum ($\geq 1/320$) peut être indicatif d'une infection récente s'il y a une histoire clinique compatible.

3.7. ÉVALUATION DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIVIRAUX

3.7.1. Évaluation de la résistance à l'amantadine

Dans le cadre d'une investigation d'écllosion d'influenza en centre hospitalier de soins de longue durée (CHSLD), lorsque la résistance à l'amantadine est suspectée et sur recommandation de la direction de santé publique, le LSPQ offre une épreuve pour détecter

les mutations associées à la résistance par le séquençage d'une portion du gène M2. Lorsqu'une résistance est suspectée, utiliser la procédure suivante :

- prélever des spécimens respiratoires ou utiliser des souches isolées sur culture et soumettre au LSPQ;
- le LSPQ procèdera au séquençage de la région ciblée du gène M2 du virus influenza et soumettra un rapport préliminaire.

Afin d'obtenir un tel examen, veuillez communiquer avec le LSPQ pour prendre les arrangements nécessaires.

3.7.2. Évaluation de la résistance à l'oseltamivir (Tamiflu)

Le LNM de Winnipeg a annoncé récemment la disponibilité d'une épreuve pour évaluer la résistance à l'oseltamivir (Tamiflu) des souches influenza en circulation afin d'orienter les guides de traitement des malades infectés par ce virus. Lorsqu'une résistance au Tamiflu est suspectée, la procédure suivante doit être utilisée :

- pour les tests associés à la prophylaxie de personnes, les spécimens pour culture virale doivent être prélevés à partir du moment où l'on suspecte la résistance. Si possible, une souche isolée avant le début de la prophylaxie devrait également être soumise pour analyse;
- le test sera effectué par le LNM sur la souche virale qui aura été isolée en culture cellulaire, et non sur l'échantillon clinique. Par conséquent, les prélèvements doivent être acheminés dans un laboratoire du réseau effectuant la culture des virus de l'influenza. La souche sera ensuite envoyée au LSPQ qui veillera à l'acheminer au LNM.

Afin d'obtenir un tel examen, veuillez communiquer avec le LSPQ pour prendre les arrangements nécessaires.

4. TESTS RAPIDES : VALEUR ET LIMITES

4.1. SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DE DEUX TESTS RAPIDES APPROUVÉS AUX ÉTATS-UNIS

L'OMS, les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) et la U.S. Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis ont émis des avis et recommandations sur l'utilisation des tests rapides pour détecter l'influenza A en fonction de la présence appréhendée de la grippe aviaire. Ces documents peuvent être consultés sur les sites suivants ^{3,4,5} et sont résumés dans cette section :

- <http://www.cdc.gov/flu/professionals/labdiagnosis.htm>
- http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/rapid_testing/en/index.html
- <http://www.fda.gov/cdrh/oivd/tips/rapidflu.html>

Plusieurs tests pour la détection rapide de l'influenza sont homologués au Canada (annexe 2) . Ils peuvent détecter :

- l'influenza A et B sans permettre l'identification du type;
- l'influenza A seulement;
- l'influenza A et B en permettant la caractérisation du type.

Ils ne permettent pas présentement de distinguer les sous-types H et N d'influenza A.

Les tests rapides ont été évalués avec différents types de spécimens et dans différentes populations. Ils présentent des sensibilités accrues dans les populations pédiatriques parce que les enfants excrètent plus de virus et plus longtemps que les adultes. Le tableau suivant présente des données générées avec 2 tests rapides ⁵. La spécificité peut varier aussi en fonction de l'âge de la population et du type de spécimen.

Sensibilité et spécificité compilées à partir de 2 tests rapides *				
Spécimen	Type de virus influenza détecté	Population^a	Sensibilité %**	Spécificité %*
Écouvillonnage de gorge	A	Pédiatrique ^b	65-90	81-91
		Adulte	24-91	69-94
Écouvillonnage de gorge	A et B	Non spécifié	59-82	81-93
Lavage ou aspiration nasopharyngé	A	Pédiatrique ^b	82-95	98-100
		Adulte	53-87	90-100
Lavage nasal	A	Pédiatrique ^b	36-88	92-99
		Adulte	9-99	59-100
Lavage ou aspiration nasal	A	Non spécifié	65-84	95-99
Écouvillonnage nasal	A et B	Non spécifié	65-87	87-97

* Adapté de : FDA, Cautions in using rapid tests for detecting influenza A viruses. 14 novembre 2005, disponible à : <http://www.fda.gov/cdrh/oivd/tips/rapidflu.html>. Trousses et manufacturiers non identifiés.

** Intervalle de confiance 95 %.

^a Données des É.-U., de l'Australie ou de la Nouvelle-Zélande pendant des saisons où les souches influenza prédominantes étaient A H3 et A H1.

^b Âge non spécifié, mais majoritairement moins de 10 ans.

4.2. IMPLICATIONS

Les tests rapides démontrent des sensibilités plus faibles que la culture ou la RT-PCR alors que les spécificités sont assez élevées. Il faut réaliser que des résultats faussement positifs ou faussement négatifs pourront être obtenus aussi avec les tests rapides et que le taux variera en fonction du degré d'activité de l'influenza dans la population. En effet c'est la prévalence de l'infection qui influencera les valeurs prédictives positives et négatives. Le tableau qui suit présente un exemple de la variation des valeurs prédictives lorsqu'une même trousse est utilisée en début et au pic de l'activité grippale où des prévalences de 1 % et 25 % sont simulées.

Valeurs prédictives selon les prévalences		
Prévalence de l'influenza	1 000 / 100 000 (1 %)	25 000 / 100 000 (25 %)
Individus infectés	1 000	25 000
Individus non infectés	99 000	75 000
Sensibilité de la trousse	80 %	80 %
Spécificité de la trousse	97 %	97 %
Vrais positifs	800	20 000
Faux positifs	2 970	2 250
Vrais négatifs	96 030	72 750
Faux négatifs	200	5 000
VPP	21,2 %	89,8 %
VPN	99,8 %	93,6 %

Hors saison ou au tout début de l'activité, les VPN sont plus élevées et les VPP plus faibles, les résultats faussement positifs seront alors plus probables; c'est pourquoi il est important de confirmer les premiers résultats positifs générés avec une trousse rapide de détection d'antigènes. Pendant la saison d'activité intense, les VPP seront plus élevées générant peu de faux positifs pendant que les VPN seront un peu plus faibles.

Présentement, les informations préliminaires sur l'utilisation des tests rapides en Asie suggèrent que leur sensibilité est faible chez les cas dont l'infection par l'influenza A H5N1 a été confirmée par culture. Les données sur l'amplitude de l'excrétion de virus aviaire chez les humains infectés sont présentement limitées. Le meilleur spécimen clinique pour la détection optimale de la souche H5N1 chez l'humain est encore inconnu. Pour ces raisons, on encourage le prélèvement de différents spécimens respiratoires incluant ceux des voies respiratoires inférieures chez les cas suspects de grippe aviaire.⁴

4.3. LIMITES DES TESTS RAPIDES

Lors de l'interprétation des résultats obtenus avec des tests rapides, il est important de considérer les données de laboratoire et de surveillance concernant la circulation des souches et le niveau d'activité de l'influenza. Les points suivants devraient être considérés :

- lorsque l'activité est faible, les résultats positifs d'un test rapide devraient être confirmés par culture ou par RT-PCR;
- durant la période de pointe de l'activité, quand les VPN sont un peu plus faibles, les faux négatifs sont plus probables;

- au début de la saison grippale, les résultats négatifs devraient être interprétés avec prudence et la confirmation par culture ou PCR devrait être considérée parce qu'un résultat négatif n'élimine pas nécessairement une infection par le virus de l'influenza;
- les tests rapides ne fournissent aucune information sur les sous-types viraux et ne peuvent distinguer les souches d'influenza A infectant les humains (H1, H2, H3) de celles infectant les oiseaux ou autres animaux (H5, H7, H9).

Il est donc important de prévoir la collecte de spécimens adéquats permettant la confirmation par des tests supplémentaires en fonction des périodes d'activité et lorsque des souches nouvelles sont appréhendées.

Enfin, lors de l'évaluation de trousse commerciales, il est recommandé d'analyser les données publiées avec les mises en garde suivantes :

- la comparaison des sensibilités et spécificités des trousse commerciales qui sont publiées par les manufacturiers dans leurs monographies requiert de la prudence puisque leurs études ont été effectuées avec des groupes de patients qui diffèrent et dont les spécimens variables ont été prélevés à différents moments après le début des symptômes;
- la performance d'un test avec des échantillons préalablement congelés peut parfois démontrer une plus grande sensibilité qu'avec des spécimens frais;
- le prélèvement, la conservation et le transport inappropriés des spécimens peuvent générer des résultats faussement négatifs;
- les valeurs prédictives des tests dépendront du niveau d'activité de l'influenza dans la communauté.

La liste des trousse de détection rapide d'antigènes influenza présentement homologuées au Canada apparaît à l'annexe 2. Pour obtenir la liste à jour des instruments médicaux homologués à cette fin, veuillez en faire la demande par courriel à : device_licensing@hc-sc.gc.ca ou par téléphone au (613) 957-1909.

5. DIRECTIVES PARTICULIÈRES POUR LES MANUFACTURIERS DE TROUSSES DE DIAGNOSTIC *IN VITRO* POUR LA DÉTECTION DE VIRUS INFLUENZA A

En avril dernier, la FDA⁶ émettait des directives à l'intention des manufacturiers qui produisent des troussees pour la détection du virus influenza A dans les spécimens cliniques. Il leur est demandé de modifier les monographies des troussees déjà homologuées aux États-Unis afin de préciser que leur approbation n'était pas basée sur des données de performance à l'égard de nouvelles souches de virus influenza affectant les humains, telle la souche aviaire. Leur performance à l'égard du virus influenza A H5N1 hautement pathogène est présentement inconnue. Ces directives visent les troussees d'immunofluorescence, les EIA et les tests rapides de détection d'antigènes.

Il devient donc important de considérer ces directives lorsqu'une trousse d'immunofluorescence est envisagée pour la confirmation.

6. TYPES D'ÉCHANTILLONS CLINIQUES REQUIS

6.1. VIRUS INFLUENZA A HUMAINS H3 ET H1

Il est possible d'identifier les virus influenza humains (H3, H1) à partir de nombreux types d'échantillon : aspiration ou lavage nasopharyngé, écouvillonnage nasopharyngé, écouvillonnage pharyngé, lavage bronchoalvéolaire et tissu pulmonaire. Le nasopharynx est le site de choix. Les expectorations ne sont pas acceptables pour la recherche des virus influenza humains.

Les descriptions des techniques de prélèvements sont tirées du Guide pratique, Diagnostic des infections causées par les virus influenza A et B².

Pour l'OMS⁷, l'aspiration nasopharyngée obtenue dans les 3 premiers jours après le début des symptômes constitue l'échantillon optimal pour détecter l'influenza. Les lavages et écouvillons nasopharyngés sont aussi bien acceptables.

La nature et le site du prélèvement dépendent de la méthode utilisée pour rechercher le virus. Le spécimen idéal doit donc tenir compte de la méthode utilisée au laboratoire où sera envoyé le spécimen clinique.

Note : *Les tests rapides recensés dans les laboratoires du Québec à l'automne 2005 fonctionnent tous avec les aspirations, lavages et écouvillonnages nasopharyngés.*

La FDA rapporte aussi que les tests rapides démontrent une meilleure performance avec les aspirations et lavages nasopharyngés.

Il est conseillé de contacter le responsable du laboratoire qui fera l'analyse pour connaître le spécimen de choix en fonction de la ou des technique(s) offerte(s) dans son établissement. Quelle que soit la technique utilisée, elle doit satisfaire aux instructions du fabricant de la trousse utilisée et/ou du laboratoire.

6.2. NOUVEAU VIRUS INFLUENZA D'ORIGINE AVIAIRE OU AUTRE

Des données publiées récemment⁸ sur les cas humains de grippe aviaire en Asie suggèrent que le virus H5N1 infecte préférentiellement les cellules du tractus respiratoire inférieur. C'est ce qui pourrait expliquer que dans certaines études, les échantillons de gorge ont donné de meilleurs rendements que les spécimens nasaux. Dans ce contexte, il est préférable d'effectuer des prélèvements de plusieurs sites respiratoires afin d'augmenter les chances d'isoler le virus dans les cas suspects d'infection respiratoire sévère par un nouveau virus influenza A d'origine aviaire ou autre.

7. TECHNIQUES DE PRÉLÈVEMENTS

7.1. ASPIRATION NASOPHARYNGÉE (ANP)

Introduire par la narine jusqu'au nasopharynx un cathéter French n° 8 en plastique souple relié à une trappe à succion (Luki) et une pompe à vide. À l'aide du pouce, appliquer une succion intermittente en retirant lentement le cathéter. La procédure peut être répétée dans l'autre narine dans le but d'obtenir de 0,2 à 0,8 ml de sécrétion. Rincer la tubulure avec 1 à 2 ml de milieu de transport viral.

L'aspiration nasopharyngée a l'avantage d'être applicable à la fois pour l'isolement viral et la recherche d'antigène par EIA ou immunofluorescence.

7.2. LAVAGE NASOPHARYNGÉ

Un tube auquel est relié une seringue à bulbe contenant 5 à 7 ml de saline est inséré dans le nez du patient. La poire est rapidement comprimée puis relâchée, ce qui permet d'aspirer les sécrétions du nasopharynx. Cette procédure est utilisée dans certains milieux pédiatriques malgré le fait qu'elle soit plus agressive que l'aspiration pour le patient.

7.3. ÉCOUVILLONNAGE NASOPHARYNGÉ

Introduire une tige mince et flexible en coton ou dacron dans la narine jusqu'à la partie postérieure du pharynx. Laisser la tige en place quelques secondes, exercer un mouvement de rotation puis retirer la tige. Agiter l'écouvillon dans le milieu de transport afin d'extraire les sécrétions et bien essorer sur le rebord. Jeter l'écouvillon et visser fermement le bouchon.

Les tiges en bois et en alginate de calcium sont à proscrire.

7.4. ÉCOUVILLONNAGE PHARYNGÉ

À l'aide d'un abaisse-langue, déprimer la portion postérieure de la langue. À l'aide d'un écouvillon en coton ou dacron, frotter la portion postérieure du pharynx et les amygdales en évitant de toucher à la luette. Agiter l'écouvillon dans le milieu de transport afin d'extraire les sécrétions et bien essorer sur le rebord. Jeter l'écouvillon et visser fermement le bouchon.

L'écouvillonnage pharyngé n'est pas recommandé car la présence d'une faible quantité de cellules épithéliales ciliées rend cet échantillon sous optimal. On devrait donc privilégier d'autres types de spécimens et n'utiliser celui-ci qu'en dernier recours.

7.5. LAVAGE BRONCHOALVÉOLAIRE

Le lavage bronchoalvéolaire est une technique spécialisée sous contrôle fibroscopique et anesthésie locale qui consiste en un lavage pulmonaire à l'aide de solutions salines utilisé entre autres dans le diagnostic des infiltrats pulmonaires diffus chez les immunodéprimés.

8. RECOMMANDATIONS EN MATIÈRE DE BIOSÉCURITÉ

L'OMS⁹ et l'ASPC¹⁰ ont émis des recommandations provisoires en matière de biosécurité pour le traitement de spécimens provenant de cas suspects de grippe aviaire en date de juin 2006. Le LSPQ avisera les laboratoires de toute modification apportée par ces organismes.

En période interpandémique, la manipulation des spécimens de diagnostic et l'exécution des tests pour la recherche des virus respiratoires incluant l'influenza s'effectuent dans des laboratoires de niveau de confinement 2 (NC2) en respectant les pratiques de base recommandées dans les « Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire de Santé Canada »¹¹.

8.1. RECHERCHE D'UN NOUVEAU VIRUS INFLUENZA D'ORIGINE AVIAIRE OU AUTRE EN PHASE 3

Lorsque la présence d'un virus influenza aviaire est suspectée, les laboratoires dont les installations sont conformes aux exigences du NC2, mais qui utilisent les pratiques opérationnelles requises du NC3 peuvent :

- préparer des portions aliquotes ou diluer des spécimens;
- effectuer les tests de détection qui ne font pas appel à la propagation virale *in vitro* ou *in vivo*, telles les épreuves de détection d'antigènes ou d'acides nucléiques;
- préparer des frottis avec fixation à la chaleur ou chimique.

Les pratiques de NC3 doivent respecter entre autres, les aspects suivants :

- le personnel doit porter des vêtements protecteurs (sarraus serrés aux poignets avec fermeture arrière, gants, protection respiratoire N95);
- la centrifugation des matières infectieuses doit se faire dans des récipients fermés, placés dans des godets de sécurité ou des rotors scellés qui seront déchargés dans une enceinte de sécurité biologique (ESB);
- toute procédure pouvant générer des aérosols ou des gouttelettes doit être effectuée dans une ESB.

Cette liste n'est pas exhaustive et il est recommandé de consulter les pratiques de base du NC3 dans le document « Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire de Santé Canada ».

Lorsqu'une installation ne rencontre pas les exigences de base du NC2, les spécimens devraient être dirigés vers un laboratoire dont les installations sont adéquates.

Il est important de rappeler au personnel qu'en tout temps les bonnes pratiques de laboratoire combinées au travail dans une ESB contribueront de manière significative à la protection du personnel, particulièrement lorsque le risque accru associé à la manipulation de certains spécimens n'aura pas été correctement identifié.

Les laboratoires dont les installations physiques sont conformes aux exigences du NC3 peuvent :

- effectuer les tests diagnostiques impliquant la propagation de virus *in vitro* ou *in vivo*;
- procéder à l'extraction des acides nucléiques dans les échantillons cliniques des cas suspects ou confirmés.

8.2. EN PHASES 4, 5 ET 6

À l'heure actuelle, les recommandations en matière de biosécurité pour la manipulation de spécimens cliniques dans les phases 4, 5 et 6 de l'OMS demeurent celles précisées ci-haut. Il est toutefois anticipé que le niveau de biosécurité requis dans ces phases de la pandémie sera réexaminé par le Bureau de la sécurité des laboratoires de Santé Canada en consultation avec le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada, les CDC et l'OMS. Le LSPQ diffusera toutes nouvelles lignes directrices. L'annexe 5 présente des enjeux concernant le protection respiratoire en laboratoire.

9. TRANSPORT DES SPÉCIMENS

L'emballage, l'expédition et le transport de spécimens ou des cultures par voie terrestre, ferroviaire, aérienne ou maritime doivent être conformes aux exigences du Règlement sur le transport des marchandises dangereuses de Transport Canada¹² actuellement en vigueur.

Transport Canada s'apprête toutefois à modifier sa réglementation pour l'actualiser avec celle pour le transport aérien de marchandises dangereuses de l'ONU et de l'Organisation de l'aviation civile internationale (OACI). Elle peut être consultée dans la Gazette du Canada du 30 septembre 2006¹³. On entrevoit que cette nouvelle réglementation sera en vigueur au cours de l'année 2007.

Dans la réglementation actuelle, les matières infectieuses sont classées selon leur groupe de risque. Les virus influenza A de type H1N1 ou H3N2 qui circulent présentement appartiennent au groupe de risque 2. De ce fait, les spécimens de diagnostic et les cultures sont exempts du règlement mais doivent être transportés dans des contenants de type 1B.

Le virus influenza A H5N1 aviaire hautement pathogène est présentement classé dans le groupe de risque 3. Les spécimens provenant de cas suspects de grippe aviaire répondant aux critères cliniques et épidémiologiques (voir section 11.2.1) et les cultures sont réglementés et doivent être transportés dans des contenants de type 1A accompagnés d'un document d'expédition si le transport routier est utilisé. Ces informations sont résumées dans le tableau ci-après.

Dans la prochaine réglementation proposée par Transport Canada, les matières infectieuses sont classées en deux catégories. Les souches de virus influenza A H3N2 ou H1N1 circulant présentement appartiennent à la catégorie B et nécessitent des contenants de type 1B, qu'ils soient sous forme de cultures ou de spécimens de diagnostic. Quant au virus influenza A aviaire hautement pathogène, il est inclus dans la catégorie A et une culture doit être emballée dans un contenant de type 1A accompagné d'un document d'expédition. Les spécimens de diagnostic sont par toutefois réglementés en fonction des exigences de la catégorie B et peuvent être transportés dans des contenants de type 1B.

Le choix de l'emballage est un élément très important pour contrôler efficacement et minimiser les risques pendant le transport des matières infectieuses. Il est essentiel que les emballages primaire et secondaire sélectionnés soient étanches afin de prévenir les fuites qui pourraient provoquer une exposition à une matière infectieuse. En tout temps les contenants doivent être conformes aux normes prescrites. Un emballage triple est requis autant pour la matière infectieuse de catégorie A que celle de catégorie B.

Résumé de la réglementation canadienne pour le transport routier des virus influenza						
Matière infectieuse Classe 6.2	Réglementation actuelle			Réglementation proposée		
	Groupe de risque	Spécimen de diagnostic	Culture	Catégorie	Spécimen de diagnostic	Culture
Influenza A H3N2 ou H1N1	2	Exempt du règlement Contenant type 1B	Exempt du règlement Contenant type 1B	B	Catégorie B Étiquette UN 3373 Contenant type 1B Tél. expéditeur	Catégorie B Étiquette UN 3373 Contenant type 1B Tél. expéditeur
Influenza A hautement pathogène H5, H7	3	Réglementé Contenant de type 1A Document d'expédition	Réglementé Contenant de type 1A Document d'expédition	A	Catégorie B Étiquette UN 3373 Contenant type 1B Tél. expéditeur	Catégorie A Étiquette UN 2814 Contenant type 1A Document d'expédition réglementé

10. PÉRIODES ET PHASES PANDÉMIQUES SELON L'OMS

L'OMS a défini 3 périodes distinctes aux fins de la préparation à une pandémie :

1. la période **interpandémique** où il y a des éclosions d'influenza chez les animaux ou les oiseaux, mais pendant laquelle aucune nouvelle souche de virus grippal n'est détectée chez les humains;
2. la période **d'alerte à la pandémie** caractérisée par des éclosions chez les humains causées par une nouvelle souche de virus grippal;
3. la période **pandémique** pendant laquelle il y a transmission soutenue du virus entre humains dans la population générale.

Chaque période est subdivisée en phases précises, en fonction d'une évaluation du risque de pandémie. Le passage d'une phase à une autre est déclenché par divers facteurs dont la propagation de la maladie chez les humains et les caractéristiques des souches de virus grippal en circulation. Chaque phase correspond à une série d'activités recommandées pour l'OMS, la communauté internationale, les gouvernements et l'industrie.

10.1. PÉRIODE INTERPANDÉMIQUE

Phase 1 : Aucun nouveau sous-type de virus grippal n'a été dépisté chez les humains. Un sous-type de virus grippal ayant causé une infection chez les humains peut être présent chez les animaux. Si c'est le cas, on considère que le risque d'infection ou de maladie chez les humains est faible.

Phase 2 : Aucun nouveau sous-type de virus grippal n'a été dépisté chez les humains. Toutefois, un sous-type de virus grippal circulant chez les animaux présente un risque important de maladie chez les humains.

10.2. PÉRIODE D'ALERTE À LA PANDÉMIE

Phase 3 : Il y a un ou des cas d'infection humaine causée par un nouveau sous-type de virus grippal, mais sans transmission de personne à personne, ou tout au plus quelques rares cas de transmission à une autre personne par suite d'un contact étroit.

Phase 4 : Il y a un ou des petits groupes de cas dans lesquels il y a une transmission limitée de personne à personne, mais la propagation est très localisée, donnant à penser que le virus n'est pas bien adapté aux humains.

Phase 5 : Il y a un ou des groupes de cas plus importants, mais la transmission de personne à personne est toujours localisée, donnant à penser que le virus s'adapte de plus en plus aux humains, mais n'est peut-être pas encore pleinement transmissible (risque important de pandémie).

10.3. PÉRIODE DE PANDÉMIE

Phase 6 : Il y a une transmission accrue et soutenue dans la population générale.

11. RECOMMANDATIONS À L'INTENTION DES CLINICIENS

Les épreuves de laboratoire ne sont pas requises chez tous les patients soupçonnés d'influenza. Les facteurs influençant la décision de prélever des spécimens pour la recherche d'un virus grippal dépendent du contexte clinique et de la période dans laquelle le Canada, le Québec ou la région se situe par rapport à l'activité grippale en général et au virus pandémique en particulier.

11.1. FACTEURS PERMETTANT D'ORIENTER LA DÉCISION DE L'ÉVALUATION DE LABORATOIRE

Les différents facteurs à considérer pour orienter la décision concernant le test de laboratoire chez les personnes présentant un syndrome d'allure grippale (SAG) sont présentés ci-après :

- **Résidence en CHSLD**

Afin de contrôler les éclosions, il est important de documenter l'infection chez les patients hospitalisés ou chez les résidents dans un CHSLD. Les lignes directrices recommandent le prélèvement d'échantillons chez 5 à 10 personnes présentant des symptômes incluant le personnel soignant.

- **Décision de traitement**

L'analyse de laboratoire devrait être effectuée si le résultat permet de statuer sur le choix du traitement.

- **Échec thérapeutique**

Pour évaluer la résistance de l'influenza à l'amantadine ou à l'oseltamivir, des souches doivent être isolées sur culture cellulaire avant de se prévaloir du service. Les spécimens respiratoires conservés peuvent aussi être soumis avec les souches pour l'analyse de la résistance à l'amantadine.

- **Patients rencontrant les critères pour une nouvelle souche de virus grippal ou la grippe aviaire**

Le MSSS a émis des recommandations pour une surveillance rehaussée des maladies respiratoires sévères émergentes et pour la conduite à tenir au regard des cas possibles de grippe aviaire sans transmission interhumaine. En période pré-pandémique, les personnes présentant des symptômes d'influenza et ayant voyagé récemment dans une zone touchée par une nouvelle souche grippale devraient faire l'objet d'analyses de laboratoire.

- **Niveau d'activité grippale dans la communauté**

En période d'activité grippale, alors que la prévalence de l'influenza dans la communauté augmente, la valeur prédictive positive du diagnostic clinique sans analyse de laboratoire augmente, ce qui rend moins pertinente la nécessité de confirmer l'infection par une épreuve de laboratoire.

- **Participation à un programme de surveillance**

La participation à un programme de surveillance sentinelle permet de caractériser les souches qui circulent dans la communauté et de déterminer la concordance entre les souches circulantes et celles présentes dans le vaccin. De plus, elle permet de suivre l'émergence de la résistance aux médicaments antiviraux. Les laboratoires qui effectuent la culture virale soumettent des souches isolées à différents moments de l'activité grippale saisonnière pour caractérisation des sous-types.

11.2. RECOMMANDATIONS AUX CLINICIENS EN LIEN AVEC LES PHASES PANDÉMIQUES DE L'OMS

11.2.1. Nouveau virus influenza A d'origine aviaire ou autre en périodes interpandémique et d'alerte prépandémique

Pour limiter la nécessité d'avoir à évaluer un trop grand nombre de patients, les critères de sélection devraient être spécifiques et s'appuyer sur une combinaison de critères cliniques et épidémiologiques. Durant ces périodes, on s'attend à ce que les cas suspects de grippe aviaire ou infectés par une nouvelle souche soient rares; le diagnostic de laboratoire sera plus probablement sollicité pour les cas d'infections respiratoires sévères, telles les pneumonies.

En dehors des examens habituellement requis pour l'investigation des patients qui consultent pour des symptômes respiratoires (ex. radiographie pulmonaire, culture et formule sanguine, analyses biochimiques), les sections qui suivent traitent de l'utilisation des épreuves spécifiques à la mise en évidence d'un virus influenza.

11.2.1.1. Critères cliniques

Tout cas suspect de syndrome d'allure grippale (SAG) causé par un nouveau virus influenza d'origine aviaire ou autre doit présenter une fièvre > 38 °C **et** un mal de gorge **ou** une toux. La dyspnée devrait aussi faire partie des critères car elle peut survenir dans une infection des voies respiratoires inférieures. Ainsi les critères cliniques complets à considérer sont :

- fièvre;
- et un des symptômes suivants : mal de gorge, toux ou dyspnée.

Les épreuves de laboratoire pour la recherche d'un nouveau sous-type de virus influenza sont recommandés seulement pour (annexe 4) :

- les patients hospitalisés avec un SAG sévère, incluant la pneumonie **et** un des critères épidémiologiques énumérés ci-après;
- les patients ambulatoires avec SAG **et** un indice élevé d'exposition à un virus influenza A (i.e. contact direct avec volaille infectée dans une région affectée, contact étroit avec un cas humain suspect de grippe aviaire).

11.2.1.2. Critères épidémiologiques

Bien que la période d'incubation pour l'influenza saisonnier soit de 1 à 4 jours, la période d'incubation pour les nouveaux virus influenza est présentement inconnue. On l'établit présentement à un intervalle maximal de 10 jours entre le contact et le début des symptômes. Les critères sont :

- avoir résidé ou voyagé dans une zone où des éclosions d'influenza aviaire A (H5N1) sont rapportées chez les animaux (volailles, oiseaux sauvages, etc.) avec ou sans cas humains notifiés; (consulter votre Direction de santé publique (DSP) pour la liste à jour des pays) **ou**;
- avoir un contact direct avec de la volaille **ou**;
- avoir été en contact prolongé, répété à moins d'un mètre avec une source (potentielle ou confirmée) de virus aviaire dans des lieux touchés par la grippe aviaire **ou**;
- avoir eu une exposition professionnelle avec :
 - des prélèvements biologiques, d'origine animale ou humaine, infectés ou présumés infectés par le virus H5N1 (ex. membre du personnel hospitalier (soignant ou non), travail en laboratoire) **ou**;
 - des humains ou animaux infectés ou présumés infectés par le virus H5N1 **ou**;
- avoir été en contact étroit avec un cas humain confirmé ou suspecté de grippe aviaire H5N1.

Les virus influenza circulent pendant toute l'année à travers le monde, incluant les pays avec des éclosions de grippe aviaire (H5N1) chez la volaille. Conséquemment, un SAG peut être présent à tout moment de l'année, même en été chez des voyageurs, incluant ceux qui proviennent des zones affectées par l'influenza aviaire hautement pathogène.

11.2.1.3. Prise en charge clinique

Lorsqu'un patient répond aux critères cliniques et épidémiologiques énoncés ci-haut pour un cas suspect de grippe aviaire, le personnel de la santé doit :

- implanter les mesures de contrôle des infections;
- obtenir les échantillons cliniques pour la recherche du virus. Puisque les meilleurs spécimens pour détecter un nouveau virus influenza A d'origine aviaire ou autre sont présentement inconnus, plusieurs spécimens respiratoires devraient être prélevés lorsque possible : écouvillon nasopharyngé, lavage ou aspiration nasale, écouvillonnage de gorge;
- évaluer un diagnostic alternatif. Ce dernier devrait être établi avec des analyses ayant une VPP élevée (i.e., hémoculture, culture virale, antigène urinaire de *Legionella*, culture de liquide pleural). Lorsqu'un autre agent étiologique est identifié, considérer la possibilité d'une co-infection si un critère épidémiologique d'exposition à une nouvelle souche d'influenza A est présent;

- prescrire les épreuves pour la détection des pathogènes respiratoires communs particulièrement chez les enfants, tels influenza A et B, virus respiratoire syncytial, adénovirus, virus parainfluenza;
- On demande aux médecins cliniciens de chaque région de signaler à la DSP de leur territoire les personnes répondant aux critères cliniques et épidémiologiques de grippe aviaire ou de nouvel influenza.

11.2.2. Période pandémique

La nécessité d'effectuer des analyses de laboratoire pour l'influenza en pleine pandémie sera moins grande puisque la valeur prédictive positive du diagnostic clinique sera élevée. La disponibilité des épreuves de laboratoire dépendra de celle des réactifs et de la capacité des laboratoires à faire face à la demande accrue de tests pendant cette période.

11.2.2.1. Critères cliniques

Les critères cliniques demeurent les mêmes que ceux décrits à la section précédente, i.e. :

- fièvre;
- et un des symptômes suivants : mal de gorge, toux ou dyspnée.

11.2.2.2. Critères épidémiologiques

Pendant la période pandémique, l'histoire d'exposition sera d'une utilité marginale dans la mesure où l'infection sera largement répandue dans la communauté. La majorité des SAG à ce moment seront de l'influenza pandémique.

11.2.2.3. Diagnostic de laboratoire

La recherche de virus influenza sera effectuée sur des patients sélectionnés à des fins de :

- caractérisation des souches circulantes en vue de développer un vaccin;
- surveillance de l'apparition de la résistance aux antiviraux.

En milieu hospitalier de soins aigus, la recherche du virus grippal sera indiquée pour le diagnostic différentiel de syndrome respiratoire aigu ou sévère.

12. RECOMMANDATIONS À L'INTENTION DES LABORATOIRES

12.1. GÉNÉRAL

En juin 2006, le Québec comme de nombreuses autres régions se situe en phase 3 de l'alerte pandémique.

Pendant les phases 3, 4 et 5 de la période d'alerte à la pandémie, les laboratoires doivent, en plus des activités saisonnières reliées aux souches influenza humaines alors en circulation, développer les procédures pour soutenir les efforts de surveillance et de vigie des cas suspects de maladie respiratoire sévère (MRS) et des cas suspects de grippe aviaire.

Il est important, pour les cas suspects de MRS et les cas suspects de grippe aviaire, d'effectuer les prélèvements appropriés pour permettre la détection, la confirmation et la caractérisation de nouvelles souches d'influenza.

Note : Voir les recommandations en matière de biosécurité pour déterminer quelles sont les analyses que votre laboratoire est en mesure d'effectuer sur place et celles qui devraient être soumises à un autre laboratoire.

Pendant la phase 6 pandémique où de nombreux cas infectés avec un nouveau sous-type de virus influenza auront été confirmés, chaque établissement aura à prioriser ceux devant faire l'objet d'une recherche de virus. On peut anticiper que les données générées à ce stade élimineront la nécessité d'un diagnostic de laboratoire chez de nombreux patients alors que la VPP du diagnostic sur la base des symptômes cliniques sera élevée.

12.2. PHASE 3

Pendant cette période, les laboratoires maintiennent leurs analyses de routine pour le virus influenza et :

- au début de la saison d'activité grippale, confirment un résultat positif obtenu à l'aide d'un test rapide par culture, IFA ou RT-PCR, à cause de la VPP sous optimale en période de faible activité de l'influenza;
- participent à des contrôles externes de la qualité;
- développent leur stratégie d'analyse pour une période d'alerte plus élevée;
- préparent des plans de contingence pour leurs ressources humaines;
- planifient l'approvisionnement de réactifs pour les périodes de demandes accrues;
- maintiennent constamment une lignée cellulaire susceptible au virus influenza (MDCK, poumon de vison, primaire de rein de singe) en période de préparation à une pandémie lorsque la culture est déjà pratiquée dans leur laboratoire;

- forment le personnel aux manipulations opérationnelles de NC3 requises afin de traiter les spécimens provenant de cas suspects de grippe aviaire, si leur laboratoire rencontre les exigences d'un NC2;
- participent à la surveillance de l'influenza, s'ils effectuent la culture virale, en soumettant des isolats à des fins de caractérisation plus fine au LSPQ qui les achemine au LNM à Winnipeg. Les lignes directrices à leur intention apparaissent à l'annexe 3.

Le LSPQ maintient actuellement la lignée cellulaire MDCK et possède des anticorps monoclonaux anti-influenza A matrice (M) et nucléoprotéine (NP). Il dispose aussi des amorces pour détecter les gènes M, H1, H3, H5 (clade 1 et 2), H7, N1 de l'influenza A et le gène HA de l'influenza B par RT-PCR avec détection conventionnelle et/ou en temps réel.

- Le LSPQ peut recevoir les spécimens cliniques et les isolats provenant de cas suspects de grippe aviaire ou de maladies respiratoires sévères.
- Le LSPQ procèdera à des analyses sur place et expédiera une portion aliquote au LNM à Winnipeg.
- Le LSPQ avisera les laboratoires de la disponibilité de nouvelles amorces lorsque l'OMS en publiera les séquences.

12.3. INVESTIGATION DE CAS DE GRIPPE AVIAIRE EN PHASE 3

Le MSSS a émis des recommandations¹⁴ pour une surveillance rehaussée des maladies respiratoires sévères émergentes et pour la conduite à tenir au regard des cas possibles de grippe aviaire sans transmission interhumaine. Les intervenants des centres hospitaliers de même que ceux des milieux cliniques et de santé publique doivent maintenir leurs efforts afin de détecter précocement toute situation pouvant mener à l'émergence d'une pandémie; ils doivent aussi mettre en place de façon concertée les mesures appropriées de prévention et de contrôle.

À cette fin, il est recommandé aux laboratoires qui reçoivent des spécimens dans le cadre d'une investigation de cas suspects de grippe aviaire de :

- appliquer une procédure adéquate pour l'investigation de cas suspects sévères ou ambulatoires de grippe aviaire en fonction des tests disponibles dans leur établissement et du niveau de biosécurité de leurs installations et de leurs pratiques;
- prélever les spécimens respiratoires appropriés;
- effectuer au préalable la préparation de 3 portions aliquotes de chaque prélèvement respiratoire pour protéger leur intégrité dans l'éventualité où le laboratoire hospitalier procéderait d'abord à un test rapide;
- soumettre au LSPQ tout spécimen provenant d'un cas suspect sévère ou ambulatoire de grippe aviaire et dont le résultat d'un test rapide pour l'influenza serait positif.

12.4. PHASES 4 ET 5

Il est anticipé que les laboratoires de diagnostic recevront des demandes accrues d'analyses pendant ces périodes d'alerte plus élevée. La surveillance de l'apparition d'un nouveau sous-type demeure tout aussi importante que dans la phase précédente en faisant appel particulièrement à la culture et au RT-PCR.

Les laboratoires devraient revoir leurs inventaires de réactifs et d'équipements de protection personnelle et commander le matériel nécessaire.

Le niveau de biosécurité requis sera réévalué par les autorités compétentes (Santé Canada, les CDC et OMS) et l'information sera communiquée par le LSPQ aux laboratoires du Québec.

L'information concernant toute modification des amorces pour amplifier la nouvelle souche influenza par RT-PCR de même que celle des tests rapides à la détecter sera disséminée aussi par le LSPQ au réseau québécois, dès que disponible.

Pendant cette période de demandes analytiques accrues, les laboratoires auront à adapter leur stratégie pour minimiser l'impact sur leur fonctionnement. Il sera important de revoir :

- la priorité des tests et les stratégies alternatives;
- la préparation des réactifs requis pour les mois à venir;
- la mise en place d'un plan pour réduire le nombre de tests en favorisant la sélection des cas à investiguer.

12.5. PHASE 6

Il est anticipé que les demandes d'épreuves analytiques atteindront un niveau sans précédent. Les laboratoires dans les régions affectées verront à réduire le nombre d'analyse parce qu'à cette étape de la pandémie, le diagnostic clinique sera précis dans la majorité des cas.

Dans les cas où l'isolement viral sera effectué, la conservation de souches sélectionnées et leur envoi à un laboratoire de référence permettront leur caractérisation et l'identification de nouveaux variants tout au long de la pandémie, incluant la surveillance de la résistance aux antiviraux.

13. RÉFÉRENCES

1. M. Couillard. Rapport final du questionnaire d'enquête sur les services de laboratoire en période de pandémie d'influenza. INSPQ. Janvier 2006.
2. CDC. Influenza (FLU) Laboratory diagnostic procedures for influenza. 12 octobre 2005. Disponible à : <http://www.cdc.gov/flu/professionals/labdiagnosis.htm>.
3. WHO recommendations on the use of rapid testing for influenza diagnosis. Juillet 2005. Disponible à : http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/rapid_testing/en/index.html.
4. FDA. Cautions in using rapid tests for detecting influenza A viruses. 14 novembre 2005. Disponible à : <http://www.fda.gov/cdrh/oivd/tips/rapidflu.html>.
5. FDA. Guidance for industry and FDA staff. In vitro diagnostic devices to detect influenza A viruses : labeling and regulatory path. Avril 2006. Disponible à : www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/06d-0121-gdl0001.pdf.
6. Béliveau, C., Bourgault, A.-M., Couillard, M., Poirier, A. Diagnostic des infections causées par les virus influenza A et B. Guide de pratique. AMMIQ 1999.
7. WHO. Recommended laboratory tests to identify avian influenza A virus in specimens from humans. Juin 2005. Disponible à : http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/labtests/en/index.html.
8. Writing committee of the WHO consultation on human influenza A/H5. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. 2005. N Engl J Med, 353;13.
9. WHO laboratory biosafety guidelines for handling specimens suspected of containing avian influenza virus. WHO. 12 janvier 2005. Disponible à : http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/handlingspecimens/en/.
10. ASPC. Avis de biosécurité, Influenza aviaire hautement pathogène, Lignes directrices provisoires. 10 mars 2004. Disponible à : http://www.phac-aspc.gc.ca/ols-bsl/iabioadv_f.html.
11. Santé Canada. Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire. 3^e Éd. 2004. Disponible à : http://www.phac-aspc.gc.ca/ols-bsl/lbg-ldmb/index_f.html.
12. Règlement sur le transport des marchandises dangereuses. Transport Canada. Disponible à : <http://www.tc.gc.ca/lois-reglements/GENERALE/tmd/abroge/tmd001/ann-vii.html>.

13. La Gazette du Canada, Partie 1, 30 Septembre 2006. Vol. 140, No 39. Règlement modifiant le Règlement sur le transport des marchandises dangereuses, p. 3015-3188.
14. MSSS. Recommandations de la Direction générale de la santé publique du ministère de la Santé et des Services sociaux. Pour une surveillance rehaussée des maladies respiratoires sévères émergentes (MRS) et pour la conduite à tenir au regard des cas possibles de grippe aviaire sans transmission interhumaine. 2006.

ANNEXE 1

LISTE DES LABORATOIRES DU RÉSEAU EFFECTUANT DES ÉPREUVES POUR LES VIRUS INFLUENZA

ANNEXE 1 : LISTE DES LABORATOIRES DU RÉSEAU EFFECTUANT DES ÉPREUVES POUR LES VIRUS INFLUENZA

Institution	Municipalité	Région	Culture virale
Centre de SSS de Rivière-du-Loup	Rivière-du-Loup	1	
Centre de SSS de Kamouraska	La Pocatière	1	
Centre de SSS de Matane	Matane	1	
Centre de SSS Rimouski-Neigette (CH)	Rimouski	1	
Centre de SSS de Lac-Saint-Jean-Est	Alma	2	
Centre de SSS de Chicoutimi (Saint-Vallier)	Chicoutimi	2	*
Centre de SSS Domaine-du-Roy	Roberval	2	
Centre Maria-Chapdelaine	Dolbeau	2	
Carrefour de santé de Jonquière	Jonquière	2	
CHUQ - Hôtel-Dieu de Québec	Québec	3	
Centre de SSS de Charlevoix	La Malbaie	3	
CHAUQ - Hôpital de l'Enfant-Jésus	Québec	3	
Centre de SSS de Charlevoix	Baie-Saint-Paul	3	
Hôpital Laval	Sainte-Foy	3	
CHUQ - Hôpital Saint-François d'Assise	Québec	3	
CHUQ-CHUL	Sainte-Foy	3	*
Centre de SSS d'Arthabaska-Érable (Hôtel-Dieu)	Victoriaville- Arthabaska	4	
Centre de SSS Drummond	Drummondville	4	
Centre de SSS de l'Énergie	Shawinigan-Sud	4	
Centre hospitalier régional de Trois-Rivières (CHSM)	Trois-Rivières	4	*
Centre de SSS du Granit	Lac-Mégantic	5	
CHUS - Hôpital Fleurimont	Fleurimont	5	*
Centre de SSS de Memphrémagog	Magog	5	
Centre de SSS de la MRC-d'Asbestos	Asbestos	5	
Centre de SSS de la MRC-de-Coaticook	Coaticook	5	
Institut universitaire de gériatrie de Sherbrooke	Sherbrooke	5	
Centre de SSS de l'Ouest-de-l'Île	Pointe-Claire	6	
Hôpital Santa Cabrini	Montréal	6	
Institut de Cardiologie de Montréal	Montréal	6	
CUSM - L'Hôpital de Montréal pour enfants	Montréal	6	*
CSSS de Verdun/C. St-Paul, St-Henri et P. St-Charles	Verdun	6	
Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal	Montréal	6	
CHUM - Hôpital Notre-Dame	Montréal	6	*

Institution	Municipalité	Région	Culture virale
CHUM - Hôtel-Dieu	Montréal	6	
CHUM - Hôpital Saint-Luc	Montréal	6	*
Centre de SSS d'Ahuntsic et Montréal-Nord (CH)	Montréal	6	
Centre de SSS de la Petite Patrie et Villeray	Montréal	6	
Hôpital général Juif S.M.B.D.	Montréal	6	*
Centre de SSS de LaSalle et du Vieux Lachine	Lachine	6	
Hôpital Sainte-Justine	Montréal	6	*
Centre hospitalier de St. Mary	Montréal	6	
Hôpital Maisonneuve-Rosemont	Montréal	6	*
Centre de SSS du Pontiac (Inst. CH)	Shawville	7	
Centre de SSS de Gatineau (Hôpital de Hull)	Gatineau	7	
Centre de SSS de Gatineau (Hôpital de Gatineau)	Gatineau	7	
Centre de SSS de la Vallée-de-l'Or	Val-d'Or	8	
Centre de SSS les Eskers de l'Abitibi	Amos	8	
Centre de SSS de Rouyn-Noranda (CH)	Rouyn-Noranda	8	
Centre de SSS des Aurores Boréales	La Sarre	8	
Centre hospitalier régional de Sept-Îles	Sept-Îles	9	
Centre de SSS de Manicouagan	Baie-Comeau	9	
Centre de SSS Baie-des-Chaleurs (CH)	Maria	11	
Centre de SSS du Rocher-Percé	Chandler	11	
Hôtel-Dieu de Lévis	Lévis	12	
Centre de SSS de Montmagny-l'Islet	Montmagny	12	
Centre de SSS de Beauce	Saint-Georges	12	
Centre de SSS de Laval (Cité de la santé)	Laval	13	
Centre de SSS du Nord de Lanaudière	Saint-Charles-Borromée	14	
Centre de SSS du Sud de Lanaudière	Terrebonne	14	
Centre de SSS des Sommets	Sainte-Agathe-des-Monts	15	
Centre de SSS de Saint-Jérôme	Saint-Jérôme	15	
Centre de SSS d'Antoine-Labelle (CML)	Des Ruisseaux	15	
Centre de SSS Lac des Deux-Montagnes	Saint-Eustache	15	
Hôpital d'Argenteuil	Lachute	15	
Centre de SSS Richelieu-Yamaska	Saint-Hyacinthe	16	
Centre de SSS la Pommeraie	Cowansville	16	
Centre de SSS Haut Richelieu / Rouville	Saint-Jean-sur-Richelieu	16	
Centre de SSS de la Haute-Yamaska	Granby	16	

Institution	Municipalité	Région	Culture virale
Hôpital Charles LeMoynes	Greenfield Park	16	
Centre de SSS du Suroît	Salaberry-de-Valleyfield	16	
Centre de SSS de Sorel-Tracy	Sorel-Tracy	16	
Centre de SSS Pierre-Boucher	Longueuil	16	
Centre de SSS Jardins-Roussillon	Châteauguay	16	
Centre de santé Tulattavik de l'Ungava	Kuuujuaq	17	
Centre de santé Inuulitsivik	Puvirnituaq	17	

* Laboratoires effectuant la culture virale

ANNEXE 2

LISTE DES TROUSSES DIAGNOSTIQUES *IN* *VITRO* HOMOLOGUÉES PAR SANTÉ CANADA POUR LA DÉTECTION RAPIDE DE L'INFLUENZA

**ANNEXE 2 : LISTE DES TROUSSES DIAGNOSTIQUES *IN VITRO* HOMOLOGUÉES
PAR SANTÉ CANADA POUR LA DÉTECTION RAPIDE DE L'INFLUENZA**

Nom de la trousse	Manufacturier	N° homologation
BD DIRECTIGEN EZ FLU A+B	Becton Dickinson and Company	66969
DIRECTIGEN FLU A TEST KIT	Becton Dickinson and Company	10819
DIRECTIGEN FLU A + B	Becton Dickinson and Company	23834
BINAX NOW INFLUENZA A & B	Binax Inc.	71036
FLU OIA TEST KIT	Thermo Biostar Inc.	23519
ACTIM INFLUENZA A & B TEST	Medix Biochemica OY AB	66656
QUICK S INFLU A/B TEST	Innovatek Medical Inc.	66848
IMMUNOCARD STAT FLU A & B	Meridian Bioscience Inc.	65947
QUICKVUE INFLUENZA A+B TEST	Quidel Corporation	20158
NOW FLU A NOW FLU B TEST KIT	Binax Inc.	61340
XPECT FLU A/B	Remel	63374
CLEARVIEW FLU A/B TEST	Wampole Laboratories Inc.	66506
INFLU A RESPI STRIP	Coris Bioconcept	63448
INFLU A&B TEST KITS	Coris Bioconcept	69985

Note : Données en date de juin 2006.

Source : Bureau des dispositifs médicaux, Santé Canada.

ANNEXE 3

**LIGNES DIRECTRICES POUR LA SÉLECTION
DES SOUCHES ISOLÉES DE VIRUS INFLUENZA
POUR CARACTÉRISATION AU LABORATOIRE
NATIONAL DE MICROBIOLOGIE, AGENCE DE
SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA, WINNIPEG**

**ANNEXE 3 : LIGNES DIRECTRICES POUR LA SÉLECTION DES SOUCHES ISOLÉES
DE VIRUS INFLUENZA POUR CARACTÉRISATION AU LABORATOIRE
NATIONAL DE MICROBIOLOGIE, AGENCE DE SANTÉ PUBLIQUE DU
CANADA, WINNIPEG**

1. Les isolats obtenus avant le début de la saison et les premiers de la saison.
2. Les isolats provenant de personnes chez qui la grippe est liée à un voyage à l'étranger.
3. Environ 10% des isolats recueillis durant les pics d'activité, habituellement vers la mi-janvier, qui sont représentatifs de la saison.
4. Les isolats de la fin de saison obtenus après une période d'activité grippale intense.
5. Les isolats appartenant à un type ou un sous-type qui ne représente qu'une composante mineure (< 10 %) de l'épidémie de l'année.
6. Les isolats provenant de personnes recevant des antiviraux oraux ou de leurs contacts qui ont contracté la maladie.
7. Les isolats obtenus pendant des enquêtes poussées sur des éclosions survenant dans des populations immunisées.
8. Les isolats provenant de cas où l'on soupçonne que le virus de la grippe a été transmis de l'animal à l'homme.

Cette surveillance des souches de virus influenza qui circulent constitue une contribution essentielle aux décisions prises à l'échelle nationale et internationale concernant la composition du vaccin pour l'année suivante.

ANNEXE 4

**CRITÈRES CLINIQUES ET ÉPIDÉMIOLOGIQUES
POUR LA RECHERCHE D'UN NOUVEAU VIRUS
INFLUENZA A D'ORIGINE AVIAIRE OU AUTRE
EN PÉRIODES INTERPANDÉMIQUE ET D'ALERTE**

**ANNEXE 4 : CRITÈRES CLINIQUES ET ÉPIDÉMIOLOGIQUES POUR LA RECHERCHE
D'UN NOUVEAU VIRUS INFLUENZA A D'ORIGINE AVIAIRE OU AUTRE
EN PÉRIODES INTERPANDÉMIQUE ET D'ALERTE**

Syndrome d'allure grippale (SAG) : Syndrome respiratoire aigu avec fièvre > 38 °C (buccale) et toux ou mal de gorge ou difficultés à respirer (dyspnée)	
Patient hospitalisé avec :	Patient ambulatoire avec :
SAG sévère ET Preuves, sur une radiographie pulmonaire, d'infiltrats correspondant à une pneumonie, à un syndrome de détresse respiratoire (SDR) ou à une autre maladie respiratoire sévère pour laquelle aucun diagnostic alternatif n'a pu être établi.	SAG
ET	ET
Un ou plusieurs des critères épidémiologiques suivants dans les 7 jours précédant le début des symptômes :	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Avoir résidé ou voyagé dans une zone où des éclosions d'influenza aviaire A (H5N1) sont rapportées chez les animaux (volailles, oiseaux sauvages, etc.) <u>avec ou sans cas humains notifiés</u>; (<i>consulter votre Direction de santé publique pour la liste à jour des pays</i>). 2. Avoir eu une exposition professionnelle avec : <ul style="list-style-type: none"> • des prélèvements biologiques, d'origine animale ou humaine, infectés ou présumés infectés par le virus H5N1 (ex. membre du personnel hospitalier (soignant ou non), travail en laboratoire); • des humains ou animaux infectés ou présumés infectés par le virus H5N1. 3. Avoir été en contact prolongé, répété et/ou à moins d'un mètre avec une source (potentielle ou confirmée) de virus aviaire dans des lieux touchés par la grippe aviaire. 4. Avoir été en contact étroit avec un cas humain confirmé ou suspecté de grippe aviaire H5N1. 	

Adapté de : MSSS. Recommandations de la Direction générale de la santé publique du ministère de la Santé et des Services sociaux. Pour une surveillance rehaussée des maladies respiratoires sévères émergentes (MRS) et pour la conduite à tenir au regard des cas possibles de grippe aviaire sans transmission interhumaine. 2006.

et de : OMS. WHO case definitions for human infections with influenza A (H5N1) virus. 20 août 2006. Disponible à : http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/case_definition2006_08_29/en

ANNEXE 5

AVIS SCIENTIFIQUE SUR LE PORT DU MASQUE DANS LES LABORATOIRES EN SITUATION DE PANDÉMIE D'INFLUENZA

ANNEXE 5 : AVIS SCIENTIFIQUE SUR LE PORT DU MASQUE DANS LES LABORATOIRES EN SITUATION DE PANDÉMIE D'INFLUENZA

Laboratoires de biologie médicale

Les infections contractées par le personnel de laboratoire lors de manipulations avec des échantillons contenant le virus de l'influenza sont peu documentées. Certaines données indiquent qu'elles sont survenues tout particulièrement en présence d'un nouveau sous-type viral (NIH, 2002). Des infections grippales transmises au personnel par des animaux de laboratoire n'ont pas été rapportées mais cette dernière référence souligne cette possibilité entre des furets contaminés et les humains.

Le risque principal de transmission en laboratoire est l'inhalation d'aérosols générés par des animaux infectés ou par des procédures comme l'aspiration, la distribution ou le mélange d'échantillons contenant du virus (NIH, 2002). Dans le but de réduire ce risque, les laboratoires de microbiologie utilisent des enceintes de sécurité biologique assurant une protection respiratoire du personnel en niveau de confinement 2. De plus, d'autres pratiques opérationnelles incluent le port systématique d'un masque N95 pour le personnel devant manipuler des échantillons cliniques en laboratoire de niveau de confinement 3.

Laboratoires de niveau de confinement 2

La plupart des laboratoires de biologie médicale entrent dans cette catégorie. La protection respiratoire y est assurée par l'utilisation d'enceintes de sécurité biologique. Le type de protection personnelle dépend des procédures à effectuer et si ces procédures sont effectuées ou non sous une enceinte de sécurité biologique. Pour les procédures s'effectuant à l'intérieur d'une enceinte de sécurité biologique (manipulation des échantillons infectieux telle que l'extraction des acides nucléiques, la préparation, la fixation ou l'inactivation des échantillons), le plan australien de préparation à la pandémie d'influenza prévoit une protection supplémentaire avec le port du masque chirurgical, de gants jetables, d'une blouse à manches longues jetable imperméable ou recouverte d'un tablier en plastique et d'une protection oculaire. Pour les procédures impliquant des manipulations d'échantillons infectieux à l'extérieur d'une enceinte de sécurité biologique, le masque N95 devrait plutôt être utilisé.

Au Canada, Il existe actuellement un débat sur le type d'équipement de protection personnelle, plus particulièrement respiratoire, que le personnel de laboratoire devrait porter hors du niveau de confinement 3 lors d'une pandémie d'influenza. Au départ, les recommandations canadiennes étaient basées sur le plan de l'OMS qui ne retenaient pas les aérosols comme mode de transmission de l'influenza. Mais toute la controverse entourant les aérosols comme mode de transmission, les publications qui suggèrent cette possibilité, le caractère pathogène incertain d'un nouveau sous-type viral responsable d'une pandémie et l'expérience acquise avec la crise du SRAS amènent certains à prendre des décisions plus

préventives que par le passé pour gérer le risque associé au travail de laboratoire en période de pandémie.

Laboratoires de niveau de confinement 3

Les laboratoires de ce niveau comportent une infrastructure particulière et des mesures opérationnelles spécifiques. Les lignes directrices de Santé Canada (2004) recommandent le port de vêtements protecteurs mais ne spécifient pas le type de protection respiratoire. Dans le cas de l'influenza aviaire, les procédures de culture virale sont effectuées sous une enceinte de sécurité biologique dans un laboratoire de niveau de confinement 3. Dans ses lignes directrices pour la grippe aviaire, l'OMS recommande l'utilisation d'une protection oculaire et d'un masque chirurgical (et non N95) ou d'une visière « full-face shield » pour les procédures réalisées en niveau de confinement 3 qui peuvent générer des aérosols (OMS, janvier 2005). Par contre, dans un autre document (OMS, juillet 2004) on recommande le masque N95. Les lignes directrices de Santé Canada (2004) recommandent le port du masque N95 en fonction du risque d'exposition lors de la manipulation des échantillons.

Recommandations

Considérant :

- la présence d'enceintes de sécurité biologique (ESB) conférant une protection respiratoire dans les laboratoires de biologie médicale;
- la différence de risque associé à la manipulation d'échantillons provenant de patients versus l'amplification du virus en culture cellulaire;
- la possibilité de transmission du virus de l'influenza en laboratoire par l'inhalation d'aérosols générés lors de certaines procédures (aspiration, distribution ou mélange d'échantillons contenant du virus) hors ESB;
- l'émission et la mise à jour de lignes directrices internationales et canadiennes à l'intention des laboratoires en période de pandémie.

Il est recommandé :

- que les travailleurs de laboratoire utilisent une ESB pour toute manipulation impliquant des échantillons respiratoires susceptibles de contenir le virus de l'influenza;
- dans les situations susceptibles de provoquer des aérosols où il serait impossible d'utiliser une ESB, qu'une protection oculaire et respiratoire (équivalente ou supérieure à celle conférée par un masque N95) soit préconisée. Les travailleurs de laboratoire devraient également être formés pour l'utilisation sécuritaire de cet équipement de protection;

- que les manipulations impliquant des cultures virales soient effectuées en respectant le niveau de risque associé au virus pandémique selon les informations disponibles¹ qui pourraient être révisées en phase pandémique.

Références

- NIH Guidelines for Research Involving Recombinant DNA molecules and Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th edition, avril 2002 (www4.od.nih.gov/oba/rac/SSSept04/pdf/NIHG-BMBL.pdf).
- Santé Canada, Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire, 3^e éd. 2004.

Rédigé par :

Sylvie Beaulieu
Michel Couillard

Avec la collaboration de :

Christiane Claessens

¹ Actuellement, les souches d'influenza qui circulent normalement en période interpandémique (ex. A H1N1, H3N2) sont des agents de groupe de risque 2 et peuvent être manipulées dans un laboratoire de niveau de confinement 2 avec des pratiques opérationnelles de niveau 2. Par contre, le virus de la grippe aviaire A (H5N1) fait partie des virus de groupe de risque 3 et doivent être cultivés dans un laboratoire de niveau de confinement 3 avec des pratiques opérationnelles de niveau 3. Toutefois, la manipulation d'échantillons provenant de patients soupçonnés d'être infectés par ce virus peut être effectuées dans un laboratoire de niveau 2, mais avec des pratiques opérationnelles de niveau 3 incluant une protection respiratoire de type N95.

