



Impact de la grippe pandémique A (H1N1) sur les services de laboratoire

Samir N Patel, Jonathan B Gubbay et les membres du Réseau de préparation des laboratoires à une pandémie d'influenza (RPLPI)*

*Nathalie Bastien, Tim Booth, Hugues Charest, Max Chernesky, Michel Couillard, Steven Drews, Richard Garceau, Jonathan Gubbay, Steven Guercio, Margaret Fearon, Kevin Fonseca, Todd Hatchette, Greg Horsman, Bryce Larke, Yan Li, Anna Majury, Claude Ouellette, Martin Petric, Sam Ratnam, Claire Sevenhuysen, Paul Van Caeselele

Points clés :

- Avant la pandémie de grippe de 2009, de nombreux laboratoires avaient recours à des essais d'immuno-absorption enzymatique (ELISA) ou à des tests immunochromatographiques (tests de diagnostic rapide de la grippe; TDRG), à l'immunofluorescence (épreuves d'immunofluorescence directe; IFD), ou à la culture de virus classique ou en flacon cylindrique pour dépister la grippe. Certains laboratoires employaient des méthodes d'amplification des acides nucléiques telles que l'épreuve de transcription inverse-amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR).
- Suite à l'apparition de la grippe pandémique A/H1N1 (pH1N1), les TAN sont devenus la méthode de référence pour la détection de virus respiratoires. Au 28 avril 2009, le Laboratoire national de microbiologie avait fourni des amorces et un protocole permettant d'identifier cette nouvelle souche, et la plupart des laboratoires de santé publique (LSP) de tout le pays, ainsi que de nombreux laboratoires de microbiologie de centres hospitaliers universitaires, avaient rapidement évalué et mis en application une méthode de RT-PCR visant à détecter la grippe pH1N1. Cette méthode était basée sur l'amplification des gènes matriciels (M) et hémagglutinants (HA).
- Au cours de la pandémie de 2009, en plus des rRT-PCR, les essais multiplexes ont également été utilisés dans certaines provinces du Canada afin de détecter d'autres pathogènes respiratoires viraux en circulation.
- En prévision d'activités de dépistage plus intenses au cours de la seconde vague de la pandémie, le Réseau de préparation des laboratoires à une pandémie d'influenza (RPLPI) a publié des directives sur la détection de la grippe pH1N1 en laboratoire. En se fondant sur ces lignes directrices et sur les capacités de test, la plupart des provinces ont donné la priorité en matière de dépistage aux groupes à risque, et tout particulièrement aux patients hospitalisés ou participant à une enquête sur une éclosion.
- Afin de faire face à une augmentation des besoins en matière de tests de dépistage de la grippe, des membres du personnel des LSP travaillant dans d'autres départements ont reçu une formation polyvalente afin d'être en mesure de réaliser ces tests. En outre, certains LSP ont cessé de réaliser les tests portant sur d'autres agents infectieux, y compris les PCR pour les norovirus, la culture virale de spécimens génitaux, la sérologie, la culture de virus respiratoires et de bactéries *Mycoplasma pneumoniae*, les tests de dépistage d'œufs et de parasites, le typage bactérien et le génotypage du VIH.
- Au printemps 2009, l'apparition de la grippe pH1N1 a changé la méthode utilisée par de nombreux laboratoires de microbiologie pour détecter non seulement le virus de la grippe, mais aussi d'autres virus à l'origine d'infections respiratoires.



Introduction

Au printemps 2009, l'apparition du virus de la grippe pandémique A (pH1N1) a changé la méthode utilisée par de nombreux laboratoires de microbiologie pour détecter non seulement le virus de la grippe, mais aussi d'autres virus à l'origine d'infections respiratoires. Si l'on craignait au départ que la mortalité et la morbidité associées à cette pandémie ne soient importantes, celles-ci se sont avérées modérées dans la plupart des régions. Partout au Canada, les laboratoires de santé publique ont joué un rôle majeur non seulement en multipliant leurs interventions et en fournissant des services visant à détecter ce nouveau virus, mais aussi en assurant le maintien d'autres services essentiels pour la prise en charge des patients et la gestion des éclosions. La présente analyse porte sur les approches adoptées vis-à-vis des tests à effectuer en laboratoire pour dépister la grippe pH1N1, au Canada et dans un sous-ensemble de pays possédant un système de santé similaire, et sur les atouts et les points faibles de ces stratégies.

Indications pour les tests

En ce qui concerne le recours aux tests de diagnostic pour la grippe, on peut partir du principe qu'il existe deux grandes catégories d'approches : la prise en charge de chaque patient et de chaque population considérés isolément, et la surveillance de la santé publique. Les tests de diagnostic facilitent la prise en charge des patients du point de vue clinique, et plus particulièrement de ceux qui auraient intérêt à recevoir un traitement antiviral, et ils jouent un rôle clef dans la lutte contre les infections. Ce type de service a été mis en place selon des modalités différentes dans les diverses provinces du Canada : il a été confié soit exclusivement à un seul laboratoire central, soit à de

nombreux sites chargés d'effectuer les tests sur les lieux de dispensation des soins. Le laboratoire provincial de l'Alberta mène des tests de détection de la grippe sur des spécimens provenant des Territoires du Nord-Ouest (T.N.-O) et de l'est du Yukon. C'est la Colombie-Britannique qui réalise les tests pour le territoire du Yukon. Les spécimens provenant des Territoires sont soumis à des tests qui suivent le même algorithme que celui appliqué par ces provinces pour leurs propres spécimens. Les tests de suivi tels que

La méthode la plus sensible en termes de détection de cette maladie et de distinction des sous-types est la RT-PCR.

le sous-typage, la caractérisation des souches et les analyses de résistance aux antiviraux ont en général été effectués dans des établissements faisant fonction de cadres de référence, tels que les laboratoires de santé publique provinciaux (LSP) et un nombre limité de laboratoires hospitaliers. Le sous-typage des virus de la grippe, qui est important pour les activités de surveillance continue, s'est également avéré utile sur le plan clinique en cas de co-circulation de sous-types présentant des profils de sensibilité différents, comme au cours de l'hiver 2008-2009 (1).

Dans le cadre du programme national de surveillance de la grippe, les LSP canadiens transmettent systématiquement un sous-ensemble

de virus de la grippe au Laboratoire national de microbiologie (LNM), qui travaille en collaboration avec l'Organisation mondiale de la santé (OMS), pour procéder à une caractérisation plus poussée, notamment par le biais de tests par inhibition de l'hémagglutination (HAI) et de tests phénotypiques de résistance aux antiviraux. Ces activités de surveillance servent à suivre les variations et les cassures antigéniques, qui peuvent avoir des répercussions sur l'efficacité des vaccins. Avant la pandémie, les provinces ne disposaient que de ressources limitées pour mener des analyses de résistance aux antiviraux, celles-ci étant réalisées principalement par le LNM sur les spécimens qui lui étaient soumis à des fins de surveillance, ou dans des cas cliniques où l'on soupçonnait l'existence d'une résistance.

Les tests de détection de la grippe avant le déclenchement de la pandémie de 2009

Avant la pandémie, de nombreux laboratoires avaient recours à des essais d'immunoabsorption enzymatique (ELISA) ou à des tests immunochromatographiques (tests de diagnostic rapide de la grippe; TDRG), à l'immunofluorescence (épreuves d'immunofluorescence directe; IFD), ou à la culture de virus classique ou en flacon cylindrique pour dépister la grippe. Certains laboratoires employaient des méthodes d'amplification des acides nucléiques telles que l'épreuve de transcription inverse-amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR). Le délai d'exécution des TDRG est bref, et ils ne nécessitent que peu de connaissances techniques, mais ils sont bien moins sensibles et spécifiques que d'autres méthodes (2). L'IFD offre une sensibilité supérieure à celle des TDRG, mais elle nécessite

Tableau 1. Algorithme de test de laboratoire pour la grippe A pandémique (H1N1) au Canada

Province	Algorithme de test	Période prépandémique	1 ^{re} vague (printemps 2009)	2 ^e vague (hiver 2009)	Période postpandémique (printemps 2010)
Alberta	Restriction :	Aucune	Aucune	Patients hospitalisés, éclosions, surveillance ou demandes ^{A4}	Aucune
	Méthode :	IFD ^{A1} , tests multiplexes ^{A2}	IFD ^{A1} , tests multiplexes ^{A2} , RT-PCR pour la grippe A/B ^{A5}	IFD ^{A5} , RT-PCR pour la grippe A/B ^{A6} , tests multiplexes ^{A7}	IFD ^{A5} , RT-PCR pour la grippe A/B ^{A6} , tests multiplexes ^{A7}
	Sous-typage :	Confié au LNM	Réalisé au LSP	Réalisé au LSP	Réalisé au LSP
	Résistance géotypique :	Spécimens de surveillance envoyés au LNM	Conformément aux instructions, spécimens envoyés au LNM pour confirmation	Patients en soins intensifs ou immunocompromis, surveillance exercée au sein de la collectivité par le LSP, autres demandes présentant une importance clinique	Patients en soins intensifs ou immunocompromis, surveillance exercée au sein de la collectivité par le LSP, autres demandes présentant une importance clinique
Colombie-Britannique	Restriction :	Aucune	Aucune	Aucune	Aucune
	Méthode :	RT-PCR pour la grippe A/B ^{B8} , TAAN multiplexe ^{B9}	RT-PCR pour la grippe A/B ^{B8} , TAAN multiplexe ^{B9}	RT-PCR pour la grippe A/B, TAAN multiplexe ^{B9}	RT-PCR pour la grippe A/B, TAAN multiplexe ^{B9}
	Sous-typage :	Grippe A	Grippe A	Grippe A non pH1N1	Grippe A
	Résistance géotypique :	Spécimens positifs pour la grippe A	Spécimens représentatifs	Spécimens représentatifs	
Manitoba	Restriction :	Aucune	Aucune	Certaines activités de dépistage ont été confiées à des laboratoires hospitaliers. Tests réalisés sur tous les spécimens correspondant aux critères en vigueur ^{M10} . Après le 20 novembre 2009 (pic), seules les personnes hospitalisées (y compris aux urgences ou en ambulatoire), immunodéprimées, à risque et touchées par une éclosion ont fait l'objet de tests ^{M10} .	
	Méthode :	Culture virale, ELISA, rRT-PCR pour la grippe A ^{M11}	rRT-PCR pour la grippe A ^{M12}	rRT-PCR pour la grippe A	Culture virale, ELISA, rRT-PCR pour la grippe A ^{M11}
	Sous-typage :	Spécimens provenant d'une éclosion	Tous les spécimens positifs pour la grippe A	Tous les spécimens positifs pour la grippe A (le sous-typage de la grippe A détectée dans les hôpitaux par RT-PCR a été réalisé par le LSP)	Tous les spécimens positifs pour la grippe ont été soumis à un test de détection de la grippe pH1N1. Spécimens provenant d'une éclosion
	Résistance géotypique :	Confiée au LNM	Confiée au LNM	Une épreuve a été élaborée mais jamais mise en œuvre. Confiée au LNM.	Confiée au LNM
Nouveau-Brunswick	Restriction :	Aucune	Aucune	Aucune ^{N13}	Aucune
	Méthode :	Culture virale	rRT-PCR pour la grippe A/B	rRT-PCR pour la grippe A	La culture virale est utilisée, mais on songe avoir recours à des épreuves moléculaires multiplexes dans le cadre du dépistage systématique.
	Sous-typage :	Confié au LNM	Spécimens positifs pour la grippe A	Spécimens positifs pour la grippe A. Spécimens non typables envoyés au LNM	Spécimens positifs pour la grippe A
	Résistance géotypique :	Confiée au LNM	Confiée au LNM	Confiée au LNM	Confiée au LNM
Terre-Neuve	Restriction :	Aucune	Limité à ceux qui ont voyagé ou qui ont eu des contacts avec des cas connus. Cette restriction a été supprimée à la fin de la première vague.	Aucune ^{N13}	Aucune
	Méthode :	IFD, culture	rRT-PCR pour la grippe A/B ^{N14} , IFD, culture	rRT-PCR pour la grippe A, IFD, culture	Introduction de tests multiplexes envisagée
	Sous-typage :	Quantités représentatives envoyées au LNM	Tous les spécimens positifs pour la grippe A ont été testés pour la grippe H1 et H3	Tous les spécimens positifs pour la grippe A ont été testés pour la grippe pH1N1. Spécimens non typables envoyés au LNM.	S/O
	Résistance géotypique :	Confiée au LNM	Confiée au LNM	Confiée au LNM	Confiée au LNM

Tableau 1. Continued

Province	Algorithme de test	Période prépandémique	1 ^{re} vague (printemps 2009)	2 ^e vague (hiver 2009)	Période postpandémique (printemps 2010)
Nouvelle-Écosse	Restriction :	Aucune	Aucune	Patients hospitalisés, éclosions, surveillance	Aucune
	Méthode :	Culture virale et RT-PCR pour la grippe A/B et le RSV ^{N14}	rRT-PCR pour la grippe pH1N1, la grippe B/le RSV, culture virale ^{N15}	rRT-PCR pour la grippe pH1N1, la grippe B/le RSV, culture virale ^{N15}	PCR pour la grippe A, on évalue la possibilité de remplacer la méthode de culture virale par une méthode multiplexe ^{N16} .
	Sous-typage :	Tous les spécimens positifs pour la grippe A	Effectué	Effectué	Effectué
	Résistance génotypique :	Confiée au LNM	Confiée au LNM	Une épreuve a été élaborée mais jamais mise en œuvre. Confiée au LNM.	S/O
Ontario	Restriction :	Aucune	Aucune	Aucune	Aucune
	Méthode :	Culture virale, TDRG, PCR pour la grippe A/B ^{O17} , tests multiplexes ^{O18}	Culture virale, TDRG, PCR pour la grippe A/B ^{O17} , tests multiplexes ^{O19}	Culture virale, TDRG, PCR pour la grippe A/B ^{O17} , tests multiplexes ^{O19}	Culture virale, TDRG, PCR pour la grippe A/B ^{O20} , tests multiplexes ^{O21}
	Sous-typage :	Sélection de spécimens positifs pour la grippe A	Patients hospitalisés, spécimens provenant d'une éclosion, et 20 % de tous les patients de la collectivité	Patients hospitalisés, spécimens provenant d'une éclosion, et 20 % de tous les patients de la collectivité	Patients hospitalisés, spécimens provenant d'une éclosion, et tous les patients de la collectivité jusqu'à l'identification d'un sous-type dominant dans la province
	Résistance génotypique :	Confiée au LNM	Tous les spécimens provenant d'une éclosion, une sélection de spécimens provenant de patients hospitalisés, et des spécimens de surveillance prélevés au sein de la collectivité	Tous les spécimens provenant d'une éclosion, une sélection de spécimens provenant de patients hospitalisés, et des spécimens de surveillance prélevés au sein de la collectivité	Tous les spécimens provenant d'une éclosion, une sélection de spécimens provenant de patients hospitalisés, et des spécimens de surveillance prélevés au sein de la collectivité
Québec	Restriction :	Aucune	Seuls les patients hospitalisés à partir du 15 mai 2009, et à des fins de surveillance	Seuls les patients hospitalisés, et à des fins de surveillance	Aucune
	Méthode :	TDRG, culture virale, IFD, PCR pour la grippe A/B, tests multiplexes ^{Q22}	PCR pour la grippe A à des fins de dépistage et PCR pour la grippe pH1N1 réalisées par 4 laboratoires hospitaliers et au LSP	PCR pour la grippe A à des fins de dépistage et PCR pour la grippe pH1N1 réalisées par 9 laboratoires hospitaliers et au LSP	IFD, TDRG, culture, rRT-PCR, tests multiplexes ^{Q23}
	Sous-typage :	Réalisé par le LSP	Réalisé par le LSP ou le LNM pour le sous-typage saisonnier et la confirmation	Réalisé par le LSP pour le sous-typage saisonnier et la confirmation	Réalisé par le LSP pour le sous-typage saisonnier et la confirmation
	Résistance génotypique :	Confiée au LNM	Confiée au LNM	Réalisée au LSP et envoyé au LNM pour confirmation	Réalisée au LSP

^{A1}On a réalisé des épreuves d'IFD sur des spécimens obtenus par prélèvement naso-pharyngé chez des sujets de moins de 5 ans, et à l'occasion d'éclosions.

^{A2}Des tests multiplexes ont été réalisés sur tous les spécimens négatifs aux tests d'IFD.

^{A3}Les spécimens négatifs aux tests d'IFD et aux tests multiplexes ont fait l'objet d'une rRT-PCR pour la grippe A/B

^{A4}Restriction appliquée du 28 octobre au 3 décembre 2009.

^{A5}Des tests d'IFD ont été menés sur des spécimens prélevés chez des sujets de moins d'un an, ou sur demande.

^{A6}La rRT-PCR pour la grippe A/B a été réalisée en tant que test de première ligne.

^{A7}Les spécimens négatifs aux tests d'IFD ou aux rRT-PCR pour la grippe A/B, ou les spécimens de surveillance provenant d'un milieu extra-hospitalier ont été soumis à des tests multiplexes.

^{B8}Les spécimens ont été soumis à des tests rRT-PCR pour la grippe A/B. Une sélection de spécimens positifs pour la grippe A ont été mis en culture cellulaire.

^{B9}On a réalisé des tests multiplexes sur des spécimens négatifs pour la grippe A/B prélevés chez des patients hospitalisés et des enfants, et dans le cadre d'éclosions.

^{M10}Les tests étaient indiqués dans le cas d'éclosions, chez des patients hospitalisés et dans le cadre de la surveillance exercée au sein de la collectivité. Cette restriction a été levée une fois que le taux de spécimens positifs pour la grippe A est passé sous la barre des 10 %.

^{M11}La culture virale a été employée en tant que méthode de première ligne pour le dépistage de tous les virus respiratoires. On a soumis les spécimens provenant d'une éclosion à des essais d'immuno-absorption enzymatiques (ELISA) et à des rRT-PCR spécifiques à la grippe.

^{M12}On a eu recours à la rRT-PCR pour la grippe A en vue de dépister les spécimens. Ceux qui s'étaient révélés positifs ont été sous-typés par le biais d'une rRT-PCR pour la grippe pH1N1.

^{N13}Le dépistage n'a pas été soumis à des restrictions. Cependant, une hiérarchie en fonction du contexte a été mise en place afin de donner la priorité aux patients traités en unité de soins intensifs et de faire passer en dernier les spécimens prélevés en milieu extra-hospitalier.

^{N14}Au cours de la saison grippale, la rRT-PCR a été utilisée pour analyser des spécimens provenant d'éclosions ou prélevés chez des patients hospitalisés, et à des fins de surveillance au sein de la collectivité. On a eu recours à la culture virale pour les spécimens prélevés en milieu extra-hospitalier durant la saison grippale, et pour tous les spécimens en dehors de la saison grippale.

^{N15}Une rRT-PCR spécifique à la grippe pH1N1 a été employée pour dépister tous les spécimens respiratoires. En outre, des rRT-PCR spécifiques à la grippe A et au RSV ont été utilisées pour les spécimens provenant de patients hospitalisés et d'éclosions. Les spécimens négatifs pour la grippe A, la grippe B et le RSV prélevés chez des patients hospitalisés, dans le cadre d'une éclosion ou de la surveillance exercée au sein de la collectivité ont été mis en culture virale.

^{N16}On s'attend à ce que le passage de la culture de virus aux tests multiplexes nécessite de restreindre ces derniers aux spécimens prélevés chez des patients hospitalisés, lors d'éclosions et dans le cadre de la surveillance exercée au sein de la collectivité.

^{O17}Le TDRG pour la grippe A/B a été réalisé sur tous les spécimens provenant d'éclosions. Ceux qui se sont révélés négatifs avec cette méthode ont été soumis à une rRT-PCR pour la grippe A/B. De plus, tous les spécimens prélevés chez des patients hospitalisés, chez des groupes à haut risque en milieu extra-hospitalier, dans des collectivités éloignées et dans le cadre de la surveillance exercée au sein de la collectivité ont été soumis à une rRT-PCR pour la grippe A/B. Tous les spécimens récoltés dans tous les autres contextes extra-hospitaliers ont été mis en culture virale.

^{O18}Les spécimens prélevés dans le cadre d'une éclosion ont fait l'objet de tests multiplexes

^{O19}Les spécimens prélevés chez des patients hospitalisés, dans des collectivités éloignées et dans le cadre d'éclosions ou de la surveillance exercée au sein de la collectivité ont été soumis à des tests multiplexes.

^{O20}Tous les spécimens prélevés chez des patients hospitalisés, dans des collectivités éloignées et dans le cadre de la surveillance exercée au sein de la collectivité sont soumis à une rRT-PCR pour la grippe A/B. Tous les spécimens récoltés dans tous les autres contextes extra-hospitaliers sont mis en culture virale.

^{O21}Les spécimens prélevés chez des patients traités en unité de soins intensifs, dans le cadre d'une éclosion ou lors de la surveillance exercée au sein de la collectivité sont soumis à des tests multiplexes.

^{Q22}Au Québec, le dépistage de première ligne pour les virus respiratoires est effectué dans les laboratoires hospitaliers. Chaque hôpital établit ses propres critères de test. Le laboratoire provincial réalise les tests de PCR pour la grippe A/B, et le laboratoire provincial se charge du sous-typage pour les spécimens provenant d'éclosions.

^{Q23}Au cours de la période postpandémique, les laboratoires hospitaliers sont responsables de la détermination des critères et de la méthodologie des tests. Au LSP, les spécimens prélevés dans le cadre d'éclosions ou de programmes de surveillance sont dépistés par le biais d'une épreuve de rRT-PCR.

des connaissances techniques et un équipement particulier, et ses résultats dépendent de la qualité des spécimens prélevés par le personnel de santé. L'isolement en culture cellulaire classique présente un délai d'exécution pouvant être long (jusqu'à 14 jours), et n'est réalisable que si les conditions de transport permettent de préserver la viabilité du virus. En outre, la présence du virus de la grippe dans la culture cellulaire doit être confirmée au moyen d'une autre méthode (IFD ou test des acides nucléiques [TAN]). Ni les TDRG, ni les épreuves d'IFD, ni l'isolement du virus ne permettent d'établir une distinction entre les divers sous-types du virus de la grippe A. La méthode la plus sensible en termes de détection de cette maladie et de distinction des sous-types est la RT-PCR (2). Les méthodes utilisables en temps réel offrent l'avantage d'un délai d'exécution réduit (4 à 6 heures) par rapport aux techniques classiques de PCR (8 heures). En raison de la sensibilité accrue des tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN) et de leur aptitude à distinguer les sous-types du virus de la grippe, chaque LSP au Canada a

intégré cette méthode à ses activités de détection de la grippe A dans le cadre des préparatifs entrepris pour faire face à une pandémie (3).

Bien qu'elle ait été utilisée de façon continue par le passé, la sérologie est d'une utilité limitée sur le plan clinique, car elle nécessite la soumission de spécimens prélevés en phase aiguë et pendant la convalescence. Elle est réalisée par le biais de tests par inhibition de l'hémagglutination (HAI) ou de microneutralisation (MN); ces derniers nécessitent beaucoup de main-d'œuvre. En général, on la réserve aux études de séroprévalence réalisées à des fins de surveillance et à la recherche sur les vaccins, mais on peut également y avoir recours dans le cadre d'un diagnostic rétrospectif de grippe pandémique, lorsque l'on dispose de spécimens sanguins appropriés.

Avant la pandémie, les LSP de tout le Canada suivaient une approche algorithmique comprenant une combinaison de diverses méthodes de détection des virus respiratoires. Comme le montre le Tableau 1, les TAN jouaient un rôle important dans

la détection des virus de grippe, et notamment dans les enquêtes sur les éclosions. Certaines provinces, dont l'Alberta, la Colombie-Britannique, l'Ontario et le Québec, procédaient à des tests multiplexes, qui permettent de détecter les virus de la grippe A et B, ainsi que de nombreux autres virus respiratoires, y compris le virus respiratoire syncytial (RSV), l'adénovirus, le rhinovirus/l'entérovirus, les coronavirus extra-hospitaliers, le virus parainfluenza, et le métagpneumovirus humain. En plus d'être soumis à des TAN, les spécimens, en particulier ceux qui provenaient d'un milieu extra-hospitalier, étaient testés par isolement en culture cellulaire.

Réponse à la pandémie de grippe A survenue en 2009

Au cours des dix dernières années, de nombreux pays, dont le Canada, avaient élaboré des plans de préparation à une pandémie. En général, ces plans reposaient sur l'hypothèse que lors d'une pandémie, et surtout pendant sa phase initiale, les tests de laboratoire étaient essentiels pour détecter le virus et en déterminer la prévalence et les caractéristiques de

Tableau 2. Caractéristiques de performances des méthodes de test de diagnostic pour la détection de la grippe A pandémique (H1N1)

Références	Plateforme évaluée	Sensibilité en %	Spécificité en %
Test de diagnostic rapide de la grippe (TRDG)			
Balish <i>et al</i>	Binax NOW Influenza A & B	40	--
	BD Directigen EZ Flu A + B	49	--
	QuickVue A + B	69	--
Vasoo <i>et al</i>	BinaxNOW Influenza A & B	38,3	100
	BD Directigen EZ Flu A + B	46,7	100
	QuickVue A + B	53,3	100
Hawkes <i>et al</i>	BinaxNOW Influenza A & B	62	99
de la Tabla	ClearView® Exact Influenza A + B	19	100
Ginocchio <i>et al</i>	Binax NOW Influenza A & B	9,6	
	3M Rapid Detection Flu A + B	40	
LeBlanc <i>et al</i>	BinaxNOW Influenza A & B	13	100
Test d'immunofluorescence directe			
Sandora <i>et al</i>	Simulofluor Flu A/B DFA	57,3	> 99
Gniocchio <i>et al</i>	D3 Respiratory Virus Reagents	46,7	94,5
Hawkes <i>et al</i>	Influenza A/B Chemicon	83	96

contagion, car cela pouvait influencer les mesures de lutte et de gestion (3).

Suite à l'apparition de la grippe pH1N1, dans de nombreux laboratoires, les TAN sont devenus la méthode de référence pour la détection de virus respiratoires. Au départ, les caractéristiques de performance de méthodes rapides telles que les TDRG et l'IFD étaient inconnues pour le virus de la grippe qui venait d'apparaître, ce qui en compliquait encore davantage le diagnostic. À un stade précoce de la pandémie, divers rapports, dont un émanait des Centers for Disease Control and Prevention (CDC), ont évalué les caractéristiques de performance des TDRG en matière de détection de la grippe pH1N1 (Tableau 2). Cette étude a signalé une sensibilité comprise entre 40 et 69 % (2). D'autres études portant sur l'un de ces TDRG (BinaxNOW Influenza A&B) a fait état de sensibilités atteignant à peine 10 % (4-6). La sensibilité du test ClearView® Exact Influenza A&B était également faible (19 %) par rapport à la méthode de rRT-PCR

employée par les CDC (Tableau 2) (7). Même si les TDRG offrent un délai d'exécution réduit et peuvent être réalisés ailleurs qu'en laboratoire, la prévalence exerce un impact important sur la valeur prédictive obtenue, aussi bien positive que négative, ce qui rend cette technique peu utile en tant que moyen de détection de la grippe pH1N1. C'est pourquoi des résultats négatifs à ces tests nécessitaient une confirmation par TAN.

C'est dans le même ordre d'idées que les caractéristiques de performance de diverses épreuves d'IFD en matière de détection de la grippe pH1N1 ont été évaluées (8-9). Comme le montre le tableau 2, la sensibilité de l'IFD, comprise entre 46,7 et 93 %, était comparable ou supérieure à celle des TDRG (8, 10). Aux États-Unis, une autorisation d'utilisation d'urgence (EUA) a été accordée par la Food and Drug Administration (FDA) pour le recours à au moins une épreuve d'IFD spécifique à la grippe pH1N1 dans un contexte commercial, mais celle-ci a été résiliée le 23 juin 2010, en même temps que toutes les autres

EUA accordées pour lutter contre la pandémie (9).

Comme nous l'avons déjà dit, les TAN constituent la méthode offrant le degré de précision le plus élevé, dans la mesure où ils permettent de détecter et de distinguer de façon fiable divers sous-types de virus de la grippe A. Lorsque la pandémie a pris naissance au Mexique, les CDC, l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) et l'OMS ont identifié le virus par le biais d'une analyse de séquence génomique (11).

Au 28 avril 2009, le Laboratoire national de microbiologie avait fourni des amorces et un protocole permettant d'identifier cette nouvelle souche, et la plupart des LSP de tout le pays, ainsi que de nombreux laboratoires de microbiologie de centres hospitaliers universitaires, avaient rapidement évalué et mis en application une méthode de RT-PCR visant à détecter la grippe pH1N1. Cette méthode était basée sur la RT-PCR des gènes matriciels (M) et hémagglutinants (HA) (12-13). Au 30 avril 2009, les CDC avaient publié le protocole de

rRT-PCR pour la détection de tous les virus de grippe A et le sous-typage de la grippe pH1N1, lequel a été adopté par de nombreux laboratoires canadiens (14). Au 7 mai 2009, de nombreux pays du monde entier avaient accès au protocole des CDC et pouvaient réaliser des rRT-PCR pour détecter la grippe pH1N1.

En plus des rRT-PCR, les essais multiplexes sont devenus un impor-

tant outil de détection des pathogènes respiratoires viraux. Ces plateformes ont pratiquement fait disparaître, dans de nombreux laboratoires, la nécessité de mettre en culture des échantillons de virus courants. En général, ces essais sont non seulement plus sensibles que les cultures (4), mais en outre, d'un point de vue opérationnel, on les préfère aux cultures virales, car la manipulation de ces dernières impliquait la prise de

précautions plus rigoureuses, notamment l'utilisation d'un respirateur N95 étant donné que la Direction de la réglementation d'agents pathogènes avait initialement considéré le virus de la grippe pH1N1 comme un pathogène nécessitant un niveau de confinement 3 (NC3). La détection par TAN n'imposait pas le respect de telles précautions, puisque ces tests ne nécessitent pas l'utilisation de virus vivants.

Tests de laboratoire menés en réponse à la pandémie dans divers pays

Royaume-Uni

Au Royaume-Uni, la *Health Protection Agency* (HPA) [Agence de protection de la santé] a lancé une phase de « confinement » dans le cadre de la réponse à la pandémie après que les deux premiers cas de grippe pH1N1 confirmés ont été identifiés le 27 avril 2009. Initialement, c'était le laboratoire national de référence de l'HPA qui réalisait les tests et les confirmations. À partir du 4 juin 2009, en raison de la demande massive de tests, cette approche a été décentralisée au profit d'une répartition entre les laboratoires du réseau régional de la HPA (15, 16). Celle-ci a également mis sur pied le « *First Few Hundred Project* » (FF100), un projet de surveillance visant à recueillir des données démographiques et virologiques détaillées, ainsi que des informations sur l'exposition, le traitement et les résultats cliniques au sujet de cas de grippe pH1N1 confirmés par des analyses de laboratoire et des personnes avec lesquelles ils avaient eu des contacts étroits au cours de cette phase. Pour déterminer l'étendue de la transmission dans la collectivité, on a envoyé aux personnes qui ont contacté leur infirmière de santé publique des trousseaux d'auto-échantillonnage pour prélever des spécimens par écouvillonnage nasal qui

feraient l'objet de tests de dépistage de la grippe. Ces données ont indiqué que du 28 mai au 30 juin, 1 385 spécimens ont été prélevés par écouvillonnage; la présence de la grippe pH1N1 a été confirmée dans 91 (7 %) d'entre eux (15, 16). Il est important de noter que comme les spécimens sont prélevés et envoyés par des personnes inexpérimentées, leur qualité n'est pas toujours optimale, ce qui peut avoir un impact sur la sensibilité des tests.

Au cours des premières semaines de la pandémie, les laboratoires du *Regional Microbiology Network* (RMN) [Réseau régional de microbiologie] ont pu gérer la demande accrue en tests de dépistage; cependant, à mesure que le nombre de cas augmentait, il est apparu qu'ils fonctionnaient au maximum de leurs capacités d'analyse. Pour pallier ce manque de ressources, le RMN a élaboré des plans de transport des spécimens vers d'autres laboratoires du réseau, et il a augmenté la capacité en réalisant plusieurs séries de tests par jour, 24 heures sur 24, sept jours sur sept. Afin de répondre à cette croissance soudaine des besoins en matière de dépistage, des matériels ont été acquis rapidement, ce qui a permis d'atteindre une capacité globale de 5 500 tests/jour dans toute l'Angleterre (16). De plus, des

efforts ont été consentis au niveau du soutien administratif, ce qui a permis de téléphoner aux personnes qui avaient fourni un spécimen pour leur transmettre les résultats, qu'ils soient positifs ou négatifs. Au cours de la dernière semaine de juin 2009, les laboratoires du RMN ont réalisé plus de 10 000 tests. À la fin du mois de juin, la transmission à grande échelle du virus dans les collectivités a justifié le passage à une phase de « priorité au traitement » pendant laquelle les cas soupçonnés ne faisaient plus systématiquement l'objet de tests de dépistage du virus de la grippe, et les patients présentant les caractéristiques cliniques d'une infection grippale étaient traités par antiviraux (16).

Australie (Nouvelle-Galles du Sud)

En Australie, le premier cas de grippe pH1N1 a été signalé le 9 mai 2009 dans le Queensland. Dès la première semaine de mai, le ministère de la Santé et des services aux personnes âgées a annoncé le passage à la phase *DELAY* [retarder]. Au cours de cette phase, on a cherché à dépister la grippe chez les voyageurs rentrant en Australie et dans la population générale, en vue de prévenir la transmission du virus. Même si la réponse à la pandémie relevait des États et territoires agissant individuellement, un

grand nombre de ces ressorts ont aligné leurs recommandations, y compris en ce qui concerne les tests de laboratoire, sur les lignes directrices nationales. Le 22 mai 2009, la phase *CONTAIN* (confiner), dans le cadre de laquelle on a encouragé tous les cas suspects à se soumettre à un test de dépistage de la grippe pH1N1, a débuté (17, 18). Les mesures prises se voulaient un instrument de lutte contre la transmission du virus au sein des collectivités. Ensuite, le 23 juin, la phase *PROTECT* (protéger) a commencé. Au cours de celle-ci, on a d'abord soumis à des tests de laboratoire les cas qui présentaient une affection d'intensité sévère à modérée, ainsi que les membres de populations à risque élevé. De plus, on a recommandé de poursuivre les tests chez les patients hospitalisés, et un groupe représentatif de spécimens prélevés dans la collectivité a été soumis à des épreuves à des fins de surveillance. En Nouvelle-Galles du Sud, pour pouvoir prélever des spécimens ou réaliser des tests de dépistage de la grippe, il fallait obtenir le consentement des services de santé publique ou d'un clinicien autorisé (19), et celui qui fournissait le spécimen devait remplir un formulaire en ligne conçu spécialement à cette fin. On entrainait les résultats, qui étaient ensuite transmis et présentés dans un système Web unique, NetEpi. En Nouvelle-Galles du Sud, les tests moléculaires de détection de la grippe pH1N1 étaient seulement réalisés dans deux laboratoires publics de référence, à Sydney. À mesure que le nombre de tests nécessaires augmentait, six autres laboratoires d'analyse ont participé aux activités d'intervention en utilisant des tests conçus pour des applications commerciales. Au cours de la phase *PROTECT*, les TDRG étaient effectués dans des laboratoires

privés. D'après Adamson *et al.*, au début de la pandémie, les résultats étaient diffusés assez rapidement, mais cela n'a pas duré lors des phases *CONTAIN* et *PROTECT*, car les laboratoires n'ont plus été en mesure de faire face à la demande en tests de dépistage qui, s'ils étaient réclamés par la collectivité, n'étaient pas nécessaires pour assurer la gestion des besoins en matière de santé publique ou des aspects cliniques (19). Cette demande importante s'est mainte-

nue de façon continue au cours de la phase *PROTECT*, en dépit des mesures vigoureuses prises pour la décourager. En raison de la politique de la Nouvelle-Galles du Sud selon laquelle aucun spécimen ne devait être rejeté, ces volumes excessifs ont eu de graves répercussions négatives sur la fourniture des services, notamment sur les délais d'exécution. C'est pour éviter que cette expérience ne se renouvelle qu'on a suggéré d'envisager, à l'avenir, un dépistage

Le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada (RLSPC) et le Réseau de préparation des laboratoires à une pandémie d'influenza (RPLPI)

Créé en 2001, le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada (RLSPC) est une association nationale de professionnels des laboratoires de santé publique dont le rôle est de servir de tribune aux chefs de file des laboratoires de santé publique, leur permettant ainsi d'échanger leurs connaissances et leur savoir-faire dans un climat de confiance. La mission du RLSPC consiste à jouer un rôle de leadership et de consultation dans tous les aspects du système de santé publique en poursuivant l'élaboration d'un réseau proactif de laboratoires de santé publique, en vue de protéger et d'améliorer la santé des Canadiens. C'est par l'entremise des groupes thématiques/de travail du RLSPC que des questions présentant de l'importance pour les laboratoires de santé publique sont identifiées, examinées et abordées, ou que les mesures à caractère opérationnel qui s'imposent sont prises à l'échelle nationale. Les groupes thématiques/de travail feront également fonction de groupes d'experts, leur rôle étant d'échanger des vues au sujet de problèmes spécifiques, d'analyser ces derniers au nom du RLSPC, et de mettre en œuvre des initiatives précises.

En tant que groupe thématique du RLSPC, le Réseau de préparation des laboratoires à une pandémie d'influenza (RPLPI) s'efforce d'aider les laboratoires de santé publique à mieux se préparer à faire face à une grippe pandémique et à d'autres menaces potentielles pour la santé publique, en mettant en place des réseaux et des collaborations entre les cliniciens, les épidémiologistes fédéraux et les laboratoires de santé publique aux niveaux fédéral, provincial, régional, local et hospitalier. Le RPLPI est chargé d'émettre des recommandations destinées aux laboratoires de santé publique concernant les mesures à prendre en cas de pandémie. Les laboratoires jouent un rôle crucial sur le plan de la réponse à la grippe pandémique; c'est pourquoi le RPLPI coordonne l'élaboration de lignes directrices applicables aux interventions en santé publique, et ses efforts ont abouti aux résultats présentés à l'Annexe C : Lignes directrices à l'intention des laboratoires en cas de pandémie d'influenza, diffusées dans le cadre du *Plan canadien de lutte contre la pandémie d'influenza dans le secteur de la santé*.

ciblé conçu pour permettre aux laboratoires de répondre à une urgence infectieuse (19).

États-Unis (North Shore Long Island Jewish Health System, New York City)

Aux États-Unis, les CDC ont fourni des réactifs et des protocoles de détection par TAN de la grippe pH1N1 aux laboratoires publics de microbiologie des États. De nombreux laboratoires d'État ont aidé les laboratoires cliniques en effectuant des tests RT-PCR ciblant la grippe A ou en procédant à un sous-typage. Le laboratoire de microbiologie de l'État de New York a d'abord été autorisé à effectuer des tests moléculaires de détection de la grippe pH1N1. Une étude menée par Crawford *et al.* a abouti à la publication d'un compte rendu sur les résultats obtenus par son équipe pendant la phase initiale de la pandémie (20). Le laboratoire de microbiologie du North Shore Long Island Jewish Health System (NSLIJSH), qui dessert 15 hôpitaux et cabinets de médecins régionaux de l'agglomération métropolitaine de New York, a reçu des spécimens prélevés auprès de 20 étudiants présentant un syndrome grippal qui s'étaient présentés à l'un des services d'urgence des hôpitaux, le 24 avril 2009. Certains de ces spécimens ont donné des résultats positifs aux tests de détection du virus de la grippe A, après quoi ils ont été envoyés aux CDC pour sous-typage. Les CDC ont signalé que 28 de ces 35 spécimens étaient positifs pour la grippe pH1N1. Au 29 avril 2009, le nombre de spécimens soumis quotidiennement au laboratoire avait été multiplié par plus de 7,5 par rapport au nombre journalier moyen avant la pandémie, avec un total de 308 spécimens. Afin de faire face à cet afflux, les heures de travail ont été prolongées, l'espace de travail a été agrandi,

un nouveau système de traitement des renseignements sur les nouveaux tests a été mis sur pied, et un système de communication conçu pour gérer l'augmentation du nombre d'appels téléphoniques a été instauré. Au cours de cette période, un essai moléculaire multiplexe a été mis en œuvre afin d'analyser les spécimens respiratoires. En outre, le protocole de la culture rapide en tube cylindrique a été modifié pour dépister les cultures à 24, et non 48 heures, afin de raccourcir le délai d'exécution pour les spécimens positifs. À la fin du mois de juin, plus de 34 000 tests avaient été réalisés, dont des TDRG, des épreuves d'IFD, des mises en culture et des tests moléculaires multiplexes. Ce volume d'analyses était similaire au nombre moyen de tests menés au cours d'une saison entière de grippe saisonnière. Étant donné que beaucoup de ces tests nécessitaient des connaissances spécialisées, la gestion du personnel est devenue le principal défi à relever. Des membres du personnel travaillant dans d'autres départements ont été recrutés et ont reçu une formation polyvalente afin de répondre aux besoins croissants en tests de dépistage de la grippe. En raison de l'alourdissement de la charge de travail et de la prolongation des heures de service, une rotation des personnels, avec temps de pause obligatoires, a été mise en place afin de s'assurer que tous les employés étaient suffisamment reposés et que le laboratoire pouvait conserver ses capacités d'analyse sur le long terme. S'étant préparé à faire face à des situations d'urgence telles que celles créées par des actes de bioterrorisme, le laboratoire a réussi à surmonter efficacement ce défi. De plus, on a eu le sentiment que la mise en œuvre rapide de TAN a été la clé de son succès dans la lutte contre la grippe pH1N1 (20).

Canada

Comme en Australie, la réponse à la grippe pandémique relevait des systèmes de santé provinciaux du Canada. Les premiers cas canadiens de grippe pH1N1 ont été signalés en Nouvelle-Écosse et en Colombie-Britannique, le 26 avril 2009. En conséquence, les LSP de tout le Canada ont procédé à des TAN pour détecter ce nouveau virus. Si cela a été rendu possible, c'est parce que chaque LSP du Canada s'était doté de capacités de test dans le cadre des plans de préparation à la pandémie, et parce qu'il réalisait avant la pandémie des TAN sur des spécimens d'éclosion. De plus, l'importance accordée au respect des précautions en matière de biosécurité et la diffusion rapide des techniques de rRT-PCR pour détecter la grippe pH1N1 expliquent pourquoi de nombreux laboratoires ont été amenés à préférer des méthodes moléculaires plutôt que des techniques de mise en culture virale. Les LSP de l'Alberta, de la Colombie-Britannique et de l'Ontario ont étendu le champ d'application des essais multiplexes dans leurs algorithmes de test, car d'autres virus respiratoires circulaient également au cours de la pandémie (Tableau 1). Marchand-Austin *et al.* ont examiné 83 éclosions de maladies respiratoires signalées dans des établissements de soins prolongés (ESP) de l'Ontario entre le 20 avril et le 12 juin 2009, qui ont fait l'objet d'une série de tests commerciaux multiplexes (21). Parmi les éclosions analysées, 37, 27 et 20 % avaient été causées par un entérovirus/rhinovirus, par un virus para-influenza 3 et par un métapneumovirus humain, respectivement, tandis qu'une seule d'entre elles (1 %) était due au virus de la grippe pH1N1 (21). Ces données ont démontré qu'en plus du virus

de la grippe pH1N1, d'autres virus respiratoires étaient en circulation au cours de la pandémie et qu'ils étaient en fait à l'origine de la majeure partie des éclosions survenant dans les ESP. Cette information a joué un rôle crucial dans la gestion des éclosions et la lutte contre celles-ci, et c'est elle qui a permis d'éviter, lorsque des éclosions sont survenues, d'administrer inutilement des antiviraux à des fins de prophylaxie et de traitement.

Au printemps, lors de la première vague, tous les spécimens respiratoires ont été analysés par le biais de TAN (Tableau 1), et ceux qui affichaient des résultats négatifs ont ensuite été mis en culture. Par ailleurs, le Manitoba et l'Ontario ont d'abord eu recours aux TDRG pour dépister les spécimens d'éclosion et détecter la grippe, pour réaliser ensuite un TAN. Au Québec, les TDRG ont principalement été utilisés dans le cadre du processus d'examen préalable, à des fins de lutte contre les infections plutôt que pour diagnostiquer une infection grippale. La forte spécificité des TDRG a permis aux unités de santé publique de gérer une éclosion en présumant qu'elle était due au virus pH1N1 lorsqu'un TDRG affichait un résultat positif pour la grippe A.

On reconnaissait l'importance d'un sous-typage rapide, et la plupart des LSP du Canada ont mené des essais de sous-typage. En Colombie-Britannique et en Ontario seulement, on a mené des tests génotypiques de résistance, et ce surtout lors de la première vague, alors que la majorité des LSP continuaient de compter sur les services du LNM pour assurer cette fonction (Tableau 1). Conformément au programme de surveillance national adopté précédemment, le LMN a continué de recevoir des spécimens positifs pour la grippe A en vue



d'une caractérisation plus poussée (confirmation, sous-typage, identification de la souche et tests de résistance). Globalement, la première vague a duré environ 8 à 16 semaines au Canada; la pandémie a atteint son pic à des moments légèrement différents selon les provinces.

Au cours de la première vague, tous les spécimens respiratoires étaient soumis à des tests de détection du virus de la grippe A. Cependant, à mesure que la pandémie progressait, avec une propagation à grande échelle dans les collectivités, les laboratoires ont mis sur pied des stratégies consistant à analyser les spécimens de manière sélective, c'est-à-dire en n'évaluant que ceux prélevés chez les patients réputés les plus susceptibles de bénéficier d'un diagnostic de laboratoire définitif. Ces sujets comprenaient des patients hospitalisés, certaines personnes à haut risque (p. ex. patients présentant des facteurs de risque tels que grossesse ou état immunocompromis, jeunes enfants, etc.) ou des populations précises (p. ex. les communautés autochtones) et les cas signalés lors d'éclosions (p. ex. personnes affectées par une éclosion

de grippe pH1N1 dans des établissements de soins de longue durée, où les pratiques de prophylaxie et de lutte contre les infections jouent un rôle important pour combattre le virus et l'empêcher de continuer à se transmettre). Cela a poussé les LSP à prendre les mesures nécessaires en prévision de la seconde vague, à l'automne 2009, dont on s'attendait à ce qu'elle soit plus intense. À cette même période, le Réseau de préparation des laboratoires à une pandémie d'influenza (RPLPI) a publié des directives sur la détection de la grippe pH1N1 en laboratoire (22). D'après lui, les tests moléculaires constituaient la méthode de prédilection pour la détection de cette maladie, et le dépistage devait être réalisé à des fins de surveillance au sein de la collectivité et chez des patients présentant une maladie d'intensité sévère pouvant faire penser à la grippe, ainsi que chez des groupes à haut risque, ou en cas de décès à la suite d'une maladie aiguë lorsqu'une grippe était soupçonnée, et pour les enquêtes sur les éclosions. Le dépistage n'était pas recommandé chez des patients présentant une infection sans complications qui

appartenaient à des collectivités où la transmission de la grippe pH1N1 était généralisée. En se fondant sur ces lignes directrices et sur les capacités de test, la plupart des provinces ont donné la priorité en matière de dépistage aux groupes à risque, et tout particulièrement aux patients hospitalisés ou participant à une enquête sur une éclosion (Tableau 1). Aux lignes directrices du RPLPI est venue s'ajouter la décision prise par l'Alberta, l'Ontario et la Nouvelle-Écosse, au cours de la période de pic de la seconde vague, de rejeter les spécimens prélevés en milieu extra-hospitalier chez des patients atteints d'une maladie ne s'accompagnant pas de complications et ne présentant pas de facteurs de risque. Aucun changement majeur n'a été observé entre les deux vagues en ce qui concerne le sous-typage et les tests de résistance, mais l'Alberta et le Québec ont instauré une pratique consistant à mener des tests de résistance chez des patients en soins intensifs ou immunocompromis, et à des fins de surveillance au sein de la collectivité, afin d'améliorer les délais d'exécution de ces analyses. D'autres LSP ont continué d'envoyer leurs spécimens au LNM pour que ce dernier les soumette à des tests de résistance. Certains laboratoires pouvaient mener des tests de résistance vérifiés (c'est-à-dire que ces épreuves faisaient l'objet d'un processus de contrôle de la qualité dans le cadre duquel elles étaient évaluées puis certifiées), mais ils ne les ont jamais intégrés à leurs services d'analyses systématiques. Cela est peut-être lié à la rareté des cas de grippe pH1N1 résistants à l'oseltamavir, avec seulement quelques centaines de cas signalés dans le monde entier (23).

Au printemps 2010, le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada (RLSPC) a mené une

enquête sur l'impact de la pandémie sur les LSP de tout le Canada. L'objectif de cette évaluation était d'identifier les défis auxquels était confronté chaque LSP en matière de capacité, de moyens, de délai d'exécution, de stockage et de surveillance (24). D'une manière générale, tous les LSP étaient prêts à répondre à la pandémie, et ce grâce à leurs plans de préparation. D'après cette enquête, 73 % des LSP ont déclaré avoir suffisamment de personnel pour faire face aux besoins générés par la pandémie. Ce résultat

En moyenne, les provinces ont indiqué que par rapport aux saisons grippales précédentes, elles avaient reçu dix fois plus de spécimens à soumettre à des tests de détection de la grippe au cours de la seconde vague de la pandémie.

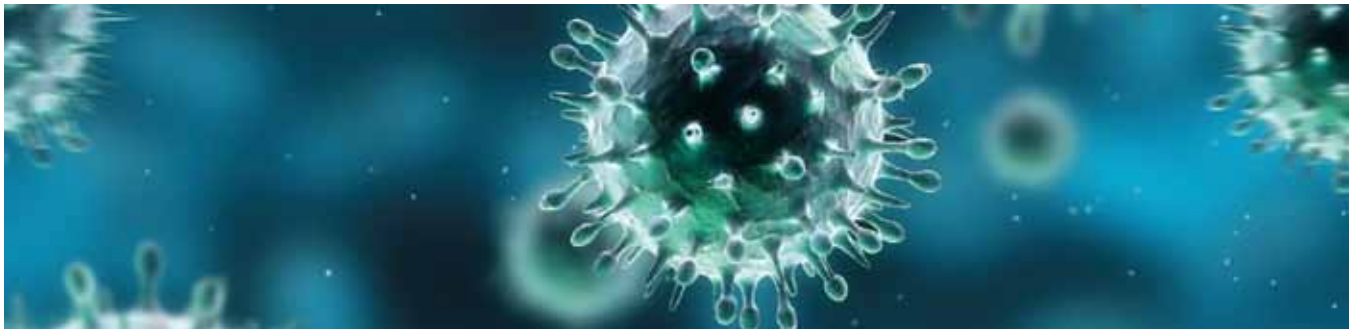
a été obtenu en offrant une formation polyvalente aux membres du personnel travaillant dans d'autres départements pour leur permettre de réaliser des tests de dépistage de la grippe. En outre, certains LSP ont cessé de réaliser les tests portant sur d'autres agents infectieux, y compris

les PCR pour les norovirus, la culture virale de spécimens génitaux, la sérologie, la culture de virus respiratoires et de bactéries *Mycoplasma pneumoniae*, les tests de dépistage d'œufs et de parasites, le typage bactérien et le génotypage du VIH, afin de pouvoir faire face au nombre croissant de tests de détection de la grippe effectués.

En moyenne, les provinces ont indiqué que par rapport aux saisons grippales précédentes, elles avaient reçu dix fois plus de spécimens à soumettre à des tests de détection de la grippe au cours de la seconde vague de la pandémie. Afin de maintenir des délais d'exécution de 24 heures, les LSP ont non seulement affecté davantage de personnel au dépistage de la grippe, mais ils ont aussi instauré un prolongement des heures de travail en mettant en place des semaines de 6 ou 7 jours ouvrés. En outre, de nombreux LSP de la Colombie-Britannique, de l'Ontario et du Québec ont décentralisé leurs activités de dépistage en confiant les tests moléculaires pour la grippe pH1N1 à beaucoup d'autres laboratoires, notamment à ceux qui étaient affiliés à des centres hospitaliers universitaires, ce qui a permis une augmentation des capacités de test globales.

Aucun problème majeur en lien avec les réactifs et l'équipement n'a été signalé, étant donné que la majeure partie des LSP ont pu acheter et stocker des réactifs dès l'identification de la grippe pH1N1, à la fin du mois d'avril 2009. Cependant, de nombreuses provinces ont signalé un manque de moyens de transport des virus et d'écouvillons nasopharyngés à l'échelle locale.

Pour résoudre certains de ces problèmes, les LSP ont recommandé de concentrer les efforts sur la résolution des questions de personnel, d'équipement, de gestion des don-



nées et d'espace. Les LSP de tout le Canada ont pris connaissance de ces recommandations, mais ils ne les ont pas forcément suivies selon le même ordre de priorité.

Partout au Canada, les LSP ont joué un rôle crucial non seulement dans le dépistage de la grippe pH1N1, mais aussi dans la surveillance du pathogène responsable et d'autres virus respiratoires. Les laboratoires ont continué d'envoyer des spécimens au LNM dans le cadre du programme national de surveillance. De plus, ces derniers partageaient les résultats des tests en temps réel avec leurs partenaires épidémiologiques provinciaux. Juste avant le début de la pandémie, les LSP canadiens ont envoyé un certain nombre d'agents techniques de laboratoire chargés de la liaison dans la plupart des LSP afin d'accélérer et d'améliorer la communication des résultats et des tendances aux parties concernées. Cette initiative opportune, qui représentait une réponse rationnelle aux besoins de communication de cette période, a été extrêmement bien accueillie par les LSP qui en ont bénéficié. En prenant les devants pour répondre à la pandémie, les laboratoires ont démontré qu'ils excellaient non seulement dans l'analyse rapide de spécimens à des fins de gestion clinique, mais aussi dans la fourniture de données utiles sur le plan de la surveillance et de la caractérisation de l'épidémiologie du nouveau virus.

Résumé et conclusions

Au Canada, la réponse à la pandémie de grippe pH1N1 a permis de mettre à l'épreuve la capacité des laboratoires de microbiologie (dont les LSP) à réagir face à une menace émergente. Même si la pandémie n'a pas été aussi grave qu'on ne l'avait cru initialement, les plans de préparation ont clairement contribué au succès des efforts de gestion diagnostique de la pandémie par les LSP. L'adaptation des plans nationaux et provinciaux de préparation à la pandémie en fonction des circonstances, combinée aux conseils fournis par des groupes nationaux tels que le RLSPC, a permis aux laboratoires des quatre coins du Canada de réagir rapidement et efficacement. Au cours de la pandémie, les LSP ont suivi de près leurs algorithmes de dépistage afin d'évaluer l'efficacité des tests, les capacités et les moyens des laboratoires, pour les modifier au besoin. La pandémie a également exercé un effet durable sur les tests portant sur les virus respiratoires. Partout, les tests des acides nucléiques, y compris les tests multiplexes de détection de virus respiratoires, sont devenus la méthode de prédilection, et de nombreux laboratoires cherchent à en savoir plus sur la façon de remplacer la culture de virus par des tests multiplexes. En outre, l'importance du sous-typage et des tests de résistance aux antiviraux a été réaffirmée en ce qui concerne la prise en charge des patients et

la surveillance de la grippe. Enfin, la pandémie a démontré qu'il était nécessaire de disposer d'un solide système de surveillance afin de détecter non seulement de nouvelles souches de la grippe, mais également d'autres agents pathogènes. Des systèmes de surveillance bien établis permettent aux professionnels de la santé publique d'identifier, de caractériser et de mettre en place des mesures de lutte afin de réduire à un minimum les effets exercés par tout nouveau pathogène émergent.

Un grand nombre des améliorations apportées suite à la pandémie aux infrastructures des laboratoires, à la surveillance et aux réseaux de communication inter-laboratoires, au Canada et ailleurs dans le monde, seront une source d'avantages supplémentaires significatifs. Elles renforceront notamment la réactivité des laboratoires face à l'émergence de maladies infectieuses et de menaces bioterroristes futures, quel que soit le pathogène concerné. On peut également s'attendre à ce que la rapidité et la qualité des renseignements spécifiques et globaux provenant des laboratoires de virologie soient bien plus élevées grâce à ces retombées. Il est donc impératif non seulement de préserver les progrès accomplis au cours de la pandémie, mais encore de poursuivre sur cette lancée pour permettre aux réseaux de laboratoires d'intervenir efficacement lorsque surviendra la prochaine maladie émergente.

Références :

- Brammer L, Epperson S, Blanton L, Dhara R, Wallis T, Finelli L, Fiore A, Gubavera L, Bresee J, Klimov A and Cox N. Update: Influenza Activity — United States, September 28–November 29, 2008. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. 2009; 57(49): 1329.
- Balish A, Wu K, Barnes N, Emery S, Berman L, Shu B, Lindstrom S, Xu X, Uyeki T, Shaw M, Klimov A, Villanueva J and influenza Division, National Centre for Immunization and Respiratory Diseases, CDC. Evaluation of rapid influenza diagnostic tests for detection of novel influenza A (H1N1) virus – United States, 2009. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. 2009; 826-829.
- Plan canadien de lutte contre la pandémie d'influenza dans le secteur de la santé. <http://www.phac-aspc.gc.ca/cpip-pclcpi/index-fra.php>. (Site consulté le 2 octobre 2010)
- Ginocchio CC, Zhang F, Manji R, Arora S, Bornfreund M, Falk L, Lotlikar M, Kowerska M, Becker G, Korologos D, Geronimo M and Crawford JM. Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak. **Journal of Clinical Virology**. 2009; 45:191-195.
- Vasoo S, Steven J and Singh K. Rapid antigen tests for diagnosis of pandemic (swine) influenza A/H1N1. **Clinical Infectious Disease**. 2009; 49: 1090-1093.
- Hawkes M, Richardson SE, Ipp M, Schuh S, Adachi D and Tran D. Sensitivity of rapid influenza diagnostic testing for swine-origin 2009 A (H1N1) influenza virus in children. **Pediatrics**. 2010; 125(3): e639-e644.
- de la Tablo VO, Antequera P, Masia M, Ros P, Martin C, Gazquez G, Bunuel F, Sanchez V, Robledano C and Gutierrez F. Clinical evaluation of rapid point-of-care testing for detection of novel influenza A (H1N1) virus in a population-based study in Spain. **Clinical Microbiology Infection**. 2009;
- Sandora TJ, Smole SC, Lee GM, Chung S, Williams L and McAdam AJ. Test characteristics of commercial influenza assays for detecting pandemic influenza A (H1N1) in children. **The Pediatric Infectious Disease Journal**. 2010; 29(3): 261-262.
- D3 Ultra 2009 H1N1 Influenza A Virus ID Kit <http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/Safety/EmergencySituations/UCM216611.pdf>
- Pollock NR, Duong S, Cheng A, Han LL, Smole S, Kirby JE. Ruling out novel H1N1 influenza virus infection with direct fluorescent antigen testing. **Clinical Infectious Disease**. 2009; 49: 66-8.
- WHO ad hoc scientific teleconference on the current influenza A (H1N1) situation 29 April 2009. http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/TCReport2009_05_04.pdf (Site consulté le 21 octobre 2010).
- Fouchier RA, Bestebroer, TM, Herfst S, Van Der Kemp L, Rimmelzwaan GF and Osterhaus AD. Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. **Journal of Clinical Microbiology**. 2000;38 (11):4096–4101.
- Leblanc JJ, Li Y, Bastien N, Forward KR, Davidson RJ and Hatchette TF. Switching gears for an influenza pandemic: validation of a duplex reverse transcriptase PCR assay for simultaneous detection and confirmatory identification of pandemic (H1N1) 2009 influenza virus. **Journal of Clinical Microbiology**. 2009; 47(12) 3805-13.
- CDC protocol of real-time RTPCR for swine influenza A (H1N1) 2009. http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/CDCrealtimeRTPCRprotocol_20090428.pdf (Site consulté le 28 octobre 2010).
- The role of the Health Protection Agency in the 'containment' phase during the first wave of pandemic influenza in England in 2009. Health Protection Agency. March 2010. http://www.hpa.org.uk/web/HPAwebFile/HPAweb_C/1274088320581 (Site consulté le 8 octobre 2010).
- Pandemic (H1N1) 2009 in England: an overview of initial epidemiological findings and implications for the second wave v4. 2 December 2009. http://www.hpa.org.uk/web/HPAwebFile/HPAweb_C/1258560552857 (Site consulté le 8 octobre 2010).
- Australian Health Management Plan for Pandemic Influenza Version 3, 21 September 2009. [http://www.healthemergency.gov.au/internet/healthemergency/publishing.nsf/Content/resources/\\$File/AHMPPI-PROTECTannex.pdf](http://www.healthemergency.gov.au/internet/healthemergency/publishing.nsf/Content/resources/$File/AHMPPI-PROTECTannex.pdf) (Site consulté le 10 octobre 2010)
- Guidance on Laboratory Testing. <http://www.healthemergency.gov.au/internet/healthemergency/publishing.nsf/Content/clinical-laboratory>. (Site consulté le 10 octobre 2010).
- Adamson S, Fizzell J, Dwyer DE, Rawlinson W and Armstrong K. Lessons from the NSW laboratory response to pandemic (H1N1) 2009 influenza. **NSW Public Health Bulletin**. 2010; 21(1-2):36-38.
- Crawford JM, Stallone R, Zhang F, Gerolimatos M, Korologos DD, Sweetapple C, de Geronimo M, Dlugacz Y, Armellino D and Ginocchio CC. Pandemic (H1N1) 2009 outbreak, New York City Metropolitan Area, USA. **Emerging Infectious Disease**. 2010; 16(1): 8-13.
- Marchand-Austin A, Farrell, DJ, Jamieson FB, Lombardi N, Lombos E, Narang S, Akwar H, Low DE and Gubbay JB. Respiratory infections in institutions during early stages of pandemic (H1N1) 2009, Canada. **Emerging Infectious Disease**. 2009; 15(12); 2001-2003.
- Directives provisoires sur la détection et la caractérisation du virus H1N1 pandémique (2009) en laboratoire. Réseau des laboratoires de la santé publique du Canada. http://www.cphln.ca/pdf/FR_H1N1_Best_Practice_Final_Version.pdf (Site consulté le 12 octobre 2010).
- World Health Organization, Weekly update on oseltamivir resistance to pandemic influenza A (H1N1) 2009 viruses. http://www.who.int/csr/disease/influenza/weekly_update_oseltamivir_resistant_20101108.pdf. (Site consulté le 7 décembre 2010).
- National public health laboratory capacity assessment summary results. September 2009. Canadian Public Health Laboratory Network.



National Collaborating Centre
for Infectious Diseases

Centre de collaboration nationale
des maladies infectieuses

413-445 AVENUE ELLICE, WINNIPEG, MB R3B 3P5

204.943.0051

NCCID@ICID.COM

WWW.CCNMI.CA