

Supplément

Compte rendu de l'atelier sur la coqueluche du laboratoire national de microbiologie

**Winnipeg (Manitoba)
le 7 mars 2006**

Citation suggérée : Agence de santé publique du Canada. *Compte rendu de l'atelier sur la coqueluche du laboratoire national de microbiologie.* RMTC 2006;32S4:1-24.

Cette publication a été produite par la Section des publications scientifiques et des services multimédias de la Direction des communications.

Pour obtenir des exemplaires supplémentaires ou pour vous abonner au Relevé des maladies transmissibles au Canada, veuillez communiquer avec le Centre des services aux membres, Association médicale canadienne, 1867 promenade Alta Vista, Ottawa (Ontario) Canada K1G 3Y6. Tél. : (613) 731-8610 Poste 2307 ou 888-855-2555 ou par télécopieur : (613) 236-8864.

On peut aussi avoir accès électroniquement à cette publication par Internet en utilisant un explorateur Web, à <http://www.phac-aspc.gc.ca/pphb-dgspsp/publicat/ccdr-rmtc>

**COMPTE RENDU DE L'ATELIER
SUR LA COQUELUCHE DU
LABORATOIRE NATIONAL DE MICROBIOLOGIE**

**WINNIPEG (MANITOBA)
LE 7 MARS 2006**

D' Raymond Tsang, Neisseria pathogènes, syphilis et maladies bactériennes évitables par la vaccination, Laboratoire national de microbiologie (LNM), Winnipeg

Irene Martin, Neisseria pathogènes, syphilis et maladies bactériennes évitables par la vaccination, LNM

Table des matières

Sommaire	1
Recommandations.	2
Agents responsables des maladies bactériennes évitables par la vaccination – Pression vaccinale et sélection immunitaire (D ^r Raymond Tsang)	4
Surveillance de la coqueluche à l'échelle nationale – Un aperçu (D ^r Scott A. Halperin).	6
Tests sérologiques servant au diagnostic de la coqueluche (D ^r Scott A. Halperin).	8
Dépistage de la coqueluche par PCR (D ^{re} Susan Richardson).	11
Importante grappe de cas de coqueluche à Toronto (Ontario) – Enquête en laboratoire (D ^{re} Frances Jamieson).	14
Caractérisation en laboratoire des souches de <i>B. pertussis</i> (D ^r Mark Peppler)	16
Le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada : Relever les défis locaux et mondiaux de la santé publique en laboratoire (D ^r Greg Horsman)	18
Références.	21
Annexe : Liste des participants.	23

Sommaire

En 2002, on a tenu une conférence de concertation sur la coqueluche dans le cadre de laquelle une série de recommandations relativement au diagnostic et à la surveillance en laboratoire ont été formulées. L'atelier tenu le 7 mars 2006 par le Laboratoire national de microbiologie avait pour but de réunir des experts canadiens de la coqueluche et de leur permettre d'examiner les recommandations formulées en 2002. Également, de discuter des questions liées au diagnostic en laboratoire et à la caractérisation des souches à des fins de surveillance. Au nombre de 21, les participants à l'atelier venaient de la Nouvelle-Écosse, de Terre-Neuve-et-Labrador, du Québec, de l'Ontario, du Manitoba, de la Saskatchewan, de l'Alberta, de la Colombie-Britannique et des États-Unis. Ils œuvraient dans le milieu universitaire, dans des laboratoires fédéraux, provinciaux et hospitaliers et dans l'industrie.

L'atelier sur la coqueluche avait pour objectif de permettre : 1) la formulation de recommandations sur un éventuel système de diagnostic en laboratoire, 2) la formulation de recommandations sur un éventuel système de surveillance de la coqueluche en laboratoire et 3) l'élaboration d'un plan d'action pour la mise en œuvre de ces recommandations. Les premiers exposés ont donné un aperçu de la situation de la coqueluche au Canada en regard des aspects suivants : surveillance de la maladie à l'échelle nationale, diagnostic de la coqueluche par PCR et au moyen de techniques sérologiques, caractérisation en laboratoire de l'agent pathogène responsable de la coqueluche et enquête sur les récents cas de coqueluche à Toronto. Les exposés qui ont suivi portaient sur les activités du Laboratoire national de microbiologie (LNM) en ce qui concerne les maladies bactériennes évitables par la vaccination et sur les défis que doivent relever les réseaux de laboratoires de santé publique à l'échelle régionale et à l'échelle mondiale. L'atelier comprenait des exposés et des discussions de groupe.

Recommandations

Voici un résumé des recommandations formulées au cours de l'atelier sur la coqueluche :

1. Recommandations relatives à un éventuel système de diagnostic en laboratoire :
 - 1.1 Il faut favoriser le recours à la PCR pour diagnostiquer la coqueluche et rendre cette technique largement accessible au Canada. Le LNM doit mettre sur pied un programme de vérification de la compétence des laboratoires où l'on effectue le diagnostic de la coqueluche par PCR.
 - 1.2 Il faut poursuivre la culture de *Bordetella pertussis*, afin qu'il soit possible d'« archiver » la bactérie à des fins d'utilisation ultérieure, ou à tout le moins congeler des échantillons appropriés (p. ex., produits d'aspiration rhinopharyngée) de façon que l'on puisse récupérer la bactérie en cas de besoin.
 - 1.3 Il faut modifier la définition de cas canadienne de la coqueluche de façon à préciser que l'interprétation des résultats des analyses de laboratoire doit prendre en compte le tableau clinique du patient.
 - 1.4 Il faudrait envisager de mener, auprès de la population canadienne d'âge adulte, une étude séroépidémiologique de la coqueluche qui aurait deux objectifs : i) mesurer l'immunité protectrice contre la coqueluche, ce qui pourrait orienter les recommandations ultérieures au sujet de la vaccination anticoquelucheuse chez cette population; ii) définir le rôle des tests sérologiques de routine dans le diagnostic
- de la coqueluche chez les adolescents et les adultes.
2. Recommandations relatives à un éventuel système de surveillance en laboratoire :
 - 2.1 Il faut mettre sur pied un groupe de travail comptant des représentants de la C.-B., de l'Alberta, de l'Ontario, de la N.-É., du LNM et du Centre de prévention et de contrôle des maladies infectieuses (CPCMI). Ce groupe devrait se pencher sur la mise en œuvre d'un programme national d'étude et de caractérisation des souches de *B. pertussis*.
 - 2.2 Le CPCMI doit trouver des moyens efficaces d'utiliser les ressources ou les programmes actuels pour mettre en place des sites « sentinelles », tant en vue de la collecte de souches de *B. pertussis* qu'en vue de la collecte de données épidémiologiques, tels les antécédents vaccinaux.
3. Plan d'action visant la mise en œuvre des recommandations précédentes :
 - 3.1 Le CPCMI doit mener une enquête à l'échelle canadienne afin de trouver les laboratoires hospitaliers où l'on fait le diagnostic de la coqueluche par PCR, les endroits où l'on cultive *B. pertussis* et/ou ceux où l'on pourrait conserver des échantillons de produits d'aspiration rhinopharyngée à l'état congelé en vue d'une mise en culture ultérieure.
 - 3.2 Le LNM doit étudier la faisabilité de la mise sur pied d'un programme de vérification de la compétence en ce qui concerne le diagnostic de la coqueluche par PCR.

- 3.3 Le LNM doit former un groupe de travail, lequel devra discuter de la mise en œuvre d'un programme national de caractérisation des souches de *B. pertussis*.
- 3.4 Le CPCMI doit étudier divers moyens qui permettront de renforcer la surveillance de la coqueluche à l'échelle nationale en incorporant le volet de la caractérisation des souches en laboratoire.
- 3.5 Le CPCMI doit diriger le processus de modification de la définition de cas canadienne de la coqueluche de façon que la nouvelle définition reflète l'importance accordée à l'interprétation des résultats des analyses de laboratoire à la lumière des données cliniques et épidémiologiques pertinentes.
- 3.6 Le LNM étudiera avec les parties intéressées la faisabilité de la mise au point d'une technique ELISA (dosage immunoenzymatique) normalisée pour mesurer les taux d'anticorps sériques dirigés contre *B. pertussis* et la faisabilité de la réalisation d'une étude séroépidémiologique auprès de la population canadienne d'âge adulte.

Agents responsables des maladies bactériennes évitables par la vaccination – Pression vaccinale et sélection immunitaire

D^r Raymond Tsang

Le phénomène de sélection qui peut toucher les agents responsables des maladies bactériennes évitables par la vaccination peut résulter d'une immunité conférée à la population par la vaccination (pression vaccinale) et/ou d'une immunité naturelle qui apparaît en raison de la nature endémique de la maladie.

Sélection immunitaire résultant d'une pression vaccinale

Certains agents pathogènes, tels que *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*, réagissent à la pression vaccinale par un phénomène de « commutation de capsule » ou de « remplacement de capsule ». Par exemple, dans le cas des *S. pneumoniae* causant des infections invasives à pneumocoque, la mise sur le marché du vaccin antipneumococcique conjugué heptavalent a mené à l'apparition de maladies causées par des sérotypes de pneumocoque liés au vaccin⁽¹⁾ ou des sérogroupe non liés au vaccin⁽²⁾. On a également observé une commutation de capsule chez des pneumocoques pathogènes⁽³⁾. Dans divers pays, dont le Canada, on a fait état d'une modification de l'épidémiologie des infections invasives à *H. influenzae* depuis l'introduction de la vaccination (*H. influenzae* sérotype b [Hib])⁽⁴⁻⁶⁾.

On a décrit de nombreux polymorphismes génétiques chez *B. pertussis*, touchant des gènes aussi variés que ceux codant les fimbriae, la toxine coquelucheuse (PT) et la pertactine, facteurs de virulence de la bactérie (d'où l'utilisation de ces facteurs comme composants vaccinaux)⁽⁷⁻⁹⁾. En analysant l'ADN génomique des souches de *B. pertussis* par électrophorèse en champ pulsé (PFGE), il est possible de distinguer les récents isolats cliniques des souches utilisées pour la fabrication des vaccins anticoquelucheux^(10,11). On a laissé entendre que la réapparition de cas de coqueluche dans des pays à forte couverture vaccinale pourrait être attribuable à ces variations génétiques⁽⁸⁾.

Sélection immunitaire résultant d'une immunité naturelle

Les infections à *Neisseria meningitidis* du séro groupe C sont endémiques au Canada; les vaccins homologués actuellement sur le marché ciblent le polysaccharide capsulaire de ce séro groupe⁽¹²⁾. Après plus d'une décennie d'endémicité, ponctuée de nombreuses éclosions localisées, on a décelé des variations génétiques et antigéniques au niveau des éléments protéiques sous-capsulaires (antigènes des sérotypes et des sérosous-types) des souches de *N. meningitidis*

du sérogroupe C ET-15 prélevées chez des cas d'infection invasive à méningocoque^(13,14). Vu que le vaccin induit la formation d'anticorps sériques dirigés contre les antigènes capsulaires polysaccharidiques et que les variations signalées ont été observées au niveau des protéines de la membrane externe (donc, à l'intérieur de la capsule bactérienne), il est raisonnable de croire que de ces variations sont vraisemblablement dues à une forme de sélection attribuable à une immunité naturelle et qu'elles n'ont aucun lien avec un quelconque effet de pression vaccinale.

Rôle des laboratoires dans la surveillance des agents responsables des maladies bactériennes évitables par la vaccination

Comme les bactéries sont en perpétuel changement et que certains de ces changements peuvent mener à l'apparition de souches mutantes susceptibles d'échapper à l'action du vaccin, il est essentiel que les laboratoires de santé publique disposent d'un système leur permettant de suivre l'évolution des bactéries et de déterminer le risque qu'elles provoquent des cas de maladie postvaccinale. Les discussions qui auront lieu dans le cadre du présent atelier sur la coqueluche porteront sur des questions liées au diagnostic et à la surveillance en laboratoire au Canada.

Surveillance de la coqueluche à l'échelle nationale – Un aperçu

D^r Scott A. Halperin

Après la mise sur le marché du vaccin anticoquelucheux à cellules entières, le nombre de cas déclarés de coqueluche a chuté de façon considérable. On a cependant assisté, au cours des 15 dernières années, à une recrudescence de la coqueluche, quoique dans des proportions bien moins élevées qu'avant l'introduction du vaccin⁽¹⁵⁾. La coqueluche est une maladie à déclaration obligatoire dans toutes les provinces et tous les territoires : le signalement des cas suspects se fait à l'échelle provinciale/territoriale, et celui des cas confirmés, à l'échelle nationale. L'Agence de santé publique du Canada dispose de deux systèmes de surveillance : l'un, passif (le Système de surveillance des maladies à déclaration obligatoire), et l'autre, actif (le Programme de surveillance active des effets secondaires associés aux vaccins [IMPACT]); ces systèmes de surveillance ne comportent aucun volet prévoyant la caractérisation des souches de *B. pertussis*.

La définition de cas canadienne de la coqueluche englobe à la fois les cas suspects et les cas confirmés. Un *cas confirmé* est défini de la façon suivante : isolement de *B. pertussis* dans un échantillon clinique approprié, ou mise en évidence de *B. pertussis* au moyen d'une épreuve faisant appel à l'amplification par la polymérase (PCR) ou personne ayant un lien épidémiologique avec un cas confirmé en laboratoire et présentant au moins une des manifestations suivantes pour lesquelles il n'y a aucune autre cause connue :

- toux paroxystique de quelque durée que ce soit,
- quintes de toux se terminant par des vomissements ou associées à une apnée,

- toux avec « chant du coq » inspiratoire.

La définition d'un cas probable est la suivante : toux durant au moins 2 semaines en l'absence de tests de laboratoire appropriés et d'un lien épidémiologique avec un cas confirmé en laboratoire et au moins l'une des manifestations suivantes sans autre cause connue :

- toux paroxystique,
- « chant du coq » inspiratoire.

C'est dans le groupe des 10 à 14 ans que l'augmentation du nombre de cas est la plus marquée. Le groupe le plus touché par la coqueluche est passé des nourrissons et des enfants d'âge préscolaire à ces jeunes adolescents. En fait, le taux d'incidence observé chez les 10 à 14 ans n'est inférieur qu'à celui des nourrissons de < 1 an. Cette évolution de l'épidémiologie est particulièrement évidente graphiquement lorsqu'on examine les éclosions cycliques de coqueluche survenues en Colombie-Britannique⁽¹⁶⁾. À partir de l'an 2000, une importante transition s'est opérée chez le groupe le plus touché par la coqueluche, lequel s'est étendu aux jeunes adolescents. On a noté une augmentation progressive de l'âge des personnes les plus touchées par la coqueluche de 1993 à 2003, progression qui a été contrecarrée par le lancement du programme de vaccination contre la coqueluche chez les adolescents.

À Terre-Neuve-et-Labrador, en 1994, le taux d'incidence de la coqueluche était le plus élevé chez les enfants de 1 à 4 ans. L'arrivée du vaccin anticoquelucheux acellulaire a permis de réduire considérablement ce taux d'incidence. On observe actuellement des diminutions analogues chez les cohortes d'adolescents ayant fait l'objet d'une

immunisation systématique par la formulation pour adolescents du vaccin anticoquelucheux acellulaire.

Le programme IMPACT est un système de surveillance nationale englobant 12 centres canadiens spécialisés dans la prestation de soins tertiaires aux enfants; ces établissements enregistrent 75 000 admissions par année et comptent plus de 90 % des lits pédiatriques de soins tertiaires. Les cas de coqueluche ayant nécessité une hospitalisation constituent l'une des cibles du programme IMPACT depuis plus de 10 ans. L'arrivée du vaccin acellulaire a entraîné une chute graduelle du nombre annuel de cas d'hospitalisation. On observe actuellement une diminution du taux d'échec vaccinal et une augmentation de l'efficacité des vaccins chez les enfants d'âge préscolaire. Les cas de coqueluche nécessitant une hospitalisation surviennent maintenant chez les nourrissons qui n'ont pas reçu la première série vaccinale au complet⁽¹⁷⁾.

En bref, l'on assiste actuellement à une modification de l'épidémiologie de la coqueluche au Canada, la maladie frappant davantage les adolescents et les adultes plutôt que les enfants d'âge préscolaire. Les nourrissons trop jeunes pour avoir reçu la première série vaccinale au complet sont ceux qui présentent le plus grand risque de morbidité et de mortalité. Les différences observées d'une province à l'autre sur le plan du fardeau de la maladie sont vraisemblablement liées à la qualité et à l'intensité de la surveillance. Sauf en cas d'éclosion, les laboratoires constituent toujours la plus importante source de déclaration de cas de coqueluche. L'efficacité des tests de diagnostic en laboratoire est liée à l'âge des patients, les taux de détection étant plus faibles chez les adultes et les adolescents; il s'ensuit donc une sous-déclaration et une sous-estimation des cas de coqueluche chez les adolescents et les adultes. On en sait peu sur l'épidémiologie des souches de *B. pertussis*.

Tests sérologiques servant au diagnostic de la coqueluche

D^r Scott A. Halperin

On a recours à des tests sérologiques pour dépister la coqueluche depuis longtemps. Il existe une grande variété de techniques, dont l'une des plus anciennes, utilisée de façon courante, consistait à doser les agglutinines associées à la coqueluche. Cette technique convenait cependant davantage à l'évaluation de l'immunité de populations qu'au diagnostic de la maladie chez un patient donné ou qu'à la détermination de la réceptivité d'une personne à l'infection par *B. pertussis*. Le dosage des agglutinines associées à la coqueluche s'effectue de nos jours par micro-agglutination : on soumet le sérum d'un patient à une série de dilutions, on ajoute des bactéries *B. pertussis* (phase 1) et on laisse le tout reposer la nuit, à 35 °C; le titre d'agglutinines correspond à la dilution la plus élevée à laquelle on observe l'agglutination de bactéries. Ce sont les agglutinines qui sont le plus étroitement corrélées aux anticorps dirigés contre les fimbriae, la pertactine et les lipo-oligosaccharides. Comme il n'existe aucune corrélation entre les agglutinines et l'infection ou la protection à l'échelle individuelle, cette technique n'est plus utilisée dans les laboratoires de diagnostic.

Le dosage des anticorps dirigés contre *B. pertussis* est également effectué à l'aide d'une épreuve dite de neutralisation de la cytotoxicité pour les cellules ovariennes de hamster chinois (cellules CHO). Le fondement de cette épreuve repose sur le fait que les cellules CHO subissent une altération morphologique unique en présence de la PT, altération qui peut être neutralisée par des antitoxines spécifiques. Cette épreuve mesure le taux d'anticorps biologiquement actifs, lesquels présentent une corrélation satisfaisante avec un effet protecteur chez des modèles animaux. On a cependant démontré qu'il y avait une forte

corrélation entre les taux de ces anticorps et ceux d'anticorps anti-PT mesurés par dosage immuno-enzymatique (voir ci-dessous) et que le dosage immuno-enzymatique des anticorps anti-PT était bien plus facile à réaliser. Ainsi, l'épreuve dite de neutralisation de la cytotoxicité pour les cellules CHO n'est utilisée que dans certains laboratoires de recherche et ne fait plus partie des tests utilisés couramment pour le diagnostic de la coqueluche.

Les techniques de dosage immuno-enzymatique sont les épreuves sérologiques les plus répandues pour le diagnostic de la coqueluche. Ces techniques peuvent faire appel à des cellules bactériennes entières ou à des antigènes spécifiques et peuvent permettre de doser les IgG, les IgA, les IgM ou toutes les classes d'anticorps. Il n'existe cependant aucune trousse commerciale qui fournisse des résultats adéquats. Les antigènes bactériens entiers ont l'avantage d'être moins onéreux à la préparation, mais ils sont moins bien normalisés et sont sujets à des réactions croisées avec d'autres espèces du genre *Bordetella* et d'autres bactéries (comme *H. influenzae*). En Australie, on utilise une telle trousse à cellules bactériennes entières à des fins de sérodiagnostic. Toutes les trousse actuellement sur le marché, qu'elles utilisent des cellules bactériennes entières ou des antigènes spécifiques, présentent des faiblesses sur le plan de la quantification des anticorps⁽¹⁸⁾.

On a également recours à des techniques de dosage immuno-enzymatique dans divers laboratoires de référence, lesquels utilisent des méthodes et des réactifs préparés sur place. Les techniques de dosage immuno-enzymatique mesurant le taux d'anticorps anti-PT sont celles qui sont les plus répandues. La PT est produite uniquement par *B. pertussis*, aussi les

anticorps anti-PT sont-ils ceux qui présentent la plus grande sensibilité vis-à-vis de *B. pertussis*. On ne connaît aucun autre anticorps qui réagisse avec la PT, mais la réponse anticorps dirigée contre la PT est variable, en particulier chez les nourrissons. La PT est également utilisée dans tous les vaccins anticoquelucheux acellulaires actuellement sur le marché, c'est pourquoi il est impossible de distinguer les anticorps induits par la vaccination de ceux induits par l'infection.

L'hémagglutinine filamenteuse (FHA) est l'un des constituants de la paroi cellulaire de *B. pertussis*, et on a observé qu'elle confère une protection immunitaire contre la coqueluche dans des modèles animaux de la maladie. On n'a toutefois noté aucune corrélation entre la présence d'anticorps anti-FHA et une quelconque protection immunitaire dans le cadre d'études portant sur l'efficacité de vaccins anticoquelucheux acellulaires menées sur des humains; on utilise néanmoins la FHA dans la majorité des vaccins anticoquelucheux acellulaires. La FHA provoque une réponse immunitaire plus constante que la PT (sensibilité accrue); cependant, une réaction croisée des anticorps anti-FHA avec des anticorps dirigés contre d'autres microorganismes (autres espèces du genre *Bordetella*, *H. influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*) est possible, ce qui réduit leur spécificité.

La pertactine est une adhésine de la membrane externe (protéine de 69 kilodaltons) qui confère une protection immunitaire contre la coqueluche dans des modèles animaux et dont la présence est corrélée à un effet protecteur dans des essais cliniques humains. La réponse anticorps associée à la pertactine est légèrement moins constante que celle associée à la FHA, mais elle est plus spécifique vis-à-vis de *B. pertussis* (quoique d'autres bactéries du genre *Bordetella* produisent une protéine semblable). La pertactine est utilisée dans tous les vaccins anticoquelucheux acellulaires actuellement sur le marché nord-américain. Les résultats du dosage des anticorps anti-pertactine sont plus variables que ceux du dosage des anticorps anti-PT et anti-FHA. Les fimbriae sont d'autres facteurs d'adhésion que l'on retrouve à la surface des bactéries; la réponse anticorps qu'ils provoquent est moins constante que celle induite par la FHA. Les épreuves de dosage des anticorps anti-fimbriae sont également moins bien

normalisées que les épreuves de dosage des anticorps anti-PT ou anti-FHA. Les fimbriae 2 et 3 sont utilisés dans le vaccin le plus répandu au Canada.

Les techniques de dosage immuno-enzymatique les plus utilisées, les mieux normalisées et les plus répandues sont celles qui mesurent les taux d'anticorps de la classe des IgG. Les IgG peuvent être détectées 2 à 3 semaines après l'administration de la série vaccinale primaire et 5 à 7 jours après l'administration de la dose de rappel. Les anticorps anti-PT apparaissent moins rapidement que les anticorps dirigés contre la FHA, la pertactine ou les fimbriae. Les taux d'anticorps chutent rapidement dans l'année suivant l'immunisation ou l'infection, mais les anticorps demeurent détectables pendant 1 à 3 ans. Les techniques de dosage des IgM sont mal normalisées et rarement utilisées. On ne connaît guère l'histoire naturelle des IgM après une infection par *B. pertussis*. On soupçonne que l'infection par *B. pertussis* n'entraîne généralement pas la production d'IgM parce que la bactérie est répandue au sein de la population et que la majorité y a déjà été exposée.

Le dosage des IgA dirigés contre les antigènes de la coqueluche peut théoriquement permettre de distinguer les cas d'infection des cas d'immunisation. En effet, il est plus rare que l'organisme produise des IgA après une immunisation qu'après une infection, aussi a-t-on proposé l'utilisation de ce dosage comme indicateur de l'infection. Toutefois, ce n'est que dans 20 % à 50 % des cas d'infection que l'organisme produit des IgA. Bien qu'ils soient moins souvent induits par la vaccination, il arrive que des IgA soient détectés chez certains vaccinés, en particulier des IgA dirigés contre des antigènes de surface de *B. pertussis*. De façon globale, les techniques de dosage des IgA sont peu sensibles, en particulier chez les jeunes enfants. Par ailleurs, ces IgA demeurent dans le sang jusqu'à 1 an après l'exposition, ce qui indique que l'infection (ou, dans certains cas, l'immunisation) est récente.

L'utilisation de multiples combinaisons antigène/anticorps accroît la sensibilité des tests sérologiques, mais aux dépens de la spécificité. On a également eu recours à des algorithmes pour diagnostiquer les cas de coqueluche. Ces algorithmes se fondaient sur la présence d'anticorps dirigés contre la PT seulement

ou sur la présence d'anticorps dirigés contre au moins deux des autres principaux antigènes de *B. pertussis* (FHA, pertactine, fimbriae). Le recours à de multiples combinaisons d'antigènes et d'anticorps accroît le coût et la complexité des tests sérologiques.

On a déjà entrepris de normaliser les tests sérologiques pour la coqueluche. En 1995, on a mené une étude internationale collective à laquelle ont participé 33 laboratoires. On a envoyé des panels de sérums à des laboratoires de divers milieux (industrie, santé publique, universités) et on a comparé les résultats obtenus par ces laboratoires. Le degré de corrélation interlaboratoire était le plus élevé dans le cas du dosage des anticorps anti-PT et anti-FHA et le moins élevé dans le cas du dosage des anticorps anti-fimbriae et anti-pertactine⁽¹⁹⁾.

Tant dans les universités que dans les laboratoires, les spécialistes de la coqueluche s'entendent pour dire que le dosage des IgG anti-PT est le test de dépistage sérologique qui offre le meilleur compromis entre sensibilité et spécificité. L'idéal serait de pouvoir analyser des échantillons appariés (prélevés au cours de la phase aiguë et de la phase de convalescence), mais il est plutôt rare que l'on réussisse à prélever de tels échantillons. Il est également possible de poser un diagnostic à l'aide d'un seul échantillon de sérum, en comparant les taux d'anticorps à ceux de la population générale ou encore en se fiant à des seuils établis au moyen de méthodes statistiques.

Bien qu'il y ait eu un certain nombre de rapports de recherche qui utilisaient une telle méthodologie, le laboratoire de santé publique de l'État du Massachusetts a été le premier laboratoire à utiliser régulièrement les taux d'anticorps anti-PT mesurés dans un seul échantillon de sérum pour dépister la coqueluche⁽²⁰⁾. Selon la méthode de ce laboratoire, un résultat est dit positif s'il est supérieur à 99 % de la limite maximale de tolérance d'une population de témoins non infectés. Cette technique a joué un rôle important dans la confirmation en laboratoire des cas de coqueluche chez les préadolescents, les adolescents et les adultes pour qui les résultats des mises en culture étaient fréquemment négatifs. Aux États-Unis, c'est dans l'État du Massachusetts que l'on trouvait initialement la très grande majorité des cas de coqueluche chez les

adolescents et les adultes; on commence toutefois à confirmer des cas dans d'autres États, à mesure que l'utilisation de cette technique se répand.

Dans une étude menée par les CDC (Centers for Disease Control and Prevention) et la FDA (Food and Drug Administration) des États-Unis, on a évalué des tests de dépistage sérologique de la coqueluche en utilisant des échantillons de sérum prélevés dans le cadre de l'enquête nationale sur la santé et la nutrition (National Health and Nutrition Examination Survey). On a mesuré les taux d'anticorps anti-PT dans des échantillons de sérum de plus de 6 000 résidents américains de 6 à 49 ans. Les responsables de l'étude ont eu recours à une méthode dite de modélisation de population et ont proposé l'adoption d'un seuil de ≥ 94 UE (unités ELISA)/mL pour le diagnostic de la coqueluche⁽²¹⁾. Le Réseau européen de surveillance séroépidémiologique (ESEN) travaille actuellement à la normalisation des résultats de tests sérologiques mis au point par divers laboratoires européens, dont des techniques de dosage des anticorps anti-PT. L'ESEN a adopté un seuil de ≥ 125 UE/mL pour le diagnostic de la coqueluche^(22,23).

En résumé, selon les publications portant sur la coqueluche, le dosage immuno-enzymatique des IgG anti-PT constitue le test sérologique de choix pour le dépistage de routine des cas de coqueluche. Compte tenu de l'état actuel des techniques, le dépistage sérologique de la coqueluche ne devrait être effectué que dans un nombre restreint de laboratoires de référence jusqu'à ce que l'on dispose de troussees normalisées. Aux fins des statistiques sur les maladies à déclaration obligatoire à l'échelle nationale, ne devraient être considérés comme des cas confirmés en laboratoire à l'aide de techniques sérologiques que ceux qui l'ont été dans l'un de ces laboratoires de référence. Cependant, ces laboratoires devront eux aussi subir des vérifications de la compétence. Idéalement, les tests de dépistage sérologique de la coqueluche réalisés à partir d'un seul échantillon devraient être harmonisés avec les normes américaines ou européennes dans le cadre d'un programme de collaboration. Il faudrait également uniformiser les échantillons de sérum de référence de façon que les résultats soient comparables et puissent être interprétés d'un laboratoire à l'autre.

Dépistage de la coqueluche par PCR

D^{re} Susan Richardson

En 2002, au moment de la Conférence de concertation sur la coqueluche, on a admis que la réaction en chaîne par la polymérase (PCR) était très utile pour le diagnostic de la coqueluche et qu'elle était plus sensible que les techniques classiques de mise en culture. *B. pertussis* est un microorganisme dont la croissance est lente et dont les exigences de croissance sont difficiles à satisfaire. Malgré toutes les précautions que l'on puisse prendre en ce qui a trait à la manipulation des échantillons et au contrôle de la qualité du milieu de culture, le microorganisme demeure vulnérable à la présence de substances toxiques dans le milieu de culture et à divers facteurs pouvant intervenir au moment du prélèvement et du transport. *B. pertussis* se prête donc particulièrement bien à la détection par PCR; les résultats des tests ont en effet révélé que la sensibilité de la PCR était de 2 à 4 fois supérieure à celle des techniques classiques.

Malgré cette supériorité manifeste, le diagnostic de coqueluche est le plus souvent fondé sur les résultats d'une mise en culture ou d'un simple examen clinique sans aucune autre forme de vérification. Cette situation s'explique en grande partie par l'absence de trousse de PCR commerciales et par la rareté des laboratoires où l'on effectue des tests maison. Bien que l'on compte huit espèces de bactéries du genre

Bordetella, il n'y a que *B. pertussis* qui puisse communément infecter l'humain et qui soit associé à des éclosions d'infection. Parmi les autres espèces du genre *Bordetella*, seuls *B. parapertussis* et *B. holmesii* peuvent causer une maladie analogue à la coqueluche chez l'humain; *B. bronchiseptica*, *B. hinzii* et *B. trematum* sont associés à de rares cas d'infection respiratoire chez l'humain.

Les techniques de PCR les plus courantes ciblent des séquences qui permettent de détecter *B. pertussis* (et/ou *B. holmesii*) ou *B. parapertussis* (tableau 1). La séquence d'insertion IS481 constitue de loin la cible la plus utilisée pour détecter la présence de *B. pertussis*, bien que cette séquence soit aussi présente chez *B. holmesii*. Parmi les autres cibles des techniques de PCR réalisées sur *B. pertussis*, on compte le promoteur de la PT, le gène de la porine, le gène de la pertactine et le gène de l'adénylate cyclase. La séquence d'insertion IS1001 permet de distinguer *B. parapertussis* de *B. pertussis*, bien que cette séquence soit aussi présente chez *B. holmesii* et puisse ainsi entraîner un résultat positif⁽²⁴⁾.

Les méthodes de PCR varient de techniques classiques, telle la PCR à une seule étape avec bloc chauffant, à des techniques telles la PCR nichée et la

Tableau 1. Gènes ciblés par les techniques de PCR utilisées pour détecter la présence de bactéries du genre *Bordetella*

Microorganismes	Cibles (nombre de copies du génome)					
	IS481		Promoteur de la PT		IS1001	
<i>B. pertussis</i>	+	(80-100)	+	(1)	-	
<i>B. parapertussis</i>	-/(+)		-		+	(20)
<i>B. holmesii</i>	+	(8-10)	-		-/(+)	
<i>B. bronchiseptica</i>	-/(+)		-		-	

PCR en temps réel. En théorie, la PCR nichée est plus sensible que les autres techniques, mais elle est plus lente et davantage sujette à la contamination. En revanche, la technique de la PCR en temps réel est plus rapide et moins sujette à la contamination. On ne dispose que de très peu de données comparatives permettant de déterminer la méthode d'extraction optimale, mais la plupart des méthodes semblent efficaces lorsqu'on utilise des échantillons du rhinopharynx prélevés à l'aide d'écouvillons à embout de Dacron ou de rayonne (mais non d'alginate de calcium) ou des produits d'aspiration rhinopharyngée, transportés dans un milieu Amies avec ou sans charbon ou sur milieu de Regan Lowe. La détection des amplicons peut se faire par électrophorèse sur gel et coloration au bromure d'éthidium ou par l'utilisation de sondes, y compris de sondes FRET (transfert d'énergie par résonance de type Förster), de sondes TaqMan, de phares moléculaires et de SYBR Green (non spécifique).

La sensibilité de la plupart des techniques de PCR est excellente : sur le plan analytique, elle est de l'ordre de 1 à 10 ufc/mL, et sur le plan clinique, elle est de 2 à 4 fois supérieure à la sensibilité des méthodes classiques de culture. La survenue d'un phénomène d'inhibition n'est pas rare, en particulier dans le cas d'échantillons de substances mucoïdes; ils se produisent dans 1 % à 22 % des cas. Il est toutefois possible de contrer cet effet d'inhibition en réalisant des dilutions. Il faut toujours utiliser un témoin interne lorsqu'on a recours à des techniques de PCR pour dépister des cas de coqueluche.

Malgré l'excellente sensibilité des analyses, les résultats varient grandement d'un laboratoire à l'autre dans la pratique, comme on peut le constater à l'examen des résultats d'un panel de vérification des compétences multicentrique⁽²⁵⁾. Chez six laboratoires ayant recours à sept types d'essais pour analyser des dilutions de trois isolats, les quantités détectées variaient de 4 à 30 000 ufc/mL, ce qui démontre que la performance de certains laboratoires est inacceptable. À la lumière d'un second panel de vérification des compétences, portant à la fois sur la sensibilité et sur la spécificité, on a observé que la PCR nichée ne présentait aucun avantage et que les résultats étaient adéquats compte tenu des amorces choisies⁽²⁵⁾.

Les questions de spécificité sont importantes en ce qui a trait au dépistage de la coqueluche par PCR. Dans le cas des techniques de PCR utilisant la cible la plus courante (IS481), il importe de reconnaître qu'il y aura une réactivité croisée avec *B. holmesii* et certaines souches de *B. bronchiseptica*. Certains ont donc prôné l'utilisation d'une deuxième série d'amorces, à des fins de confirmation (comme les amorces ciblant le promoteur de la PT ou le gène de la pertactine), ou de la séquence IS1001 dans le cas de *B. parapertussis*. En utilisant les séquences IS481 et IS1001, il devrait être possible de distinguer *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. holmesii*. Cette méthode serait toutefois trop coûteuse et trop longue pour que l'on en fasse une utilisation systématique, et elle serait probablement inutile en présence d'une éclosion qui ne semble être associée qu'à *B. pertussis*. L'une des solutions de rechange possibles serait de n'avoir recours à une deuxième PCR spécifique de *B. pertussis* à des fins de vérification qu'au début d'une éclosion.

Outre les difficultés sur le plan de la spécificité associées à la présence d'autres bactéries du genre *Bordetella*, la survenue d'une contamination en laboratoire peut porter atteinte à la spécificité des techniques de PCR utilisées pour dépister les cas de coqueluche, comme on a pu le constater de manière flagrante à quelques occasions dans le passé. Lors de deux importantes éclosions de coqueluche dans l'État de New York, on s'est aperçu que, dans 60 % des cas, les résultats de PCR positifs obtenus par un certain laboratoire privé au moyen d'une méthode maison ne concordaient pas avec les résultats d'une PCR de référence⁽²⁶⁾. Après avoir vérifié les compétences du laboratoire en question à l'aide d'un panel d'échantillons, on a découvert que les témoins négatifs avaient été contaminés. Cette situation illustre bien l'importance de prévenir les cas de contamination, ce qui est valable pour tout type d'analyse moléculaire, mais en particulier lorsqu'il est question de maladies contagieuses à déclaration obligatoire comme la coqueluche, dont la détection erronée peut avoir d'importantes conséquences sur le plan de la santé publique. En règle générale, il faut soupçonner qu'il y a eu contamination lorsque le taux de positivité des tests de dépistage de la coqueluche par PCR augmente par rapport à celui de la culture ou lorsqu'on

remarque une augmentation de la sensibilité de beaucoup supérieure à 2 ou 4 fois la sensibilité de la culture. Dans le cas de l'éclosion survenue dans l'État de New York, on avait observé une augmentation d'un facteur 100 de la sensibilité des analyses par PCR par rapport aux cultures. On voit donc l'utilité de maintenir le recours à la culture, à tout le moins dans certaines situations, pour la vérification des résultats des analyses par PCR en plus de la confirmation du typage de souches, de la réalisation d'épreuves de sensibilité aux antimicrobiens et de l'identification de *B. parapertussis* et de *B. holmesii*.

Pour prévenir la contamination, les laboratoires doivent se soumettre aux exigences strictes qui s'appliquent habituellement aux laboratoires de diagnostic moléculaire sur le plan de la superficie, du personnel, de la formation, des compétences techniques et du contrôle de la qualité. Il faut traiter les échantillons le moins possible (on peut ajouter de l'uracile-N-glycosylase [UNP] pour réduire l'effet de contamination résiduelle) et utiliser des témoins positifs ou négatifs, selon le cas, lors de chaque analyse⁽²⁷⁾.

En 1994, un groupe d'experts européen a élaboré des recommandations sur le dépistage de la coqueluche par PCR. Ces recommandations portent notamment sur l'utilisation de certaines sondes pour accroître la sensibilité et la spécificité des analyses, la vérification des résultats douteux par l'analyse de cibles de rechange et l'assurance que tous les échantillons

ayant donné des résultats positifs à la culture donnent également des résultats positifs à la PCR, qu'aucun autre microorganisme pathogène ou commensal n'est présent, que les échantillons prélevés chez des témoins en bonne santé donnent des résultats négatifs et que l'on utilise des témoins internes pour détecter les cas d'inhibition⁽²⁷⁾.

Pour l'heure, il y aurait lieu d'examiner les analyses moléculaires effectuées pour dépister les cas de coqueluche au Canada et d'élaborer des directives canadiennes à jour en ce qui concerne la réalisation de telles analyses. Il faut maintenir le recours à la culture, à tout le moins dans certains centres, car il s'agit d'un repère important pour évaluer la validité des résultats obtenus par PCR et par toute autre analyse qui pourrait se révéler nécessaire, comme le typage de souches et les épreuves de sensibilité aux antimicrobiens. Compte tenu de la grande variété des méthodes d'analyse, du manque de normalisation et de l'absence de trousse commerciales, la mise sur pied d'un programme national de vérification de la compétence constitue une priorité. Un groupe de travail canadien qui se pencherait sur le diagnostic de la coqueluche en laboratoire pourrait entretenir des liens productifs avec divers groupes de l'étranger qui s'intéressent à la résolution collective des questions liées aux analyses moléculaires et à d'autres types d'analyses pour *B. pertussis*.

Importante grappe de cas de coqueluche à Toronto (Ontario) – Enquête en laboratoire

D^{re} Frances Jamieson

Depuis 1999, le Laboratoire central de santé publique (LCSP) du ministère ontarien de la Santé et des Soins de longue durée utilise des techniques d'amplification d'acides nucléiques pour dépister les cas d'infection par *B. pertussis* et par *B. parapertussis* (PCR classique fondée sur la méthode de Van der Zee et coll.⁽²⁸⁾). Le Laboratoire effectue toujours la culture de *B. pertussis* et de *B. parapertussis* concurremment avec les analyses par PCR. En mai 2005, le Laboratoire a élaboré une technique de PCR en temps réel (après une comparaison et une validation de 4 mois) servant à la détection de *B. pertussis* et de *B. parapertussis* pour remplacer la technique de PCR classique utilisée jusque-là⁽²⁹⁾. Dans le cadre du processus de validation, effectué par une série de dilutions, on a déterminé que le seuil de détection de la PCR en temps réel était inférieur à un microorganisme par réaction, ce qui représente une hausse de la sensibilité par rapport à la PCR classique (électrophorèse sur gel). Dans la PCR en temps réel, on s'est servi d'une ribonucléase humaine comme témoin interne (pour vérifier l'intégrité de l'échantillon et prévenir tout effet d'inhibition) et on a ajouté de l'uracile-N-glycosylase afin d'empêcher tout effet de contamination résiduelle. L'utilisation de sondes comme moyen de détection dans les analyses par PCR en temps réel, conjuguée aux mesures décrites ci-haut, diminue grandement le risque de faux positifs. On utilise également d'autres protocoles normalisés pour réduire le risque de résultats faussement positifs,

comme le contrôle systématique de la présence de contaminants dans l'environnement.

En octobre 2005, il y a eu une forte augmentation du nombre d'échantillons envoyés au Laboratoire relativement à la coqueluche (2 à 3 fois plus qu'à la même période en 2004-2005). Un fort pourcentage de ces échantillons ont donné des résultats positifs aux techniques d'amplification d'acides nucléiques mais négatifs à la culture (le pourcentage a doublé d'octobre 2004 à octobre 2005). On a réexaminé les tests de dépistage effectués, sans toutefois déceler de problème (tous les témoins ont produit les résultats attendus et les résultats de l'échantillonnage environnemental étaient négatifs). À la lumière d'une analyse plus poussée des échantillons, on a constaté que 35 % de ces échantillons provenaient d'une clinique torontoise et que la plupart d'entre eux (54 %) avaient été prélevés chez des patients de 1 à 4 ans. Comparativement aux années précédentes, le nombre de cas positifs de coqueluche avait augmenté de façon considérable; presque tous ces échantillons n'avaient donné des résultats positifs qu'aux techniques d'amplification d'acides nucléiques, et la majorité d'entre eux se sont révélés positifs en fin de cycle lors de la PCR en temps réel. Ces cas positifs en fin de cycle indiquent que la charge bactérienne est très faible (≤ 1 microorganisme) et que le micro-organisme ne croîtrait vraisemblablement pas s'il était mis en culture.

À des fins de comparaison, le LCSP a envoyé un panel d'échantillons négatifs, positifs et « faiblement » positifs devant être analysés à l'aveugle au moyen de techniques d'amplification d'acides nucléiques au laboratoire d'analyse moléculaire de la division de microbiologie du service de médecine de laboratoire pédiatrique du Hospital for Sick Children (D^m Susan Richardson). Le degré de corrélation entre les résultats du LCSP et du laboratoire du Hospital for Sick Children était de 100 %. On a également soumis du matériel ayant servi à la mise en culture du virus respiratoire syncytial à la technique de PCR en temps réel servant au dépistage de la coqueluche et on a obtenu des résultats négatifs (aucun faux résultat positif). Les produits de la PCR en temps réel ont été analysés par électrophorèse sur gel; les échantillons ayant produit des résultats positifs présentaient des bandes de masse moléculaire appropriées (~120 pb), et le séquençage des échantillons a révélé une homologie de 100 % avec *B. pertussis*.

Ainsi, les résultats positifs à l'analyse par PCR en temps réel qu'ont produit les échantillons reçus pendant l'enquête n'étaient pas de faux résultats positifs; cette constatation soulève cependant une série de questions :

- Existe-t-il un état de porteur « transitoire » (faible nombre de microorganismes)?
- Les analyses détectaient-elles des microorganismes morts (p. ex., dans le cas de patients ayant reçu des antibiotiques au moment du prélèvement des échantillons)?
- Quelle est l'utilité clinique du dépistage de la coqueluche à l'aide d'analyses moléculaires, compte tenu de la grande sensibilité de la PCR en temps réel?
- Quel est le rôle de l'efficacité vaccinale?
- Ces questions, ainsi que celles qui seront soulevées lors des discussions, feront l'objet d'une étude cas-témoins menée conjointement par le LCSP, le Hospital for Sick Children, la Toronto Public Health Unit et divers autres chercheurs.

Caractérisation en laboratoire des souches de *B. pertussis*

D^r Mark Peppler

Nous avons établi l'utilité de la caractérisation en laboratoire des souches en nous fondant sur l'épidémiologie des isolats cliniques du Nord de l'Alberta entre 1995 et 2002 et sur la surveillance de l'évolution des souches au fil du temps, par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) et typage allélique de la sous-unité S1 de la PT et de la pertactine. Un isolat de *B. pertussis* possédant les allèles « anciens » de la *ptxS1* et de la *prn* est dit « ancien »; un isolat possédant les allèles « nouveaux » de la *ptxS1* et de la *prn* est dit « nouveau »; enfin, un isolat possédant un allèle « ancien » et un allèle « nouveau » de la *ptxS1* et de la *prn* est dit « transitionnel » (tableau 2). La distribution des souches selon que l'isolat est considéré comme « ancien », « transitionnel » ou « nouveau » a changé. La majorité des isolats sont considérés comme « nouveaux » (tableau 3). Le type d'isolat prédominant par PFGE au cours de cette période était BpeXba008 (tableau 4). Aucune différence sur le plan de la distribution n'a été observée parmi les sujets âgés de > 21 ans, comparativement aux sujets âgés de < 21 ans.

Malgré ce changement dans les types de souches au fil du temps, on n'a noté aucune différence importante entre les souches ayant causé une maladie clinique chez les patients vaccinés comparativement

aux patients non vaccinés. Depuis 1995, on a dénombré 1 300 cas, dont 758 étaient positifs à la culture, ce qui a donné lieu à 278 rapports complets pour lesquels des souches ont été analysées. La majorité des cas sont survenus parmi les nourrissons. Les données appuient la conclusion selon laquelle la dérive antigénique n'a pas permis à *B. pertussis* d'échapper à l'immunité induite par la vaccination.

Il est recommandé d'exercer une surveillance continue des souches dans l'ensemble du Canada afin de détecter les changements futurs dans le temps. Il doit exister une volonté nationale d'appuyer et d'uniformiser les études à ce sujet, et le typage allélique ainsi que le sérotypage des fimbriae devraient être ajoutés aux profils.

Tableau 2. Classement selon le degré d'« ancienneté » des allèles de la pertactine (*prn*) et de la sous-unité S1 de la toxine coquelucheuse (*ptxS1*)

	« Anciens » (présents avant 1970)	« Nouveaux » (apparus après 1985)
<i>ptxS1</i>	B, D, E	A
<i>prn</i>	1	2, 3, 9

Tableau 3. Nombre total estimatif d'isolats (pourcentage) pour chaque combinaison d'allèles de la *prn* et de la *ptxS1* présents dans les 30 principaux types par PFGE combinés en Alberta

	prn1 ptxS1A « transitionnels »	prn2 ptxS1B « transitionnels »	prn1 ptxS1B « anciens »	prn2 ptxS1A « nouveaux »	pr3 ptxS1A « nouveaux »	prn9 ptxS1A « nouveaux »	Totals
1985-1994	301 (15,8)	0 (0)	593 (31,2)	867 (45,6)	109 (5,7)	31 (1,6)	1 901
	16 %		31 %	53 %			100 %
1995-2002	60 (21,6)	2 (0,7)	0 (0)	178 (64,0)	6 (2,2)	32 (11,5)	278
	22,3 %		0 %	77,7 %			100 %

Tableau 4. Distribution des profils PFGE et des types de *ptxS1/prn*, 1995-2002

Profil PFGE	Types de <i>ptxS1A</i> et <i>prn</i>				Types de <i>ptxS1B</i> et <i>prn</i>				Total par profil PFGE
	1	2	3	9	1	2	3	9	
BpeXba001				5					5
BpeXba002	16		1						17
BpeXba004				2					2
BpeXba007						1			1
BpeXba008	1	178	3	1		1			184
BpeXba010				2					2
BpeXba011				4					4
BpeXba020				2					2
BpeXba024				1					1
BpeXba051				5					5
BpeXba072				1					1
BpeXba101				2					2
BpeXba102				3					3
BpeXba106				1					1
BpeXba107	43		2						45
BpeXba109				1					1
BpeXba116				2					2
Total 278 (%)	60 (21,6)	178 (64,0)	6 (2,2)	32 (11,5)	0 (0)	2 (0,7)	0 (0)	0 (0)	278

Le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada : Relever les défis locaux et mondiaux de la santé publique en laboratoire

D^r Greg Horsman

Le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada

Le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada (RLSPC) est un forum proactif à vocation nationale qui regroupe les laboratoires de santé publique. Depuis sa création, le RLSPC a encouragé l'établissement et le renforcement de liens fonctionnels entre les laboratoires de santé publique fédéraux et provinciaux. Le RLSPC est le porte-parole et le défenseur des laboratoires. Ses membres fédéraux et provinciaux fournissent des services de première ligne pour lutter contre les infections, que celles-ci soient d'origine naturelle ou qu'elles aient été délibérément introduites par des agents liés au bioterrorisme.

Le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada (RLSPC) a été créé en 2001. À la suite de l'attentat terroriste du 11 septembre 2001 et des menaces subséquentes liées à la maladie du charbon survenues à Washington, D.C., le RLSPC a également choisi d'inclure dans son mandat les mesures d'intervention en cas de bioterrorisme. En plus d'aborder les préoccupations soulevées par l'augmentation de la fréquence et du caractère potentiellement mortel des agents bioterroristes, il a élargi son champ d'action afin d'inclure d'autres aspects de la santé publique, comme la salubrité de l'eau et des aliments, en réaction aux éclosions d'origine hydrique survenues à Walkerton, en Ontario, et à North Battleford, en Saskatchewan. Il a élargi son mandat afin d'élaborer des stratégies visant à accroître la normalisation, à l'échelle nationale, des tests de diagnostic en laboratoire et a lancé une initiative visant à améliorer

les tests de référence. En outre, le RLSPC reconnaît que certaines maladies infectieuses ont un impact sur les maladies chroniques et prend des mesures afin de renforcer les programmes de lutte contre ces maladies infectieuses.

Le RLSPC reconnaît la responsabilité des laboratoires de santé publique de protéger la santé publique et de se doter de capacités de surveillance et d'intervention d'urgence, au service de tous les professionnels de la santé publique.

Le rôle du RLSPC est de fournir un point de ralliement aux acteurs du secteur des laboratoires de santé publique, afin de leur permettre d'échanger de l'information dans un climat de confiance au sujet des pratiques exemplaires et des leçons apprises. Le rôle du RLSPC consiste aussi à tirer parti de sa capacité de représentation pour assurer la pérennité des laboratoires de santé publique et pour appuyer les efforts déployés par ces derniers afin de fournir des services rapides et coordonnés en réponse aux agents responsables des maladies transmissibles.

Le Réseau pancanadien de santé publique

Le RLSPC n'est pas seul... Il fait partie d'un cadre national visant à promouvoir la santé publique à l'échelle locale, nationale et internationale.

Depuis la réorganisation à Santé Canada et la création de la nouvelle Agence de santé publique du Canada (ASPC), le RLSPC est l'un des six groupes d'experts qui constituent la charpente des activités liées à la santé publique au Canada. Ces groupes d'experts s'intéressent aux domaines suivants :

- Contrôle des maladies transmissibles
- Laboratoires canadiens de santé publique
- Mesures et interventions d'urgence à l'échelle nationale
- Surveillance et information
- Prévention et contrôle des maladies non transmissibles et des blessures
- Promotion de la santé

Ces groupes relèvent du Conseil FPT du Réseau de santé publique, lequel rassemble les renseignements fournis par les différents groupes et fait rapport à la Conférence FPT des sous-ministres de la Santé.

Le RLSPC est composé des laboratoires provinciaux (10) de santé publique, de l'ASPC, de Recherche et développement pour la défense Canada, du Conseil des médecins hygiénistes en chef, de la Société canadienne du sang, d'Héma-Québec et de l'Agence canadienne d'inspection des aliments.

Les directeurs des laboratoires médicaux et scientifiques constituent les membres essentiels du RLSPC, mais ce dernier a accès à l'expertise diagnostique et technique diversifiée de l'ensemble des laboratoires de santé publique du Canada.

Les représentants de l'ASPC au sein du RLSPC sont issus des services suivants :

- Laboratoire de lutte contre les zoonoses d'origine alimentaire
- Centre de mesures et d'interventions d'urgence
- Centre de prévention et de contrôle des maladies infectieuses
- Laboratoire national de microbiologie
- Laboratoires nationaux du VIH/sida et de rétrovirologie

Questions de portée générale

Les activités des laboratoires se sont élargies au fil du temps, et la collaboration et la coopération entre les laboratoires de santé publique du pays sur les questions de portée générale s'intensifient sans cesse. Des liens sont établis entre les laboratoires, les services d'épidémiologie et les autres centres d'intervention

d'urgence en cas de maladies infectieuses. Nous nous employons à élaborer des stratégies permettant de nouer des liens, s'il y a lieu, entre la prise en charge des maladies infectieuses et la prévention des maladies chroniques. Nos plans comprennent l'élaboration, par les divers paliers de gouvernement, d'approches intégrées pour s'attaquer aux questions de santé publique de portée générale. L'instauration d'une direction et d'une structure de contrôle nationales, ainsi que de relations de coopération et d'une intégration avec les structures hiérarchiques de rapport et les protocoles locaux font partie de nos activités de planification en cas d'urgence.

Le RLSPC fait appel à des sous-comités qui sont généralement présidés conjointement par des représentants fédéraux et provinciaux-territoriaux. Ce sont les sous-comités suivants :

- Sous-comité sur la normalisation des laboratoires
- Sous-comité sur les interventions en cas de bioterrorisme
- Sous-comité sur la salubrité de l'eau et des aliments
- Sous-comité du Centre de référence.

Des groupes de travail sont mis sur pied régulièrement. Un groupe de travail joue un rôle consultatif relativement à PulseNet Canada. Ce groupe joue un rôle essentiel dans l'application de normes qui permettent la comparaison interlaboratoire des empreintes moléculaires de divers pathogènes. Le groupe des laboratoires sur la grippe est récemment devenu le Réseau de préparation en cas de pandémie de grippe, qui a étendu ses activités aux domaines de l'épidémiologie et des diagnostics viraux et s'emploie, de concert avec la Société canadienne du sang et le Bureau de la sécurité des laboratoires, à élaborer une annexe au Plan canadien de lutte contre la pandémie d'influenza. Un groupe de travail sur la maladie de Lyme élabore des lignes directrices relatives aux épreuves de laboratoire pour le diagnostic de cette maladie au Canada. Le groupe de travail sur l'auto-évaluation des laboratoires mettra au point un modèle qui servira à la création d'une base de données sur les analyses en santé publique au Canada.

Le Sous-comité sur la normalisation des laboratoires du RLSPC passe en revue les maladies à déclaration obligatoire à l'échelle nationale, dont la coqueluche, de façon que les épidémiologistes soient en mesure d'évaluer de façon satisfaisante les cas déclarés dans l'ensemble du Canada. Le groupe PulseNet Canada s'intéresse aux normes en matière de PFGE pour divers pathogènes entériques et nosocomiaux. Le Sous-comité du Centre de référence évalue la nécessité de tests qui constituent une ligne de défense en santé publique. Chacun de ces groupes pourrait jouer un rôle dans l'application des recommandations formulées au cours de l'atelier sur la coqueluche.

En résumé, le RLSPC établit des partenariats à l'intérieur d'un cadre national. Ces partenariats misent sur la collaboration dans l'élaboration de normes de laboratoire pour les maladies à déclaration obligatoire à l'échelle nationale, les diagnostics moléculaires en santé publique, la mise au point d'outils Web de travail et de communications, les documents établissant la propriété et la paternité. Le lecteur trouvera de plus amples renseignements à ce sujet à l'adresse suivante : www.CPHLN.ca.

Références

1. Steenhoff AP, Shah SS, Ratner AJ et coll. *Emergence of vaccine-related pneumococcal serotypes as a cause of bacteremia*. Clin Infect Dis 2006;42:907-14.
2. Byington CL, Samore WH, Stoddard GJ et coll. *Temporal trends of invasive disease due to **Streptococcus pneumoniae** among children in the Intermountain West: Emergence of nonvaccine serogroups*. Clin Infect Dis 2005;41:21-9.
3. Jefferies JMC, Smith A, Clarke SC et coll. *Genetic analysis of diverse disease-causing pneumococci indicates high levels of diversity within serotypes and capsule switching*. J Clin Microbiol 2004;42:5681-8.
4. Bajanca P, Canica M, Multicentre Study Group. *Emergence of nonencapsulated and encapsulated non-b-type invasive **Haemophilus influenzae** isolates in Portugal (1989-2001)*. J Clin Microbiol 2004;42:807-10.
5. Ribeiro GS, Reis JN, Cordeiro SM et coll. *Prevention of **Haemophilus influenzae** type b (Hib) meningitis and emergence of serotype replacement with type a strains after introduction of Hib immunization in Brazil*. J Infect Dis 2003;187:109-16.
6. Tsang RSW, Mubareka S, Sill ML et coll. *Invasive **Haemophilus influenzae** in Manitoba, Canada, in the postvaccination era*. J Clin Microbiol 2006;44:1530-5.
7. King AJ, Berbers G, van Oirschot HF et coll. *Role of the polymorphic region 1 of the **Bordetella pertussis** protein pertactin in immunity*. Microbiol 2001;147:2885-95.
8. Mooi FR, van Oirschot H, Heuvelman K et coll. *Polymorphism in the **Bordetella pertussis** virulence factors P.69/pertactin and pertussis toxin in the Netherlands: Temporal trends and evidence for vaccine-driven evolution*. Infect Immun 1998;66:670-5.
9. Tsang RS, Lau AK, Sill ML et coll. *Polymorphisms of the fimbria fim3 gene of **Bordetella pertussis** strains isolated in Canada*. J Clin Microbiol 2004;43:5364-7.
10. Pepler MS, Kuny S, Nevesinjac A et coll. *Strain variation among **Bordetella pertussis** isolates from Quebec and Alberta provinces of Canada from 1985 to 1994*. J Clin Microbiol 2004;41:3344-7.
11. Guiso N, Boursaux-Eude C, Weber C et coll. *Analysis of **Bordetella pertussis** isolates collected in Japan before and after introduction of the acellular pertussis vaccine*. Vaccine 2001;19:3248-52.
12. Granoff DM, Feavers IM, Borrow R. *Meningococcal vaccines*. Dans : Plotkin SA, Orenstein WA, eds. *Vaccines*, 4^e éd. Philadelphia: Saunders, 2004:959-87.
13. Tsang RSW, Tsai CM, Zhu P et coll. *Phenotypic and genetic characterization of a unique variant of serogroup C ET-15 meningococci (with the antigenic formula C:2a:P1.7,1) causing invasive meningococcal disease in Quebec, Canada*. J Clin Microbiol 2004;42:1460-5.

14. Law DKS, Henderson AM, Tsang RSW et coll. *DNA sequencing analysis of the PorB protein of nonserotypeable serogroup C ET-15 meningococci suggests a potential mutational hot spot on their serotype antigens.* J Clin Microbiol 2004;42:2718-23.
15. Skowronski DM, De Serres G, MacDonald D et coll. *The changing age and seasonal profile of pertussis in Canada.* J Infect Dis 2002;185:1448-53.
16. Galanis E, King AS, Varughese P et coll. *Changing epidemiology and emerging risk groups for pertussis.* Can Med Assoc J 2006;174:451-2.
17. Bettinger JA, Halperin SA, DeSerres G et coll. *Epidemiology of hospitalized pertussis after change from whole cell to acellular pertussis vaccine.* Presented at the 6th Canadian National Immunization Conference, Session #4, Montreal, December, 2004.
18. Kösters K, Riffelmann M, Dohrn B et coll. *Comparison of five commercial enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to **Bordetella pertussis**.* Clin Diagn Lab Immunol 2000;7:422-6.
19. Lynn F, Reed GF, Meade BD. *Collaborative study for the evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays used to measure human antibodies to **Bordetella pertussis** antigens.* Clin Diagn Lab Immunol 1996;3:689-700.
20. Yih WK, Lett SM, des Vignes FN et coll. *The increasing incidence of pertussis in Massachusetts adolescents and adults, 1989-1998.* J Infect Dis 2000;182:1409-16.
21. Baughman AL, Bisgard KM, Edwards KM et coll. *Establishment of diagnostic cutoff points for levels of serum antibodies to pertussis toxin, filamentous hemagglutinin, and fimbriae in adolescents and adults in the United States.* Clin Diagn Lab Immunol 2004;11:1045-53.
22. Pebody RG, Gay NJ, Giammanco A et coll. *The seroepidemiology of **Bordetella pertussis** infection in Western Europe.* Epidemiol Infect 2005;133:159-71.
23. Giammanco A, Chiarini A, Maple PA et coll. *European Sero-Epidemiology Network: Standardisation of the assay results for pertussis.* Vaccine 2003;22:112-20.
24. Riffelmann M, Wirsing von König CH, Caro V et coll. *Nucleic acid amplification tests for diagnosis of **Bordetella** infections.* J Clin Microbiol 2005;43:4925-9.
25. Muylldermans G, Soetens O, Antoine M et coll. *External quality assessment for molecular detection of **Bordetella pertussis** in European laboratories.* J Clin Microbiol 2005;43:30-5.
26. Lievano FA Reynolds MA, Waring AL et coll. *Issues associated with and recommendations for using PCR to detect outbreaks of pertussis.* J Clin Microbiol 2002;40:2801-5.
27. Meade BD, Bollen A. *Recommendations for use of the polymerase chain reaction in the diagnosis of **Bordetella pertussis** infections.* J Med Microbiol 1994;41:51-5.
28. Van der Zee A, Agterberg C, Peters M et coll. *Polymerase chain reaction assay for pertussis: simultaneous detection and discrimination of **Bordetella pertussis** and **Bordetella parapertussis**.* J Clin Microbiol 1993;31:2134-40.
29. Kösters K, Riffelmann M, Wirsing von König CH. *Evaluation of a real-time PCR assay for detection of **Bordetella pertussis** and **B. parapertussis** in clinical samples.* J Med Microbiol 2001;50:436-40.

Annexe

Liste des participants

D^{re} Sadjia Bekal

Laboratoire de santé publique du Québec
Sainte-Anne-de-Bellevue (Québec)

D^{re} Susan Richardson

The Hospital for Sick Children
Toronto (Ontario)

D^r Swee Han Goh

BC Centre for Disease Control
Vancouver (Colombie-Britannique)

D^r Gregory J. Tyrrell

Provincial Laboratory for Public Health
Université de l'Alberta
Edmonton (Alberta)

D^r Scott A. Halperin

Université Dalhousie
IWK Health Centre
Halifax (Nouvelle-Écosse)

D^r John Wylie

Laboratoire provincial de Cadham
Winnipeg (Manitoba)

D^r Greg Horsman

Saskatchewan Provincial Public Health Laboratory
Regina (Saskatchewan)

Sanofi Pasteur Limited :

D^r Luis Barreto

Toronto (Ontario)

D^{re} Frances Jamieson

Laboratoire central de santé publique
Etobicoke (Ontario)

D^r George Cates

Toronto (Ontario)

D^r Scott Kapoor

Toronto Public Health
Université de Toronto
Toronto (Ontario)

D^r David Greenberg

Swiftwater (Pennsylvanie)

D^r Mark Pepler

Université de l'Alberta
Edmonton (Alberta)

D^r Pierre Lavigne

Toronto (Ontario)

D^r Sam Ratnam

Newfoundland Public Health Laboratory
St. John's (Terre-Neuve-Labrador)

Agence de santé publique du Canada :

Cathy Jorowski

Réseau des laboratoires de santé publique du
Canada
Laboratoire national de microbiologie
Winnipeg (Manitoba)

Irene Martin

Neisseria pathogènes, syphilis et maladies
bactériennes évitables par la vaccination
Laboratoire national de microbiologie
Winnipeg (Manitoba)

Christine Navarro

Division de l'immunisation et des infections
respiratoires
Centre de prévention et de contrôle des maladies
infectieuses
Ottawa (Ontario)

Michelle Sill

Neisseria pathogènes, syphilis et maladies
bactériennes évitables par la vaccination
Laboratoire national de microbiologie
Winnipeg (Manitoba)

D^{re} Theresa Tam

Division de l'immunisation et des infections
respiratoires
Centre de prévention et de contrôle des maladies
infectieuses
Ottawa (Ontario)

D^r Raymond Tsang

Neisseria pathogènes, syphilis et maladies
bactériennes évitables par la vaccination
Laboratoire national de microbiologie
Winnipeg (Manitoba)