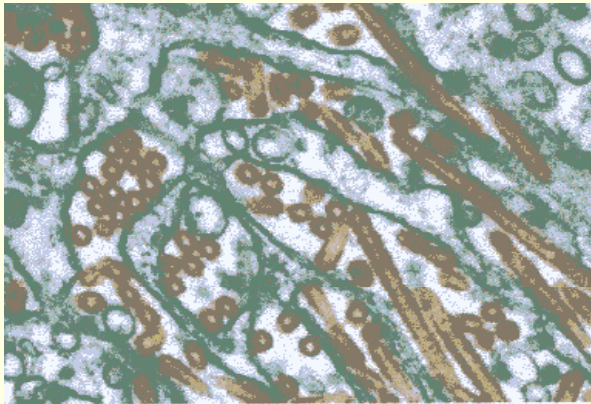


# Diagnostic biologique de la grippe humaine en Tunisie



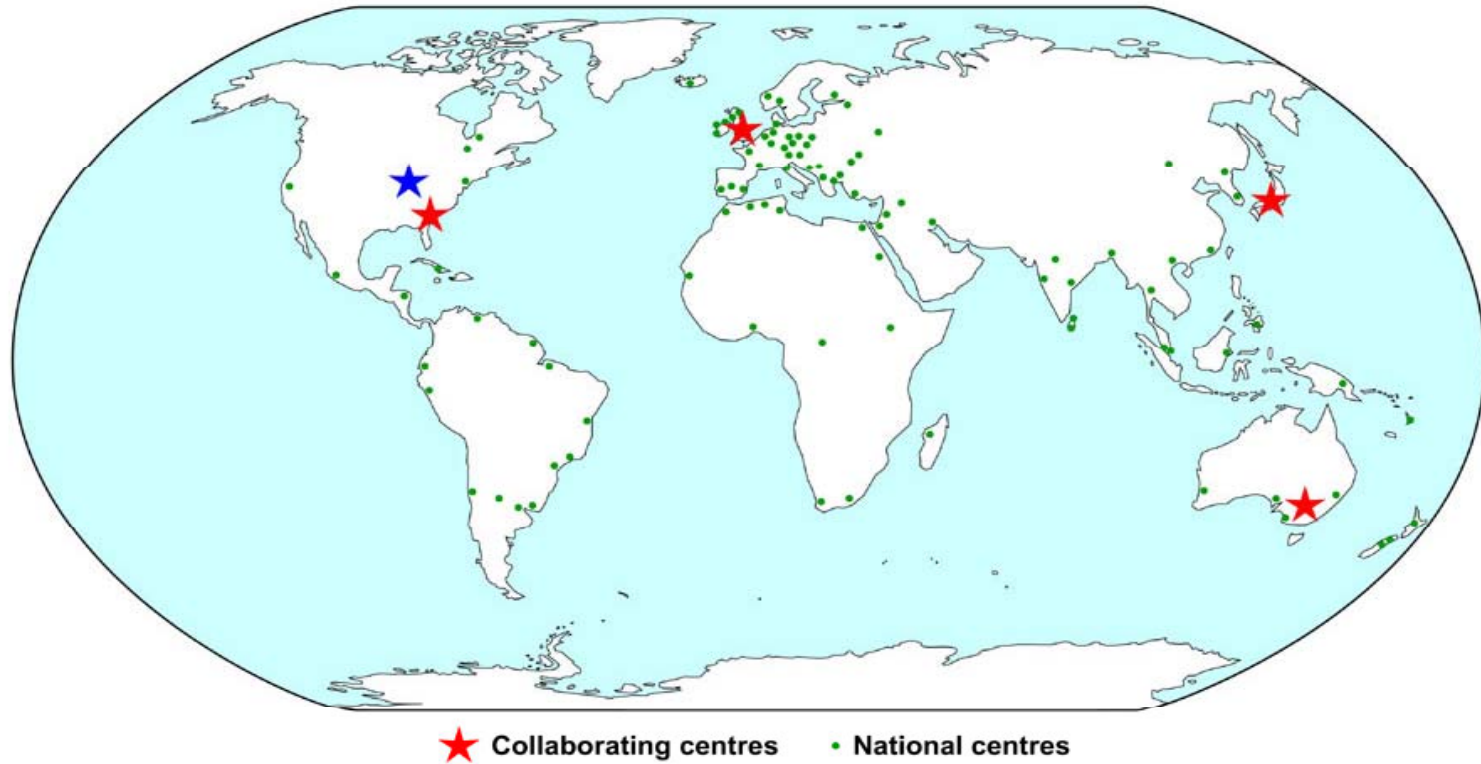
A. SLIM

Monastir, DSSB

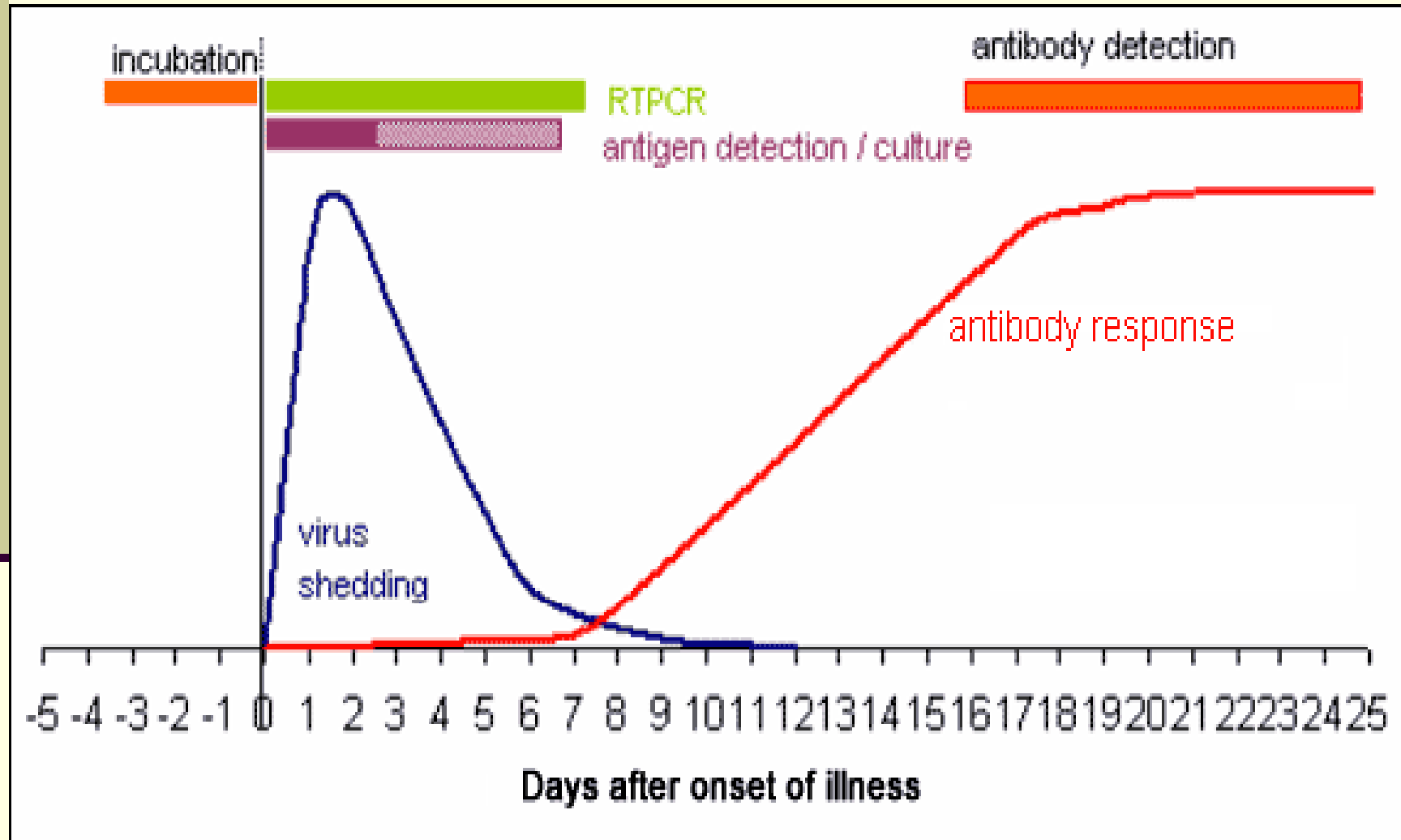
13/03/2008

# Réseau mondial de surveillance OMS

## WHO Influenza Surveillance Network



# Cinétique d'évolution de la Grippe: Biologie



# Quels tests utiliser pour le diagnostic?

---

- Techniques classiques: (en % de positivité) \*
  - Cultures: 56%
  - Sérologie: 61%
- Tests rapides:
  - Sur membrane: 50-65%
  - Immunofluorescence: 60-70 %
  - RT-PCR: 73%

\* Zambon et coll, 2003: 1033 patients , période épidémique annuelle

# Diagnostic classique: OPE

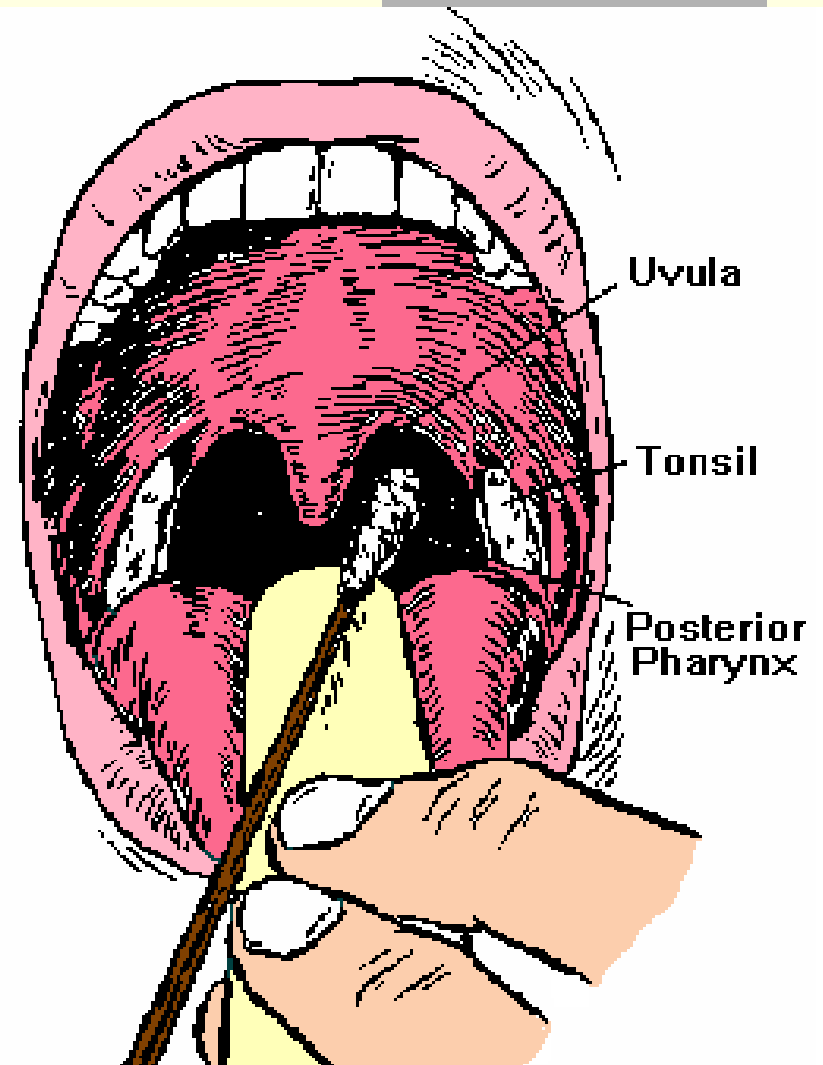




# Techniques de prélèvements



# Prélèvement pharyngé: technique



# Salle congélateurs (-20°C, -80°C)

---





# Diagnostic d'une Grippe « aviaire » chez l'homme

---

- Rapidité +++
  - IF directe ou test rapide: confirme grippe A
  - Ac Monoclonaux: élimine A/H1 et A/H3
- 
- RT-PCR « maison »: possible mais contrôle positif nécessaire
  - RT-PCR standardisée: Hong-Kong, Singapour
  - RT-PCR temps réel: Applied Biosystem → validée fin décembre 2005 CDC, confirmation des cas en Turquie et Egypte (2006)
  - Institution d'un contrôle de qualité international par l'OMS en 2007 (février/août): passé avec succès



Influenza A

Influenza A

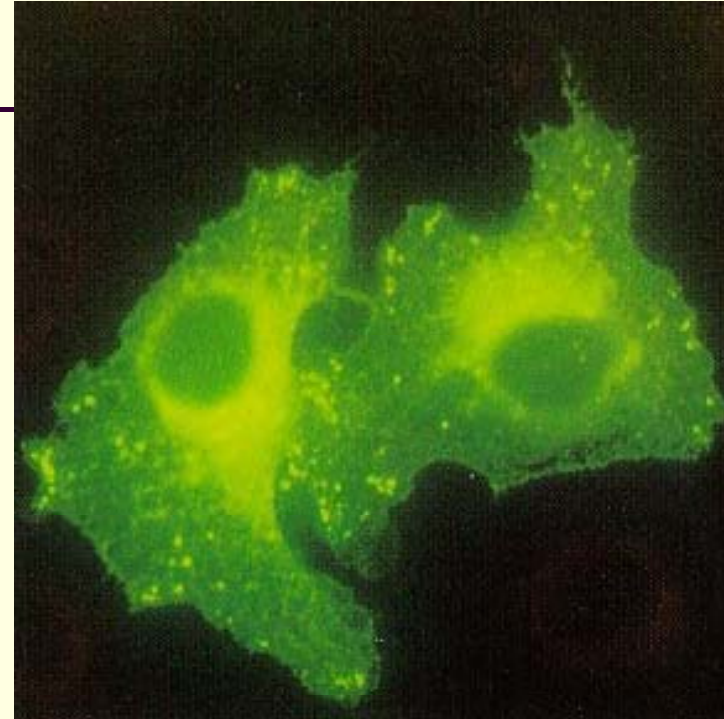
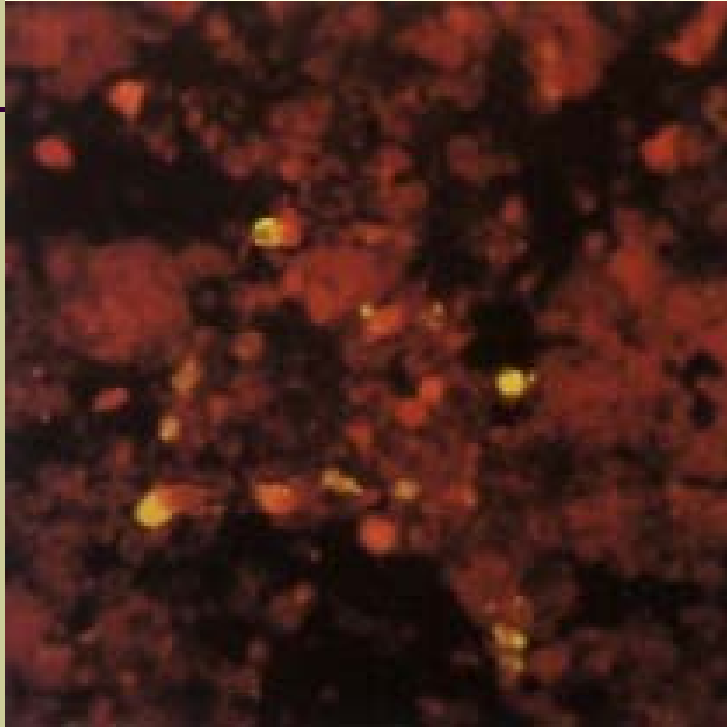
Influenza A

Influenza A

# Immunofluorescence directe

---





***Détection du Virus Influenza A et B par immunofluorescence  
sur sécrétions nasales***



# Culture Cellulaire / Extraction des ARN

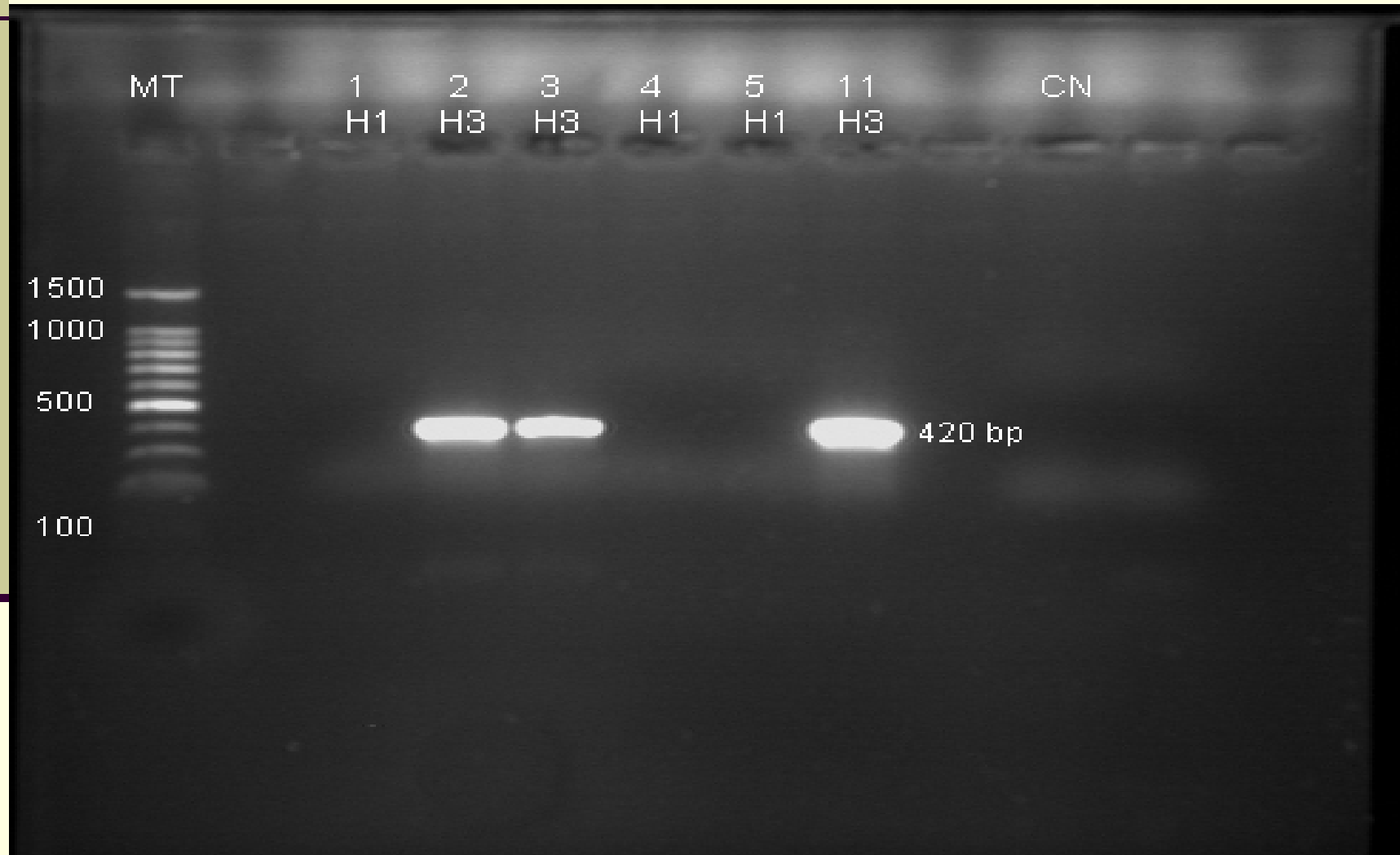




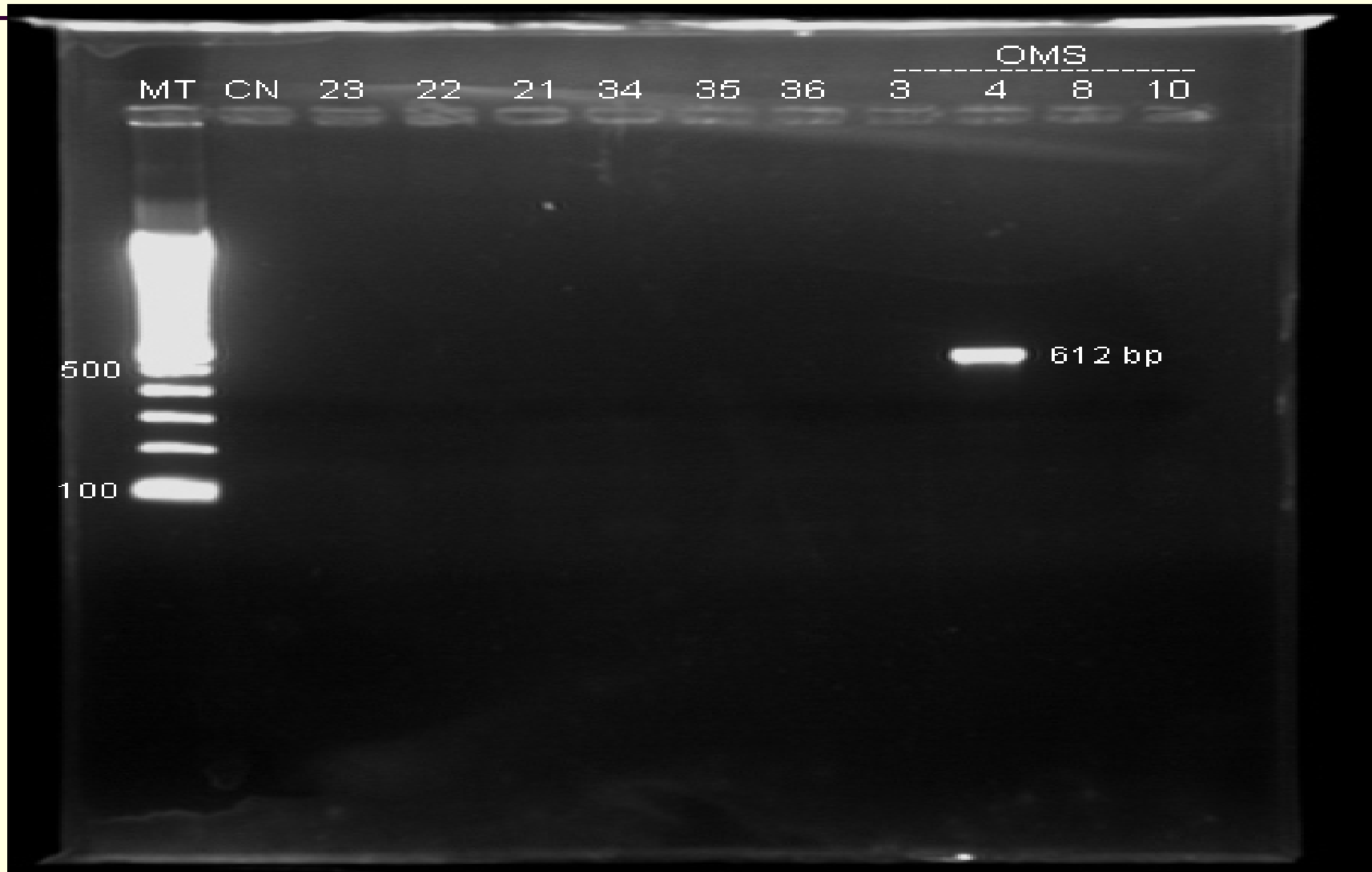
# PCR classique/temps réel



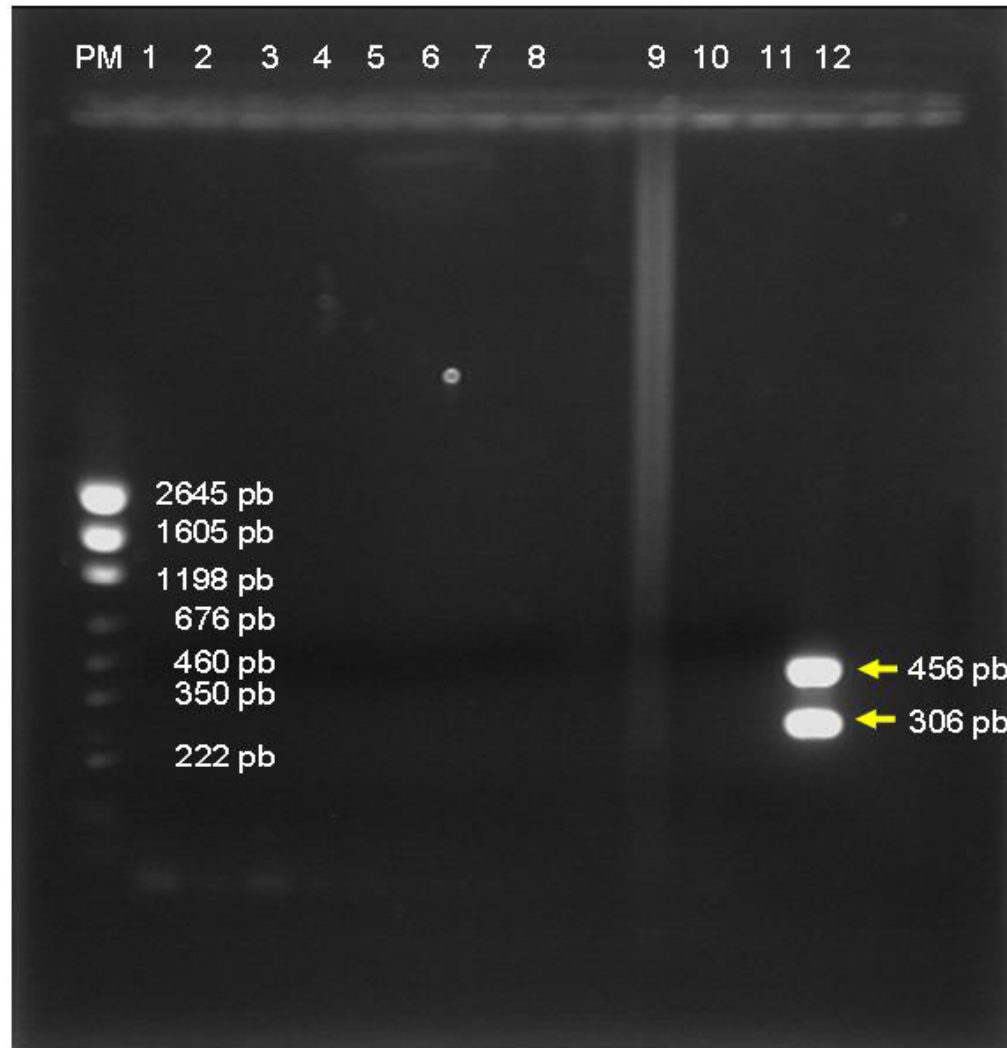
## Détection grippeA/H3 par PCR (Tunis, mars 2007)



# Détection Grippe A/H1 par PCR( Tunis, Juin 2007)



# Recherche du H5N1 par RT-PCR (Singapour)



## RT-PCR H5N1 (IVAGEN)

16 mars 2006

### Légende :

**PM** : marqueur de poids moléculaire pGEM

**1** : B (Médenine)

**2** : A/H1 (Médenine)

**3** : A/H1 (Gabès)

**4** : A (Médecine légale Tunis)

**5** : A/H3 (Tunis)

**6** : 605 (canard)

**7** : 670 (canard)

**8** : 764 (canard)

**9** : 884 (canard)

**10** : 841 (canard)

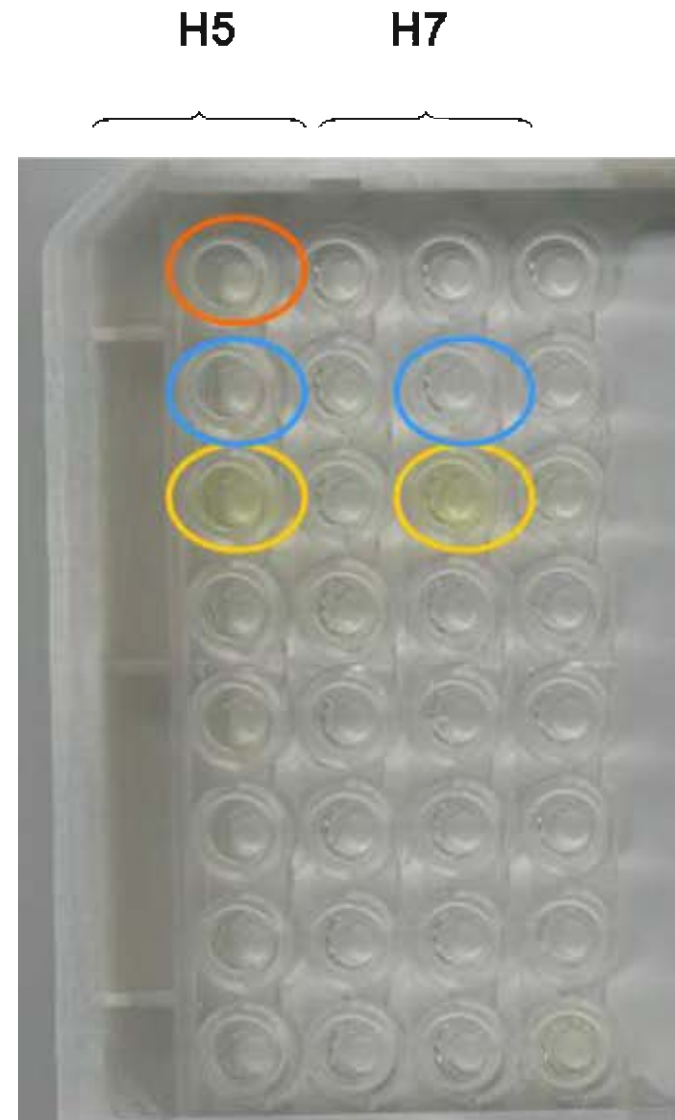
**11** : contrôle négatif

**12** : contrôle positif

**Résultat kit NASBA HK DNAchips**  
**Tunis , 5 mai 2006**

TEST N° :  
 NOM DU TEST :  
 PLAQUE : 0006

	1	2	3	4
<b>A</b>	0.278	0.157	0.091	0.081
<b>B</b>	0.143	0.105	0.108	0.095
<b>C</b>	2.395	0.115	1.888	0.131
<b>D</b>	0.131	0.147	0.082	0.076
<b>E</b>	0.123	0.129	0.125	0.081
<b>F</b>	0.132	0.080	0.085	0.079
<b>G</b>	0.081	0.079	0.085	0.066
<b>H</b>	0.079	0.096	0.075	0.261

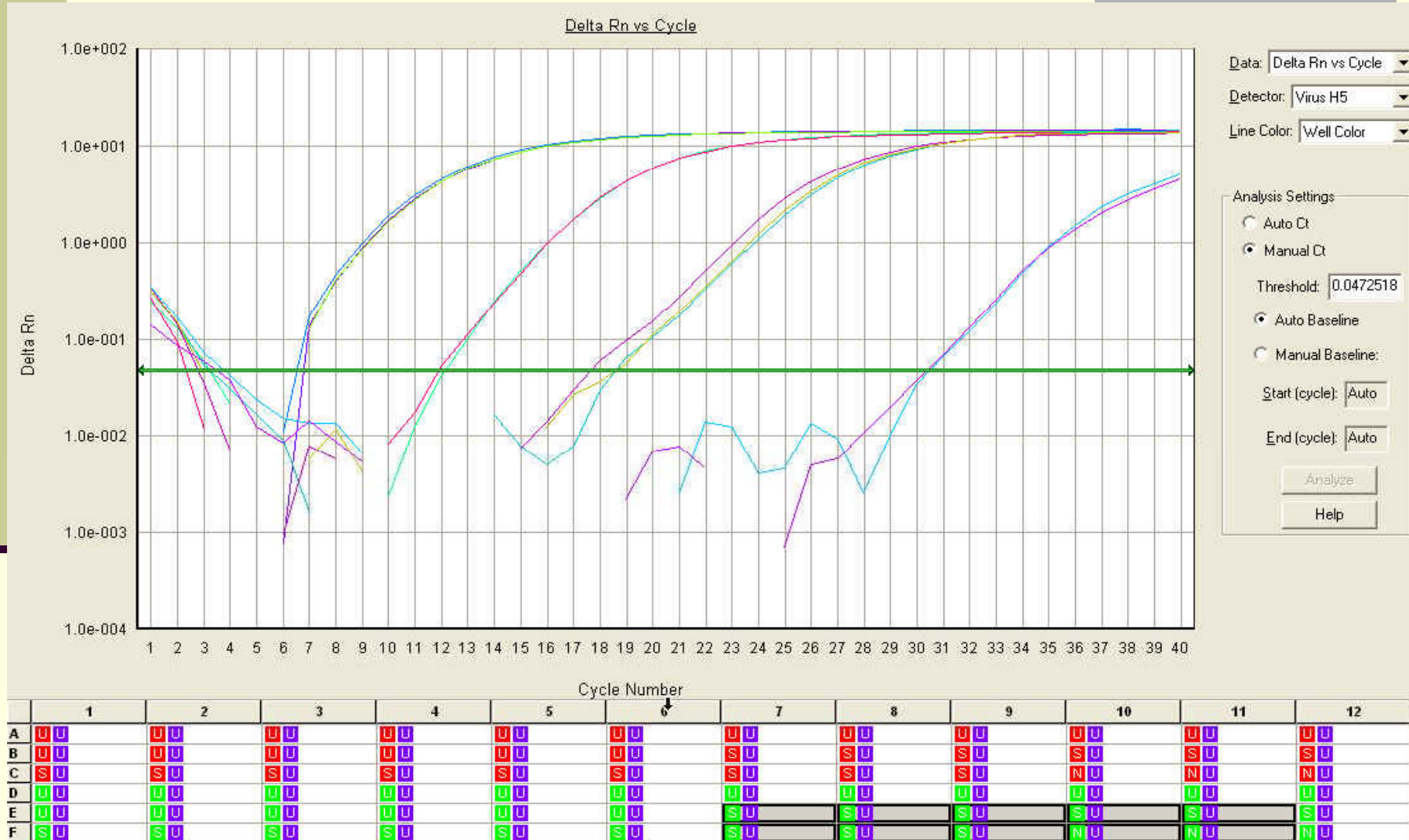




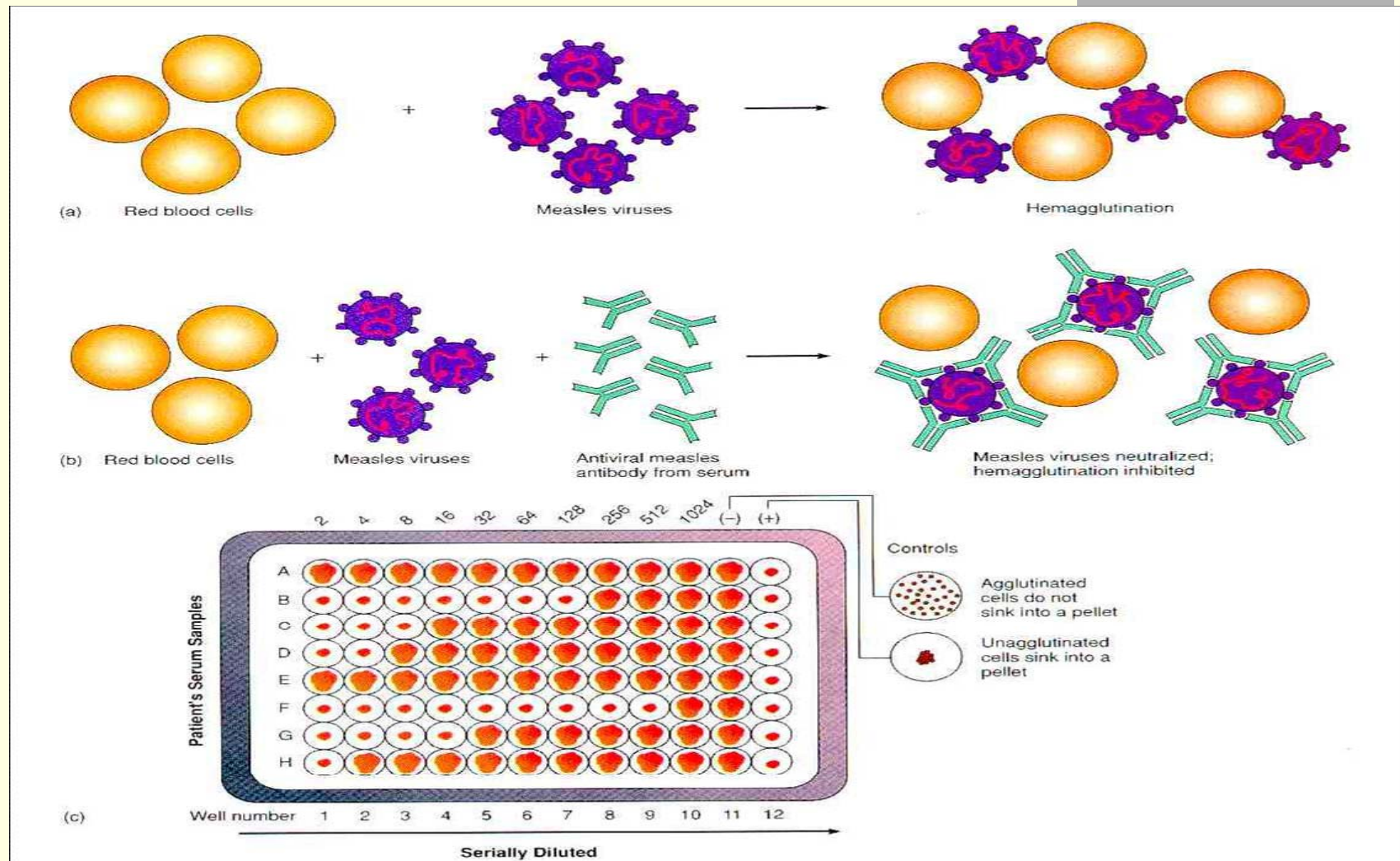


# PCR temps réel Applied

## Grippe H5 , Tunis , 5 avril 2006



# Identification/Sérologie par IHA



# Quel sera le prochain virus pandémique?

- 1997: H5N1 maîtrisé à Hong-Kong
- 1999: H9N2 (Asie), retour du H2N2 ?
- 2000: H1N2 circule à bas bruit
- 2001: H3N8 (Egypte)
- 2002: H5N2 Amériques
- 2003: H5N1 « de retour » plus virulent ++
- 2004: H7N7 Belgique , Corée , Vietnam
- 2005: H5N1 pandémie chez poulet +++
- 2006: Recombinaison H3N2 avec H5N1 ?

Recombinaison H5N2 x H7N7 → H5N7?

2007/2008: 3 hémagglutinines à surveiller: H5,H7,H9

**Prochaine pandémie grave +++**

# Conclusion

---

- Composition du nouveau vaccin 2008-2009:
- A/Brisbane /H3N2/2007 → nouveau
- A/Brisbane/H1N1/2007 → nouveau
- B/Florida/2006 → ancien
- Disponible en octobre 2008
- Sujets à risque: personnel de santé +++
- Amélioration de la couverture du réseau
- Coopération avec différents ministères