

Protocole pour la surveillance sentinelle nationale de la grippe

Maladies transmissibles, surveillance et riposte
Division Prévention et Lutte contre les Maladies transmissibles

Protocole pour la surveillance sentinelle nationale de la grippe

Maladies transmissibles, surveillance et riposte
Division Prévention et Lutte contre les Maladies transmissibles

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE
Bureau régional de l'Afrique
Brazzaville • 2008

© Bureau régional de l’OMS pour l’Afrique, 2008

Les publications de l’Organisation mondiale de la Santé bénéficient de la protection prévue par le protocole n° 2 de la Convention universelle pour la protection du droit d’auteur. Tous droits réservés. Il est possible de se procurer la présente publication auprès de l’Unité des Publications et des Langues, Bureau régional de l’OMS pour l’Afrique, B.P. 6, Brazzaville, République du Congo (tél.: +47 241 39100; tcp.: +47 241 39507; adresse électronique: afrobooks@afro.who.int). Les demandes relatives à l’autorisation de reproduire ou de traduire la présente publication – que ce soit pour la vente ou une diffusion non commerciale – doivent être envoyées à la même adresse.

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent, n’impliquent de la part de l’Organisation mondiale de la Santé aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les lignes en pointillé sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé ne peut avoir fait l’objet d’un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux n’implique pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l’Organisation mondiale de la Santé, de préférence à d’autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu’il s’agit d’un nom déposé.

L’Organisation mondiale de la Santé a pris toutes les mesures raisonnables pour vérifier l’exactitude des informations contenues dans la présente publication. Toutefois, cette publication est diffusée sans aucune garantie, fut-elle expresse ou sous-entendue. Le lecteur est responsable de l’interprétation des informations qu’elle contient et de l’utilisation qui en est faite. L’OMS ne peut en aucun cas être tenue responsable des dommages qui pourraient découler de l’utilisation de ces informations.

Imprimé en République du Congo

Sommaire

	Page
Abréviations.....	iv
1. Contexte	1
1.1 La grippe	1
1.2 Vue d'ensemble de la surveillance de la grippe.....	2
1.3 But du protocole.....	3
2. Justification de la surveillance sentinelle de la grippe	3
3. Réseau régional de laboratoires pour la grippe	3
4. Surveillance sentinelle nationale de la grippe	4
4.1 Objectifs d'un système de surveillance sentinelle de la grippe	4
4.2 Composantes du système de surveillance sentinelle nationale.....	4
4.3 Méthodes et procédures	5
4.4 Identification des cas.....	7
4.5 Collecte des données	10
4.6 Communication des données	10
4.7 Analyse des données	11
4.8 Retour de l'information	11
4.9 Organisation et fonctions	11
4.10 Suivi et évaluation.....	13

Annexes

1. Techniques d'échantillonnage respiratoire	14
2. Milieux de transport viral	16
3. Conditionnement et transport des prélèvements	17
4. Examen virologique des prélèvements destinés aux laboratoires pour la grippe Formulaires de communication des résultats	
5. Formulaire pour les cas de SG et de SRAS	
6. Formulaire de listage ligne par ligne	
7. Formulaires de notification mensuelle SIMR, y compris les cas de SRAS et de SG.....	
8. Organigramme de la surveillance sentinelle	

Abréviations

CDC	U.S. Centers for Disease Control and Prevention (Centres de contrôle et de prévention des maladies aux Etats-Unis)
GISN	Réseau mondial de surveillance de la grippe
HA	Hémagglutinine
HPAI	Grippe aviaire hautement pathogène
SIMR	Surveillance intégrée des maladies et réponse
SG	Syndromes grippaux
MOH	Ministère de la santé
NA	Neuraminidase
NIC	Centres nationaux de lutte contre la grippe
SRAS	Syndrome respiratoire aigu sévère
VTM	Milieu de transport viral
WCC	Centre collaborateur de l’OMS
OMS	Organisation mondiale de la Santé

1. Contexte

1.1 La grippe

La grippe est une maladie virale aiguë des voies respiratoires, souvent caractérisée par de la fièvre, des maux de tête, une myalgie, de la prostration, du coryza, un mal de gorge et de la toux. La grippe ne peut être distinguée des autres maladies respiratoires virales, sans la confirmation d'un laboratoire.

Etiologie: L'infection grippale est causée par des virus à ARN monocaténaire appartenant à la famille des Orthomyxoviridae. Les virus sont classés en virus de la grippe de type A, B et C. Les virus grippaux A et B peuvent provoquer des maladies épidémiques chez l'homme et les virus de type C provoquent, en général, une affection peu grave, analogue à un refroidissement. La grippe A infecte de nombreuses espèces, y compris l'homme, d'autres mammifères, et des oiseaux sauvages et domestiques. Les virus grippaux de type A peuvent être classés en sous-types selon la nature antigénique et génétique de leurs glycoprotéines de surface; 16 sous-types à hémagglutinine (HA) et 9 sous-types à neuraminidase (NA) ont été identifiés à ce jour. De nombreuses combinaisons différentes de protéines HA et NA sont possibles. Seuls certains sous-types de grippe A (c'est-à-dire H1N1, H1N2 et H3N2) ont été associés à des épidémies étendues chez l'homme.

Le succès épidémique à long terme des virus grippaux est avant tout dû à une variation antigénique qui intervient dans les glycoprotéines, HA et NA, à la surface du virus. Une légère modification d'un ou des deux antigènes peut causer une épidémie parce que la plupart des gens n'ont pas une protection suffisante par anticorps, conférée par une exposition précédente à des virus similaires. Ces légères modifications qui interviennent dans les virus grippaux aussi bien A que B, sont connues sous le nom de dérivés antigéniques. Une modification importante d'un ou des deux antigènes, connue sous le nom de dérive antigénique, n'intervient que chez les virus grippaux de type A. Une dérive antigénique peut causer une pandémie, si le virus est transmis facilement d'une personne à l'autre. Une dérive antigénique peut se produire, soit par transmission directe de l'animal (volaille) à l'homme, soit par mélange de gènes du virus grippal humain de type A et du virus grippal animal de type A, pour créer un nouveau sous-type A de grippe humaine par réassortiment génétique.

Epidémiologie: Le virus grippal se propage rapidement autour du monde à l'occasion d'épidémies saisonnières qui se traduisent par une morbidité et une mortalité excessives. Sous les climats tempérés, la grippe saisonnière se manifeste le plus souvent, chaque année, à la fin de l'automne ou au cours de l'hiver, même s'il peut y avoir des cas sporadiques toute l'année. La raison de la saisonnalité est inconnue, mais pourrait être due à la transmissibilité du virus résultant de conditions favorables à sa survie ou à une transmission accrue liée à des locaux surpeuplés. En général, la flambée atteint son pic en 2 à 3 semaines et peut durer 5 à 6 semaines, même si le virus peut toujours circuler au sein de la communauté pendant des semaines avant et après le début de la flambée. Le premier indice d'une flambée peut être signalé par un absentéisme scolaire accru à la suite de maladies respiratoires aiguës suivies de syndromes grippaux chez les adultes. Dans une situation de flambée, le taux moyen des attaques varie entre 10% à 20% au moins au sein d'une communauté et 50% au plus dans des groupes sélectionnés et dans des lieux fermés tels que foyers pour personnes âgées et camps militaires.

Alors que des cas sporadiques peuvent se présenter toute l'année dans les zones tropicales et sub-tropicales, certaines études mettent en évidence la saisonnalité associée à une pluviosité accrue et à des chutes de la température ambiante. Dans la Région africaine, l'épidémiologie et la charge de morbidité de la grippe humaine n'ont pas été décrites suffisamment. Les rares études disponibles indiquent que des cas de grippe sporadiques peuvent se présenter toute l'année et

que les flambées sporadiques surviennent essentiellement pendant la saison des pluies ou durant les périodes de l'année où les températures ambiantes sont plus basses

Grippe pandémique: Une pandémie de grippe ne peut se produire que s'il y a une transmission efficace et durable d'un sous-type de virus grippal pathogène contre lequel peu de gens sont immunisés. Trois pandémies mondiales se sont produites, ces cent dernières années. La pandémie de 1918 (grippe A/H1N1) est considérée avoir tué au moins 40 millions de personnes dans le monde entier, les taux de mortalité les plus élevés se présentant chez les jeunes adultes. Deux autres pandémies ont eu lieu en 1957 (grippe A/H2N2) et en 1968 (grippe A/H3N2), causant une morbidité et une mortalité importantes. Contrairement aux épidémies de grippe saisonnières, ces trois pandémies ont été à l'origine d'une affection sévère chez les sujets bien portants, plus jeunes.

Flambée de grippe aviaire A (H5N1): En 1997, les premières infections au virus A (H5N1) chez l'homme ont été signalées par Hong Kong, (Chine). La source de ces infections s'est avérée être des marchés de volaille vivante. A la fin de 2003, plusieurs pays asiatiques ont déclaré des infections humaines associées à d'importantes flambées de grippe aviaire chez la volaille. Ces cinq dernières années, le nouveau virus hautement pathogène de la grippe aviaire, A/H5N1, s'est rapidement répandu d'un bout à l'autre du globe. Entre 2003 et mai 2008, des flambées et des cas de H5N1 chez la volaille et des oiseaux sauvages ont été notifiés par 61 pays (15 en Asie, 12 en Asie centrale et au Moyen-Orient, 11 en Afrique et 23 en Europe), outre 382 infections humaines et 241 décès dus au virus H5N1 ont été notifiés¹ par 14 pays, parmi lesquels, Djibouti, l'Égypte et le Nigéria.

Si le virus devient capable de se transmettre facilement à l'homme, il pourrait en résulter une pandémie de grippe susceptible de tuer des millions de personnes. Les activités humaines, parmi lesquelles l'important commerce légal et illégal d'oiseaux vivants et de produits avicoles, l'absence relative de biosécurité dans l'industrie avicole, la pratique largement répandue de garder la volaille à l'intérieur des foyers, ainsi que la présence et la migration d'oiseaux sauvages à travers le continent africain accroissent le risque que l'Afrique ne soit le cadre de l'émergence éventuelle d'une pandémie chez l'homme.

1.2 Vue d'ensemble de la surveillance de la grippe

L'Organisation mondiale de la Santé envisage un système efficace de surveillance de la grippe qui fournira en temps voulu des informations dans toutes les régions du monde. Fondé en 1952 par l'OMS, le Réseau mondial de surveillance de la grippe (GISN) est un système de surveillance composé de laboratoires et de centres collaborateurs dans le monde entier, qui collectent et analysent les données cliniques et les prélèvements provenant de patients atteints de syndromes grippaux au cours d'une saison de grippe. Le GISN a pour objectif de protéger la santé publique mondiale en surveillant les virus en circulation, afin de faire des recommandations annuelles au sujet de la composition du vaccin contre la grippe pour les hémisphères nord et sud. Il fonctionne également comme un mécanisme d'alerte mondiale en cas d'émergence de nouveaux virus grippaux présentant un potentiel pandémique.

A compter du mois de janvier 2008, le GISN comprend 122 institutions de 94 pays, reconnues en tant que centres nationaux de l'OMS pour la grippe et quatre centres collaborateurs de l'OMS. Une analyse approfondie des capacités et des activités des centres nationaux de la grippe a révélé que 87 (71%) d'entre eux sont des participants actifs au réseau. Il y a dans la Région africaine, neuf centres régionaux de lutte contre la grippe dans huit pays, mais seulement cinq ou six d'entre eux sont actifs. D'autres laboratoires ne relevant pas de centres nationaux de

¹ Statistiques officielles de l'OMS et de la FAO: http://www.who.int/csr/disease_influenza et <http://www.fao.org/avianflu>.

lutte contre la grippe ont également soumis des virus grippaux aux centres collaborateurs de l’OMS.

Avec la menace de grippe pandémique, le GISN doit accroître sa couverture géographique et ses interactions entre les centres nationaux de la grippe et les centres collaborateurs de l’OMS pour surveiller la grippe et détecter la(les) souche(s) de grippe pandémique qui viennent d’émerger. Par rapport aux autres régions de l’OMS, la Région africaine est la moins représentée au sein du GISN. Les quelques Centres nationaux existants de lutte contre la grippe ont mis en évidence la nécessité de mettre en place des stratégies nationales de prévention et de lutte contre la grippe dans leurs pays respectifs (Afrique du Sud, Madagascar, Sénégal). La mise en œuvre de ces stratégies requiert des systèmes de surveillance de la grippe épidémiologiques et virologiques fonctionnant bien.

1.3 But du protocole

Le présent protocole a pour but de fournir des directives au personnel de santé des Etats Membres en ce qui concerne la mise en place d’une surveillance sentinelle de la grippe.

2. Justification de la surveillance sentinelle

On estime que la grippe se traduit chaque année par 5 millions de cas d’affection sévère et par 250 000 à 500 000 décès de par le monde. L’accroissement de la mortalité au cours des épidémies de grippe est causé par la pneumonie ainsi que la grippe et, également, par des maladies cardiopulmonaires et d’autres maladies chroniques (par exemple, le diabète) qui peuvent être exacerbées par la grippe. Les données concernant la charge et l’impact de la grippe dans les régions tropicales et subtropicales sont limitées. Toutefois, il est de plus en plus avéré qu’il se peut que la charge de la grippe puisse être importante et, probablement, comparable à l’impact de la maladie sur la santé dans les pays développés. Actuellement, on ne dispose dans la Région africaine, d’aucune donnée permettant d’évaluer la charge de la maladie, y compris sa gravité, sa mortalité et son impact économique.

Seuls quelques pays de la Région africaine ont mis en œuvre une surveillance de la grippe. Les centres nationaux de la grippe n’ont fonctionné de manière continue que dans quelques pays (Afrique du Sud, Madagascar, Sénégal). De nombreux centres nationaux de la grippe, notamment ceux de République centrafricaine, de Côte d’Ivoire et du Kenya, ont connu des difficultés pour obtenir des réactifs et s’assurer un financement pour maintenir la surveillance de la grippe et les tests. L’absence relative de données virologiques associée à une information insuffisante en ce qui concerne l’ampleur de la charge de morbidité de la maladie a limité la capacité de la Région de planifier et de mettre en œuvre des stratégies de réduction de la morbidité et de la mortalité associées à la grippe.

Dans le cadre du renforcement des capacités des systèmes nationaux de surveillance pour détecter la grippe A (H5N1), le Bureau régional a mis au point et diffusé des procédures d’action normalisées pour renforcer la surveillance de la grippe dans le contexte de la stratégie de la Surveillance intégrée des maladies et de la Réponse (SIMR). De nombreux pays de la Région ont mis en place une surveillance épidémiologique pour le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) dans le cadre de la stratégie SIMR. La mise en place d’une surveillance de la grippe dans les pays ayant accès à des services de contrôle du virus de la grippe renforcerait la mise en œuvre de la surveillance du SRAS en combinant la surveillance épidémiologique et virologique.

Dans ce contexte, le Bureau régional coopérera avec des partenaires pour appuyer la mise en place et le fonctionnement de la surveillance sentinelle de la grippe dans les pays ayant accès à des services de contrôle du virus de la grippe. Les laboratoires seront organisés pour former un

réseau régional de Centres nationaux de lutte contre la grippe. La participation des Etats Membres au réseau régional proposé de laboratoires pour la grippe renforcera la compréhension de l'épidémiologie et de l'impact de la grippe dans la Région africaine. Cela facilitera également le dépistage et la déclaration de nouvelles souches de virus grippaux présentant un potentiel pandémique.

3. Réseau régional de laboratoires pour la grippe

Le Réseau régional de laboratoires pour la grippe comprend actuellement les laboratoires nationaux pour la grippe. Ces laboratoires peuvent être membres ou non du Réseau mondial de surveillance de la grippe.

Le Réseau régional de laboratoires pour la grippe a pour objectifs de:

- Renforcer, dans les pays africains, la capacité des laboratoires nationaux de mener des contrôles virologiques pour la grippe et d'autres maladies respiratoires;
- permettre à tous les pays d'avoir accès au contrôle virologique pour la grippe, y compris, l'A/H5N1 et les autres gripes aviaires hautement pathogènes;
- renforcer les composantes des réseaux de laboratoires nationaux, relatives au prélèvement d'échantillons et à leur transport, à l'intérieur des pays et entre les pays;
- jeter les bases de futures études sur l'impact des interventions de prévention et de lutte contre les maladies respiratoires virales.

L'OMS collabore avec des partenaires en vue de coopérer avec les pays pour équiper, former et guider les laboratoires nationaux reconnus par les autorités de santé nationales. Les résultats escomptés comprendront un réseau africain de laboratoires nationaux de référence pour la grippe qui assurera les contrôles pour la grippe, en utilisant des méthodologies et des procédures normalisées, et un système régional de surveillance sentinelle qui fournira les données nécessaires pour caractériser et suivre les tendances sur le plan des maladies et des décès imputables à des syndromes respiratoires aigus sévères. Ces données faciliteront l'établissement des estimations de la charge de morbidité.

4. Surveillance sentinelle nationale de la grippe

La surveillance sentinelle fournit une alternative à la surveillance basée sur la population pour la collecte et l'analyse de l'information relative à chaque patient et un suivi plus limité des tendances de la grippe. La surveillance sentinelle offre la possibilité de fournir des données plus complètes sur certaines des caractéristiques épidémiologiques des syndromes grippaux (SG) et des syndromes respiratoires aigus sévères (SRAS) dans un site particulier de surveillance sentinelle et également de déterminer les proportions de cas de SG et de SRAS qui sont dus à la grippe.

L'un des avantages de l'approche de la surveillance sentinelle est le fait qu'elle requiert moins de ressources en réduisant le nombre de sites recueillant des prélèvements à analyser en laboratoire pour le contrôle de la grippe. L'inconvénient, c'est que, même si les données de surveillance sentinelle peuvent être utiles pour documenter les tendances, il se peut qu'elles ne puissent être généralisées à l'ensemble de la population, si elles ne sont pas basées sur la population, et qu'elles ne puissent être utilisées pour calculer les taux d'incidence de la maladie.

4.1 Objectifs d'un système national de surveillance sentinelle

La surveillance sentinelle a pour objectifs de :

- détecter de nouvelles souches grippales capables de causer une pandémie;

- déterminer l'épidémiologie de la grippe et d'autres maladies respiratoires virales;
- surveiller la résistance antivirale des virus grippaux en circulation;
- caractériser et de suivre les tendances en ce qui concerne les maladies et les décès imputables aux syndromes respiratoires aigus sévères;
- déterminer les proportions de cas confirmés de grippe chez les malades hospitalisés pour le SRAS et ceux atteints de syndromes grippaux en consultation externe ;
- identifier les taux de base initiaux du SRAS dans les populations pour faciliter la détection de flambées d'infections respiratoires sévères.
- collecter des données qui seront utiles pour établir des estimations de la charge de morbidité dans la Région.

4.2 Composantes d'un système national de surveillance sentinelle

Hôpital sentinelle pour la surveillance du SRAS: une surveillance sentinelle pour les maladies et les décès qui satisfont à la définition du cas de syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) est mise en place dans des hôpitaux sentinelles. Le point focal SIMR de l'hôpital pourrait être responsable du suivi du fonctionnement du site de surveillance sentinelle et pourrait être le lien avec les points focaux SIMR provinciaux et de district ainsi qu'avec les unités nationales SIMR ou de surveillance épidémiologique. Les échantillons provenant de patients atteints du SRAS devraient être prélevés, conformément aux procédures nationales, par du personnel médical formé. Il conviendrait de noter que le SRAS est l'une des maladies prioritaires faisant l'objet de prélèvements réguliers par le biais du système de notification hebdomadaire ou mensuelle.

Site sentinelle pour la surveillance des syndromes grippaux: une surveillance sentinelle basée sur un service de consultations externes, pour les maladies qui répondent à la définition des cas de syndromes grippaux (SG) est mise en place dans un ou plusieurs sites de surveillance sentinelle, par exemple, dans le service des consultations externes d'un hôpital. Le suivi de la surveillance pourrait être coordonné par le personnel de surveillance local existant ou par le point focal SIMR de l'hôpital. Les échantillons provenant de patients atteints de syndromes grippaux devraient être prélevés, conformément aux procédures nationales, par du personnel médical formé.

Laboratoire national pour la grippe: le laboratoire de référence national ayant la capacité de procéder au contrôle de la grippe procèdera aux analyses pour la grippe. La surveillance de la grippe requiert également un système efficace de prélèvement, de conditionnement et de transport des échantillons à analyser. Les pays qui n'ont pas de laboratoire de référence national pour la grippe, mais intéressés par la mise en place d'une surveillance sentinelle pourrait envisager de collaborer avec le laboratoire de référence national pour la grippe d'un pays voisin.

Structure de surveillance nationale: l'unité ou la structure nationale de surveillance est responsable de la coordination et du suivi de la collecte des données, de la notification, de l'analyse et du retour de l'information.

4.3 Méthodes and procédures

4.3.1 Mise en place

Une surveillance aussi bien des syndromes grippaux que du SRAS sera, de préférence, mise en oeuvre dans les pays. Toutefois, si les ressources et les capacités techniques d'un pays ne peuvent supporter les deux composantes, la surveillance des syndromes grippaux sera recommandée comme minimum afin de déterminer l'épidémiologie de la grippe et de caractériser les souches

de virus grippaux² en circulation. Une surveillance des syndromes grippaux et du SRAS pourrait être mise en œuvre simultanément dans un hôpital général qui comprend un centre ambulatoire de soins primaires. Il est prévu d'étendre la surveillance à d'autres sites lorsqu'on disposera de davantage de ressources et d'expérience.

Les activités de surveillance devraient être maintenues tout au long de l'année.

4.3.2 Sélection des sites sentinelle

La sélection des sites sentinelle devra être laissée à l'appréciation de chaque pays et dépendra de multiples facteurs, bon nombre d'entre eux étant spécifiques à un certain pays ou à une situation géographique donnée. Le site sentinelle devrait être, si possible, sélectionné à partir d'un endroit où il est possible d'estimer la taille de la population desservie et où cette population est représentative de groupes présentant un intérêt national, tel que la représentation urbaine, rurale ou nationale. Le site sentinelle devrait avoir la capacité et le personnel permettant d'évaluer les patients pour le SRAS et les syndromes grippaux et de faire des prélèvements sur les patients, de conditionner les échantillons et de les transporter.

Un bon site de surveillance sentinelle des syndromes grippaux et du SRAS pourrait être un hôpital général établi qui dispense des soins aussi bien à des adultes qu'à des enfants et qui comprend un centre de soins primaires en consultation externe. Un bon site de surveillance sentinelle des syndromes grippaux pourrait être un service qui dispense des soins à une vaste gamme de patients et qui est relié à l'hôpital sentinelle où la surveillance du SRAS est mise en œuvre. Cependant, il peut y avoir des cas où un site souhaitable pour la surveillance des syndromes est éloigné d'un hôpital. Ces sites peuvent toujours être envisagés pour la surveillance des syndromes grippaux à condition que les activités de surveillance puissent être coordonnées au système de surveillance et que les échantillons cliniques puissent être envoyés régulièrement et rapidement au laboratoire de référence nationale pour la grippe.

Il est recommandé qu'au début, les pays donnent la priorité à la collecte de données relatives à la surveillance de la qualité à partir d'un ou de deux sites, puis l'étendent progressivement à d'autres sites. Un encadrement et une évaluation appropriés devront être assurés, avant d'ajouter de nouveaux sites sentinelle.

4.3.3 Prélèvement d'échantillons

Le nombre de patients devant faire l'objet de prélèvements pour des analyses de laboratoire dépendra de la capacité des établissements de santé de traiter, stocker et d'expédier les prélèvements de même que de la capacité du laboratoire de traiter, stocker et analyser les échantillons. Un examen des registres pourra être nécessaire pour estimer le nombre de patients atteints du SRAS et de syndromes grippaux, examinés par les établissements tout au long de l'année.

Une coordination entre l'unité de surveillance nationale, le laboratoire national de référence pour la grippe et l'hôpital sentinelle ou le service de consultations externes sentinelle est essentielle pour garantir l'utilisation de méthodes impartiales de prélèvement d'échantillons. Le nombre maximum de prélèvements qui pourraient être théoriquement traités chaque semaine par un laboratoire, devrait être en corrélation avec le nombre maximum de patients ayant fait l'objet de prélèvements.

² Parce que les complications sévères déclenchées par l'infection grippale, comme la pneumonie bactérienne, ne peuvent être diagnostiquées qu'après l'élimination de l'infection grippale. Le virus viral est détecté au mieux dans les prélèvements contenant des cellules et des sécrétions infectées, recueillies au cours des 72 premières heures suivant l'apparition des symptômes cliniques.

Une méthode de prélèvement systématique pourrait être employée, pour réduire la partialité de l'échantillonnage. La méthode de prélèvement recommandée serait de contrôler tout nombre n de cas de syndromes grippaux et de SRAS, n étant le nombre de cas de syndromes grippaux et de SRAS vus chaque semaine par l'établissement, divisés par le nombre maximum de prélèvements qu'un laboratoire de surveillance peut traiter chaque semaine. Par exemple, si un hôpital admet chaque semaine 80 patients atteints du SRAS au cours du pic de la saison de la grippe et si le nombre maximum de prélèvements par semaine que le laboratoire peut traiter, est de 20, l'échantillonnage systématique approprié sera un quart (1/4) des cas de SRAS. L'idéal serait que le laboratoire soit en mesure de contrôler la plupart ou la totalité des cas de SRAS.

Il se peut que, dans bien des cas, cette approche systématique ne soit pas réalisable et qu'il soit plus approprié d'en utiliser une autre. D'autres approches comprennent : i) le prélèvement d'échantillons chez des cas de syndromes grippaux et de SRAS choisis au hasard (en utilisant une méthode d'échantillonnage simple au hasard) ou ii) en prélevant chaque jour des échantillons chez les x premiers patients. En outre, le site pourra choisir de prélever des échantillons, le même jour (ou les mêmes jours), chaque semaine plutôt que chaque jour.

De nombreux sites sentinelles peuvent, sur le plan logistique, trouver difficile de prélever des échantillons sur une base quotidienne. On recommande au minimum que les échantillons soient prélevés le même jour (ou les mêmes jours), chaque semaine, lorsque des patients représentatifs de la population locale sont présents (par exemple, centre de soins familial).

4.3.4 Critères de prise en considération

Les patients à contrôler devraient satisfaire aux critères suivants:

- la définition du cas clinique de SRAS ou de syndromes grippaux, lorsqu'il y a lieu;
- le patient est systématiquement choisi pour un contrôle;
- **l'apparition des symptômes intervient dans le délai de 72 heures pour le prélèvement d'échantillons.**

Si un patient est choisi pour un contrôle selon la procédure d'échantillonnage systématique, mais ne satisfait pas aux critères d'échantillonnage, refuse le contrôle ou n'est pas contrôlé pour n'importe quelle autre raison, le patient suivant atteint du SRAS ou de syndromes grippaux devrait être contrôlé.

L'annexe 8 présente les étapes de la surveillance sentinelle.

4.4 Identification des cas

4.4.1 Définitions de cas de syndrome respiratoire aigu sévère, de syndromes grippaux et d'infections humaines par le virus grippal A (H5N1)

Il est important d'utiliser des définitions de cas normalisées pour permettre des comparaisons entre les différents pays de la Région. Il est recommandé que tous les sites participant utilisent les définitions de cas normalisées pour le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS), les syndromes grippaux (SG) et les infections au virus grippal chez l'homme. (voir tableaux 1 et 2).³

³ OMS, Principes directeurs techniques pour la surveillance intégrée des maladies dans la Région africaine, Brazzaville, Organisation mondiale de la Santé, Bureau régional de l'Afrique, 2002.

Tableau 1: Définitions de cas de SRAS et de syndromes grippaux (SG)

Condition	Définitions de cas
<p>SRAS (personnes âgées de moins de 5 ans)</p>	<p>Pneumonie sévère: Tout enfant âgé de 2 mois à 5 ans ayant:</p> <ul style="list-style-type: none"> • de la toux ou des difficultés respiratoires, ET présentant • tout signe* général de danger, OU • tirage costal ou stridor chez l'enfant calme. <p>*Les signes généraux de danger sont: l'incapacité de boire ou de s'alimenter au sein, vomissements où tout est rejeté, convulsions, léthargie ou inconscience.</p> <p>Note: Les nourrissons âgés de moins de 2 mois avec polypnée (RR 60 ou plus à la minute) seront traités pour une infection bactérienne grave.</p>
<p>SRAS (personnes âgées de 5 ans et plus)</p>	<p>Toute personne présentant les manifestations d'une infection aiguë des voies respiratoires inférieures, avec:</p> <ul style="list-style-type: none"> • apparition soudaine de fièvre (> 38 °C) ET • toux ou mal de gorge ET • essoufflement ou difficultés respiratoires avec ou sans observations cliniques ou radiographiques d'une pneumonie. <p>OU</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toute personne décédée d'une affection respiratoire inexplicquée.
<p>Syndromes grippaux (SG)</p>	<p>Personne avec:</p> <ul style="list-style-type: none"> • apparition soudaine de fièvre (> 38 °C) ET • toux ou mal de gorge en l'absence d'autres diagnostics. <p>Un cas confirmé de grippe est un cas qui satisfait à la définition du cas et qui est confirmé par le laboratoire (les résultats des analyses de laboratoire doivent être positifs pour le virus grippal).</p>

Tableau 2: Définitions de cas d'infections au virus grippal (H5N1) chez l'homme

Conditions/Maladie	Définitions de cas
Personne soumise à des examens	Personne que les autorités de santé publique ont décidé d'examiner pour une infection éventuelle à H5N1
Cas de H5N1 suspecté	<p>Personne présentant une affection aiguë des voies respiratoires inférieures, non expliquée, accompagnée de fièvre (> 38 °C) de toux, d'essoufflement ou de difficultés respiratoires</p> <p>ET</p> <p>Une ou plusieurs des expositions suivantes au cours d'une période de 7 jours précédant l'apparition des symptômes :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Etroit contact (dans la limite d'un mètre) avec une personne (par ex., en la soignant, en parlant avec elle ou en la touchant), qui est un cas de H5N1 suspecté, probable ou confirmé; • Exposition (par ex., manipulation, abattage, plumaison, débit et vente au détail en boucherie, préparation pour la consommation) à de la volaille ou à des oiseaux sauvages ou à leurs restes ou encore à des environnements contaminés par leurs excréments dans une zone où des infections à H5N1 chez des animaux ou l'homme ont été suspectées ou confirmées, le mois dernier; • Consommation de produits avicoles crus ou insuffisamment cuits dans une zone où des infections à H5N1 chez des animaux ou l'homme ont été suspectées ou confirmées, le mois dernier; • Etroit contact avec un animal présentant une infection à H5N1 confirmée, autre que de la volaille ou un oiseau sauvage (par ex., chat ou porc); • Manipulation dans un laboratoire ou en d'autres lieux, d'échantillons (animaux ou humains) suspectés de renfermer le virus H5N1.
Cas de H5N1 probable (à notifier à l'OMS)	<p>Définition 1 probable: Personne satisfaisant aux critères relatifs à un cas suspecté</p> <p>ET</p> <p>Un des critères supplémentaires suivants of the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> • infiltrats ou constatation d'une pneumonie aiguë à la radiographie thoracique plus constatation d'une insuffisance respiratoire (hypoxémie, tachypnée sévère) <p>OU</p> <ul style="list-style-type: none"> • confirmation positive d'une infection grippale A par le laboratoire, mais infection à H5N1 insuffisamment démontrée par le laboratoire. <p>Définition 2 probable: Personne décédant d'une affection respiratoire aiguë non expliquée, qui est considérée liée épidémiologiquement, par la date, le lieu et l'exposition, à un cas de H5N1 probable ou confirmé.</p>
Cas de H5N1 confirmé (à notifier à l'OMS)	<p>Personne satisfaisant aux critères relatifs à un cas suspecté ou probable</p> <p>ET</p> <p>Un des résultats positifs suivants obtenus dans un laboratoire national, régional ou international pour la grippe, dont les résultats des tests pour le H5N1 sont acceptés par l'OMS comme confirmatifs:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Isolement d'un virus H5N1; • Résultats positifs H5 PCR de tests utilisant deux cibles PCR différentes, par ex., amorces spécifiques à la grippe A et H5 HA; • Une augmentation quadruple ou supérieure du titre d'anticorps de neutralisation pour le H5N1, sur la base du contrôle d'un échantillon de sérum en phase aiguë (recueilli 7 jours ou moins après l'apparition des symptômes) et d'un échantillon de sérum en phase de convalescence: le titre d'anticorps de neutralisation de l'échantillon en phase de convalescence doit être également de 1:80 ou plus; • Un titre d'anticorps de microneutralisation de 1:80 ou plus pour le H5N1 dans un seul échantillon de sérum prélevé le jour 14 ou plus tard après l'apparition des symptômes et un résultat positif en utilisant un dosage sérologique différent, par exemple, un titrage de l'inhibition de l'hémagglutination de globules rouges de cheval, de 1 :160 ou plus ou un résultat positif d'un transfert de type Western spécifique au H5.

Remarque: Si un seul cas de grippe humaine A (H5N1) est détecté, les mesures suivantes⁴ devraient être mises en œuvre immédiatement:

- Signaler immédiatement l'information basée sur le cas aux niveaux appropriés;
- Prendre immédiatement les précautions de lutte contre les infections pour une affection respiratoire aiguë ayant un potentiel épidémique/pandémique (par ex., précautions normalisées plus précautions contre le contact plus les gouttelettes) et renforcer les précautions normalisées dans l'ensemble de l'établissement de soins de santé;
- Traiter et prendre en charge le patient conformément aux principes directeurs nationaux;
- Prélever des échantillons auprès de patients/cas et de contacts symptomatiques et organiser un contrôle en laboratoire;
- Examiner l'historique clinique et celle de l'exposition durant les 7 jours qui ont précédé l'apparition de la maladie;
- Recenser et faire le suivi des contacts étroits des patients/cas;
- Mener des recherches actives pour des cas supplémentaires.

4.4.2 Prélèvement des échantillons

Il est recommandé que les échantillons cliniques soient prélevés aussitôt que possible pour les cas qui satisfont aux critères d'échantillonnage définis dans le présent protocole. Le prélèvement d'échantillons pour les cas de SRAS hospitalisés peut intervenir lorsque les patients sont évalués à l'admission aux urgences ou après leur admission en salle d'hôpital. Il conviendrait de prélever des échantillons cliniques auprès des cas en consultation externe qui satisfont aux critères d'échantillonnage lorsqu'il se trouvent dans le site sentinelle.

Les échantillons provenant de cas de SRAS ou de syndromes grippaux (SG) devraient être prélevés, conformément aux procédures établies dans chaque pays, par un personnel médical formé (voir annexe 1):

- Les écouvillons pour le prélèvement de sécrétions nasales (dans la région du cornet antérieur) ou le prélèvement rhino-pharyngien par aspiration ou par écouvillon convient à la détection de la grippe humaine A et B.
- Les prélèvements effectués dans la région postérieure du pharynx (gorge) par écouvillon sont actuellement les échantillons prélevés dans les voies respiratoires supérieures offrant le rendement le plus élevé pour la détection de la grippe A (H5N1) (contrairement à la grippe saisonnière).⁴
- Des prélèvements rhino-pharyngiens par écouvillon peuvent être recueillis, s'il y a lieu.

4.4.3 Traitement des échantillons à analyser par le laboratoire sur le site sentinelle

Les échantillons devraient être conservés à basse température (4 °C) dans un milieu de transport viral approprié et être envoyés aussitôt que possible au laboratoire avec le formulaire de collecte des données et d'investigation. Les milieux de transport commerciaux ou les milieux mis au point dans le laboratoire peuvent être utilisés conformément aux principes directeurs de l'OMS (voir annexe 2).

⁴ OMS, Prélèvement, préservation, et expédition d'échantillons pour le diagnostic de l'infection par le virus de la grippe aviaire A (H5N1). Guide pour les opérations sur le terrain (WHO/CDS/EPR/ARO/2006), Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2006.

4.4.4 Transport des échantillons depuis le terrain jusqu'au laboratoire

Il est important de conserver convenablement les échantillons dans un milieu de transport viral (VTM) avant de les envoyer au laboratoire. Si les échantillons sont transportés sous 48 heures, ils peuvent être conservés à une température de 4 °C, aussi bien avant que pendant le transport. Si les échantillons ne peuvent être livrés au laboratoire dans un délai de 2 jours, stockez les à une température de -70 °C ou conservez les sur de la glace ou dans un réfrigérateur, aussi longtemps que nécessaire. Ne pas congeler des échantillons, s'ils se décongèlent et se recongèlent, étant donné que cela détruira le virus. Les échantillons ne devraient pas être conservés dans un freezer classique en raison des cycles de congélation-décongélation. Il vaut mieux conserver un échantillon sur de la glace, même pendant une semaine que de le laisser se congeler et décongeler à multiples reprises.

Trois couches d'emballage devraient être utilisées pour conditionner les échantillons pour leur transport depuis le terrain jusqu'au laboratoire, afin de les protéger de tout dommage pendant le transport. La première couche d'emballage devrait être étanche et toutes les couches devraient être absorbantes en cas de fuite (voir annexe 3).

4.4.5 Analyses de laboratoire

Le laboratoire national de référence devrait procéder à la caractérisation antigénique préliminaire, et, si possible, génétique, des isolats de virus cultivés dans l'établissement. Le laboratoire national de référence devrait faire parvenir à un centre collaborateur de l'OMS les isolats viraux représentatifs et les virus réagissant faiblement. Le laboratoire national de référence est également tenu de faire parvenir immédiatement à un laboratoire H5 de l'OMS ou à un centre collaborateur de l'OMS, les échantillons de cas suspectés de H5N1 et les isolats de virus grippaux qui ne peuvent être facilement identifiés (en utilisant les réactifs fournis par l'intermédiaire du réseau de l'OMS).

Le laboratoire enregistrera la fréquence et le pourcentage de virus positifs par type et par souche. Les résultats seront transmis au site sentinelle qui a soumis l'échantillon et aux unités SIMR, en utilisant le formulaire pour la communication des résultats d'examen virologique d'échantillons à analyser pour la grippe (annexe 4).

4.5 Collecte des données

4.5.1 Surveillance du syndrome respiratoire aigu sévère dans les hôpitaux sentinelle

Les hôpitaux sentinelle collecteront les données épidémiologiques sur une base quotidienne en utilisant le formulaire pour les cas de SRAS/SG (annexe 5) ou un formulaire de listage ligne par ligne (annexe 6).

Les échantillons cliniques prélevés seront emballés et envoyés pour analyse au centre national de lutte contre la grippe ou au laboratoire national de référence. Les copies du formulaire SRAS/SG et le formulaire de listage ligne par ligne devraient être envoyés au laboratoire avec les échantillons prélevés sur les patients.

Des données résumées concernant tous les cas de SRAS et les décès liés à ce syndrome pourraient être également rassemblées sur le formulaire de collecte des données mensuelles (annexe 7).

4.5.2 Surveillance des syndromes grippaux dans les sites sentinelle

Les procédures pour la surveillance des SG sont similaires à celles appliquées pour la surveillance du SRAS. Cependant, l'âge du patient et la date de la consultation ainsi que des données épidémiologiques et cliniques ne doivent être enregistrés que pour le sous-groupe de cas sélectionnés pour l'analyse en laboratoire d'échantillons cliniques, en utilisant le formulaire pour les cas de SRAS/SG (annexe 5) ou un formulaire de listage ligne par ligne (annexe 6). Des données résumées concernant tous les cas de SG pourraient être collectées sur le formulaire de rapport mensuel SIMR (annexe 7B).

Les échantillons cliniques seront prélevés, conditionnés et envoyés pour analyse au laboratoire national de référence pour la grippe. Des copies du formulaire SRAS/SG ou le formulaire de listage ligne par ligne devrait être envoyé au laboratoire avec l'échantillon du patient.

4.6 Communication des données

Les résultats des analyses du laboratoire devraient être communiqués aussi rapidement que possible au site sentinelle initiateur et au service local de surveillance.

Les formulaires pour les cas SRAS/SG et les formulaires de données mensuelles devraient être envoyés sur une base mensuelle aux services locaux et nationaux de surveillance pour synthèse.

Les services locaux et nationaux de surveillance analyseront et partageront les données épidémiologiques et de laboratoire avec l'unité nationale de surveillance épidémiologique ou SIMR et avec les sites de surveillance sentinelle.

4.7 Analyse des données

L'analyse des données décrira la répartition des cas dans le temps par catégorie d'âge et par résultats. Les proportions devraient être indiquées par un numérateur et un dénominateur.

4.7.1 Analyses des données hebdomadaires de surveillance du SRAS

Les paramètres suivants pourraient être utilisés pour l'analyse des données de surveillance locale:

- Proportion de cas de SRAS par nombre total d'hospitalisations;
- Proportion de cas de SRAS par nombre total d'hospitalisations par catégorie d'âge (< 5 ans, ≥ 5 ans);
- Proportion de cas de SRAS testés positifs pour la grippe et d'autres virus respiratoires par nombre total de cas testés;
- Proportion de décès parmi les cas de SRAS par nombre total d'hospitalisations;
- Proportion de décès parmi les cas de SRAS par nombre total de décès à l'hôpital.

4.7.2 Analyses des données hebdomadaires de surveillance des SG

Les paramètres suivants pourraient être utilisés pour l'analyse des données locales:

- Proportion de cas de SG par nombre total de consultations;

- Proportion de cas de SG par nombre total d'hospitalisations par catégorie d'âge (< 5 ans, ≥ 5 ans);
- Proportion de cas de SG, testés positifs pour la grippe et d'autres virus respiratoires par nombre total de cas de SG.

4.8 Retour de l'information

Le retour de l'information est une composante essentielle de tout système de surveillance. En assurant le retour de l'information vers tous les participants au système de surveillance (par ex., les cliniciens, les sites sentinelles, les laboratoires, les ministères de la santé, l'OMS), chaque participant aura une meilleure compréhension de l'utilité des données. L'information en retour pourra comprendre des résultats d'analyses (par ex., tendances en ce qui concerne les cas de SARS et de SG) et d'autres renseignements. Il est recommandé que les rapports mensuels soient envoyés à tous les intéressés.

4.9 Organisation et fonctions

4.9.1 Organisation de la surveillance sentinelle nationale de la grippe

L'organisation, les rôles et les responsabilités de l'unité nationale de surveillance, du laboratoire national de référence pour la grippe, et des sites sentinelles pourraient être examinés et convenus à l'occasion d'une réunion entre toutes les composantes du système de surveillance sentinelle. L'accord pourrait être documenté dans le procès-verbal de la réunion ou dans une déclaration commune d'intention. Les pays intéressés par la mise en place d'un système de surveillance sentinelle, mais ne disposant pas d'un laboratoire national de référence pour la grippe peuvent souhaiter envisager une collaboration avec le laboratoire national pour la grippe d'un pays voisin.

Le système de surveillance pourrait démarrer avec un seul site sentinelle, par ex., dans le principal hôpital de la capitale, fréquenté par des enfants et des adultes (paragraphe 4.3.2). Une fois ce site de surveillance, mis en œuvre et son fonctionnement assuré, il sera possible de l'étendre à d'autres sites, par ex. un hôpital provincial. Cette extension pourrait intervenir dans le cadre de la stratégie de surveillance intégrée des maladies et de la création de réseaux intrapays et interpays de laboratoires de sérologie et de virologie (pour la rougeole, la fièvre jaune, etc.).

4.9.2 Rôles et responsabilités

Sites sentinelle: Le personnel des sites sentinelle sera responsable de la collecte des données épidémiologiques et de laboratoire et de leur transmission aux unités locale et nationale de surveillance intégrée des maladies. En outre, le personnel des sites sentinelle sera responsable du prélèvement d'échantillons sur les patients, de leur traitement et de leur envoi au laboratoire national de référence pour la grippe.

Laboratoire national de référence pour la grippe: Le laboratoire national de référence pour la grippe sera chargé:

- de procéder à l'identification initiale du type et du sous-type de virus à partir des échantillons de laboratoire soumis par les sites sentinelles en fonction de la capacité du laboratoire;
- de faire parvenir à un centre collaborateur de l'OMS les isolats viraux représentatifs et tout virus réagissant faiblement;

- d'alerter le Programme mondial de l'OMS contre la grippe en ce qui concerne tout isolat de virus grippal qui ne peut être facilement identifié, en utilisant les réactifs fournis par l'intermédiaire du réseau de L'OMS;
- de faire parvenir ce type d'isolat à un centre collaborateur de l'OMS;
- d'adresser les échantillons prélevés sur des cas de H5N1 suspectés à un laboratoire H5 de l'OMS;
- de soumettre les résultats des analyses aux sites sentinelle;
- d'introduire les résultats d'analyse dans le réseau FluNet.

Le personnel de laboratoire sera, en outre, responsable de la formation aux mesures de biosécurité, du personnel hospitalier et autre, concerné par la manipulation d'échantillons.

Ministère de la santé: l'unité nationale en charge de la surveillance intégrée des maladies sera chargée d'analyser les données et d'assurer le retour de l'information à l'intention du personnel des sites sentinelle et d'autres intéressés.

Organisation mondiale de la Santé: le Bureau régional fournira l'assistance technique en collaboration avec les bureaux de pays et le Programme mondial de l'OMS contre la grippe et d'autres partenaires pour assurer le fonctionnement du réseau.

Le Bureau régional de l'OMS sera, en outre, chargé d'assurer la coordination, sur une base annuelle, de la fourniture de trousse de diagnostic contenant des sérums polyclonaux, des anticorps monoclonaux et des antigènes viraux pour les souches virales pertinentes, aux centres nationaux de lutte contre la grippe, en collaboration avec des partenaires.

Agences partenaires: les agences partenaires appuieront la surveillance sentinelle de la manière décrite dans la déclaration spécifique d'intention qui lie l'OMS et ses Etats Membres.

4.9.3 Ressources

Il y aurait lieu de considérer les ressources nécessaires pour le fonctionnement des sites sentinelles, y compris la formation, l'évaluation et l'encadrement. Le personnel de soins de santé devrait avoir une formation en ce qui concerne l'utilisation des formulaires de définition de cas et la collecte des données ainsi que le prélèvement d'échantillons et leur transport.

Le laboratoire national de référence pour la grippe devrait collaborer avec les ministères de la santé, l'OMS, les CDC et les autres partenaires en ce qui concerne les ressources nécessaires pour appuyer le prélèvement d'échantillons, leur transport et leur analyse en laboratoire (par ex., réactifs, fournitures pour le prélèvement d'échantillons, transport des échantillons).

Des ressources pourront être nécessaires pour financer les frais de transport des échantillons.

4.10 Suivi et évaluation

Des indicateurs de performance sont nécessaires pour mesurer la qualité de la surveillance sentinelle de la grippe. Un certain nombre d'indicateurs relatifs au mode opératoire et aux résultats ont été établis, pour évaluer l'efficacité et la réussite du système. Les exemples d'indicateurs comprennent le temps moyen écoulé entre le

prélèvement des échantillons et leur conservation appropriée ainsi que le nombre d'isolats viraux soumis aux centres collaborateurs de l'OMS.

Des contrôles de la surveillance locale sont, en outre, recommandés, au moins une fois par an, pour veiller à la qualité des données, à l'adhésion au protocole et à la normalisation dans le temps.

Le Bureau régional accueillera des réunions régionales annuelles pour examiner la surveillance sentinelle de la grippe dans la Région.

Annexe 1

Techniques de prélèvement d'échantillons dans les voies respiratoires

Les précautions courantes devraient être toujours prises et des protections par barrière appliquées lors du prélèvement d'échantillons.

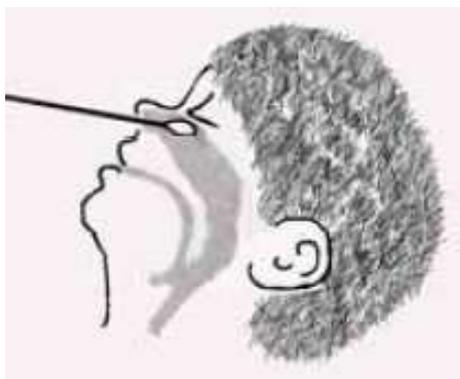
Les prélèvements de sécrétions nasales par écouvillon nasal (dans la région du cornet antérieur) ou les prélèvements rhino-pharyngiens par aspiration ou par écouvillon sont appropriés pour détecter les gripes A et B chez l'homme.

Les prélèvements pratiqués par écouvillonnage dans la partie postérieure du pharynx (gorge) sont actuellement les échantillons provenant des voies respiratoires, qui offrent le rendement le plus élevé pour la détection du virus A (H5N1) (contrairement à la grippe humaine).* Des prélèvements rhino-pharyngiens par écouvillon peuvent être pratiqués, s'il y a lieu.

Les écouvillons utilisés pour le test RT-PCR doivent être en dacron ou en rayonne. NE PAS utiliser de écouvillons en ouate ou à l'alginate de calcium, ni des écouvillons munis d'un bâtonnet en bois, étant donné que celui-ci peut comporter des substances inhibitrices pour le test PCR.

(a) Ecouvillonnage nasal

Introduire un **écouvillon sec en polyester ou en dacron** dans la narine parallèlement au palais. Faire avancer l'extrémité de l'écouvillon au-delà du vestibule (narines antérieures) jusqu'à la muqueuse nasale (environ 2 à 3 cm des narines chez l'adulte) et le faire tourner doucement pour recueillir les sécrétions nasales à partir des parties antérieures du cornet et de la muqueuse septale.



Introduire l'écouvillon dans le tube qui contient le milieu de transport: si un milieu commercial est utilisé, placer l'écouvillon dans le tube de transport et presser sur le fond du tube, afin de libérer le milieu ou exercer une pression sur le rembourrage situé dans le fond.

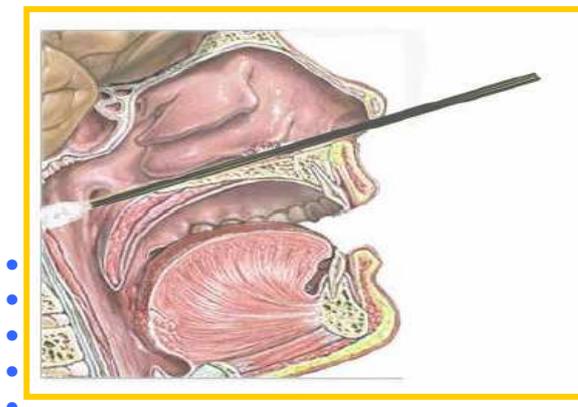
Si un milieu préparé en laboratoire est utilisé, couper la tige de l'écouvillon qui dépasse de sorte que seule la partie qui adhère au tampon reste dans le tube. Fermer le tube avec le couvercle. Les échantillons devraient être toujours maintenus humides pendant l'expédition.

(b) Ecouvillonnage rhino-pharyngien

Introduire un écouvillon sec en rayonne ou en polyester dans la narine et l'amener jusqu'au rhino-pharynx. L'écouvillon devrait être glissé en ligne droite dans la narine avec la tête du patient

* OMS, Prélèvement, préservation et transport d'échantillons pour le diagnostic de l'infection par le virus de la grippe aviaire A (H5N1). Guide pour les opérations sur le terrain (WHO/CDS/EPR/AFRO/2006), Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2006.

maintenue légèrement inclinée vers l'arrière. L'écouvillon est introduit en suivant la base des narines en direction de la trompe d'Eustache et devra être inséré sur 5 à 6 cm au moins chez l'adulte de façon qu'il atteigne le pharynx postérieur. NE PAS utiliser d'écouvillon à tige rigide pour cette méthode de prélèvement – un écouvillon à tige souple est essentiel.

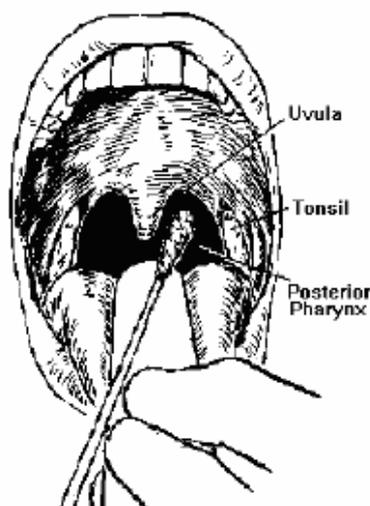


- Laisser en place l'écouvillon pendant quelques secondes
- Retirer lentement l'écouvillon en le faisant tourner légèrement
- Mettre l'extrémité de l'écouvillon dans un flacon contenant un milieu de transport viral, en cassant la tige de l'applicateur
- Un second écouvillon devrait être utilisé pour l'autre narine et être placé dans un second tube. Celui-ci pourra servir de second échantillon prélevé sur le patient.

Remarque: L'écouvillonnage rhino-pharyngien est un procédé invasif qui peut être très douloureux pour le patient.

(c) Ecouvillonnage du pharynx postérieur (gorge)

- Maintenir la langue abaissée avec un abaisse-langue.
- Balayer avec l'écouvillon la paroi du pharynx postérieur et les piliers amygdaliens. Dire au patient de faire "aahh" pour relever la luette. Eviter de balayer le voile du palais et de toucher la langue avec l'écouvillon. (**Remarque:** cette procédure peut déclencher le réflexe nauséux).



- Placer le prélèvement dans un milieu de transport viral.

Annexe 2

Milieux de transport viral

Un milieu de transport viral, en abrégé MTV, est utilisé lors du prélèvement d'échantillons à des fins d'isolation et de contrôle de virus. Le MTV empêche les échantillons de se dessécher de même que le développement de bactéries et de champignons.

Le MTV peut être préparé en laboratoire ou acheté dans le commerce. Il existe plusieurs types différents de milieux de transport viral. Le choix du MTV devrait être fonction de la question de savoir s'il s'agit de prélèvements sur des animaux ou chez l'homme et de la nature du contrôle à pratiquer sur l'échantillon. Il existe un MTV pour les échantillons prélevés sur des animaux, un MTV pour l'isolement viral à partir d'échantillons prélevés chez l'homme et un MTV pour le contrôle moléculaire. Chacun d'entre eux a une formulation légèrement différente et il est important de NE PAS utiliser des milieux à base de phosphate, lorsqu'un MTV est utilisé pour un contrôle moléculaire. Si l'on ne dispose pas de MTV, on pourra utiliser de l'éthanol à 100 % pour le contrôle moléculaire.

Il est important de conserver correctement les MTV. Si le MTV est préparé au laboratoire, placer 2 à 3 millilitres de MTV dans des flacons de prélèvement stériles. Les flacons pourront être conservés au congélateur à -20 °C jusqu'à leur utilisation. Les flacons peuvent être conservés durant de courtes périodes à une température de 4 à 6 °C.

Gardez la trace de la date à laquelle le MTV a été préparé et n'utilisez pas les flacons, si le liquide devient trouble, étant donné que cela est un signe de contamination.

Pour les prélèvements placés en MTV:

- les transporter au laboratoire aussitôt que possible.
- les conserver à 4 °C avant et pendant le transport sous 48 heures.
- les conserver à -70 °C au-delà de 48 heures.
- ne pas les conserver dans un freezer classique – les garder sur de la glace ou dans un réfrigérateur.
- éviter les cycles de congélation et de décongélation. Il est préférable de conserver les échantillons sur de la glace plutôt que d'avoir des congélations et des décongelations répétées.

Annexe 3

Conditionnement et transport des échantillons

Expédiez aussitôt que possible au laboratoire les échantillons placés dans un milieu de transport viral (MTV). Il est important de les conserver convenablement avant leur expédition à un laboratoire. Le tableau 1 indique les différentes conditions de conservation et d'expédition qui peuvent être appliquées et les méthodes recommandées (basées sur la probabilité d'obtenir un résultat positif pour le virus A/H5N1 lors de l'analyse au laboratoire).

Tableau 1: Pertinence des diverses conditions de conservation et d'expédition pour différents types d'échantillons

Conditions de conservation et d'expédition	Ecouvillons ou autres échantillons en MTV pour isolement de virus	Ecouvillons ou autres échantillons en MTV pour test PCR	Ecouvillons dans de l'éthanol pour test PCR*	Sérum sanguin pour isolement de virus	Sérum sanguin pour test PCR	Sérum sanguin pour anticorps
-70 °C ou neige carbonique ou azote liquide	FR	FR	N/A	FR	FR	FR
-20 °C	NR	A	N/A	NR	A	FR
+4 °C	A**	A	A	A	A***	A
Température ambiante	NR	A	A	NR	A**	A**
Tache de sang séché sur papier filtre	N/A	N/A	N/A	N/A	A	A

FR = Méthode fortement recommandée

A = Méthode adéquate

NR = Non recommandé

N/A = Non applicable

* Lorsqu'on ne dispose pas de réfrigération

** Conservation jusqu'à 7 jours

*** Conservation jusqu'à 4 jours

Si les échantillons sont transportés sous 48 heures, conservez-les à 4 °C aussi bien avant *que* pendant le transport.

Si les échantillons ne peuvent être amenés au laboratoire en 2 jours, conservez-les à -70 °C. Si cela ne peut être fait, conservez les échantillons sur de la glace ou dans un réfrigérateur aussi longtemps que nécessaire.

NE mettez PAS les échantillons dans un freezer classique, étant donné que cela les endommagera.

Il est également très important d'éviter les cycles de congélation-décongélation. Ne congelez pas des échantillons, s'ils décongèleront et seront recongelés, étant donné que cela détruira le virus. Il est préférable de conserver un échantillon sur de la glace plutôt que de le congeler et le décongeler à multiples reprises.

Lorsque les échantillons sont prêts à être conditionnés pour le transport depuis le terrain jusqu'au laboratoire, il est nécessaire d'utiliser trois couches d'emballage.

Conditionnement primaire: le conditionnement primaire qui contient l'échantillon, doit être étanche. Exemple: Vacutainer avec ruban adhésif autour du bouchon à vis. Utilisez des tubes à essais coniques ou des tubes cryogéniques Cryovial. N'utilisez pas de tubes Eppendorf avec ruban adhésif ou parafilm autour du bouchon.

Conditionnement secondaire: le conditionnement secondaire peut contenir plusieurs conditionnements primaires. Le conditionnement secondaire doit être également étanche. Exemples de conditionnements secondaires: sacs en matière plastique à fermeture à glissière, tubes à essais coniques de 50 ml et récipients à bouchon à vis. Un **matériau absorbant** doit être placé entre le

conditionnement primaire et le conditionnement secondaire. Celui-ci devra être en quantité suffisante pour absorber tout le liquide contenu dans l'envoi. Exemples de matériaux absorbants: serviettes en papier, boules de coton, papier filtre, etc..

Si de la neige carbonique est nécessaire pour maintenir congelés les échantillons, elle devrait être placée entre le conditionnement secondaire et le conditionnement tertiaire. Le polystyrène expansé et le carton permettent tous deux l'évaporation de la neige carbonique, si bien que la neige carbonique ne doit être placée qu'à l'EXTERIEUR du conditionnement secondaire. Mettre de la neige carbonique à l'intérieur de conteneurs imperméables, à bouchon à vis peut provoquer l'explosion de l'envoi.

Conteneur d'expédition extérieur: le conditionnement tertiaire (extérieur) doit protéger le conditionnement intérieur pour éviter la casse ou la perforation dans des conditions normales de transport. Le carton ondulé est le choix habituel. N'oubliez pas que les boîtes en polystyrène expansé, les sacs en matière plastique ou les enveloppes en papier sont des conteneurs extérieurs inacceptables pour l'expédition de produits biologiques.

Tout comme il est important de conserver au froid les échantillons durant leur conservation, il est important de les maintenir réfrigérés pendant le *transport*. Efforcez-vous de conserver les échantillons à une température de 4 °C. Une glacière remplie de packs de glace peut être utilisée à cette fin, mais n'utilisez pas de neige carbonique à moins que les échantillons ne soient conditionnés dans des sachets doubles et étanches à l'air, le dioxyde de carbone se dégageant de la neige carbonique pouvant inactiver le virus.

Veillez à coordonner l'expédition avec le laboratoire. Inclure dans tous les envois une liste détaillée de tous les échantillons avec leur numéro d'identification et des instructions pour le laboratoire.