Pandémie grippale 2009 dans les armées : l'expérience du biologiste

D. Delaune[a], C. Bigaillon[a], J.-L. Koeck[b/c], A. Mérens[a/c]

a Fédération des laboratoires, HIA Bégin, 69 avenue de Paris – 94163 Saint-Mandé Cedex.
b Fédération des laboratoires, HIA Robert-Picqué, 351 route de Toulouse – 33882 Villenave d'Ornon Cedex.
c École du Val-de-Grâce, 1 place Alphonse Laveran – 75230 Paris Cedex 05.

Résumé

Au printemps 2009, l'émergence d'un nouveau variant de virus *influenzae* de type A présentant une morbi-mortalité apparemment élevée au Mexique a suscité la crainte d'une nouvelle pandémie grippale comparable à celle de 1918. Le passage rapide en phase 5 puis 6 d'alerte OMS et la découverte des premiers cas en France a conduit au déploiement de mesures sanitaires au niveau national. L'une de ses composantes était la mise en place d'un diagnostic biologique rapide et sûr. Les laboratoires de biologie des Hôpitaux d'instruction des armées ont rapidement été intégrés au réseau de diagnostic civil en raison de leurs infrastructures de niveau de sécurité P3 et de leurs capacités de diagnostic moléculaire. Cette activité diagnostique a aussi été réalisée au profit des unités et des troupes projetées. La mise en place de nouvelles techniques avec un niveau de biosécurité élevé, la formation du personnel à leur réalisation et leur validation, la gestion de l'afflux massif d'échantillons en sus de l'activité habituelle des laboratoires ont été autant de défis à relever. Si les chiffres de mortalité ont été moins élevés que ceux auxquels on pouvait s'attendre au cours d'une pandémie, la gestion de cet épisode a constitué un test de réactivité des laboratoires face à une situation inattendue et a permis d'évaluer les difficultés à surmonter en pareille situation.

Mots-clés : Armées françaises. Biosécurité. Diagnostic moléculaire. Grippe A (H1N1) pdm09. Pandémie.

Abstract

THE 2009 INFLUENZA PANDEMIC WITHIN THE FRENCH ARMED FORCES : THE EXPERIENCE OF THE MILITARY HOSPITAL LABORATORIES

March 2009. A new type of influenza A virus with abnormal morbidity and mortality emerged in Mexico. A pandemic similar to the 1918 influenza pandemic came to be feared. WHO alert level rapidly reached phases 5 and 6. The first cases described in France prompted the sanitary authorities to take measures among which the implementation of a rapid and reliable biological diagnosis. Military hospital laboratories quickly joined the civilian diagnosis network because of the quality of their equipment for biosecurity and molecular diagnosis. Diagnosis activity was also operated on military units and troops sent overseas. The laboratories had to face many challenges such as setting up new techniques with a high level of biosecurity, training staff and dealing with the massive amount of samples, on top of their usual activities. Even if the virus was less virulent than expected, this crisis was useful to test the reactivity of the laboratories and to assess the difficulties in this kind of situation.

Keywords: French armed forces. Influenza A(H1N1)pdm09. Pandemic. Bio-safety. Molecular diagnosis

Introduction

La grippe est une infection respiratoire aiguë contagieuse due aux influenzavirus A, B ou C de la famille des *Orthomyxoviridae*. Ces virus enveloppés ont pour réservoir naturel les oiseaux, en particulier les canards. Les types viraux A, B et C sont déterminés par la nature de leurs nucléoprotéines associées au génome. Les types A et B sont responsables des épidémies humaines actuelles. Le type A est divisé en sous-types distingués sur la base de leurs antigènes de surface : hémagglutinine (H1 à H15) – liaison aux acides sialiques cellulaires pour attachement et endocytose et neuraminidase (N1 à N9) – libération des nouveaux virions par destruction des sites

D. DELAUNE, médecin des armées, praticien confirmé. C. BIGAILLON, médecin en chef, praticien certifié. J.-L. KOECK, médecin en chef, praticien professeur agrégé. A. MÉRENS, médecin en chef, praticien professeur agrégé.
Correspondance : D. DELAUNE, Fédération des laboratoires, HIA Bégin, 69 avenue de Paris – 94163 Saint-Mandé Cedex.
E-mail : delaune.deborah@orange.fr

de liaison de l'hémagglutinine. Le type A est responsable des pandémies humaines. Les pandémies résultent de la concordance de différents éléments : un franchissement de la barrière d'espèce avec adaptation à un nouvel hôte, une contagiosité importante (transmission par voie respiratoire), des facteurs de virulence. Les pandémies de 1918, 1957 et 1968 avaient mis en évidence le risque majeur de diffusion de nouveaux variants virulents. Depuis 1997, la veille sanitaire surveillait étroitement l'émergence et la diffusion du variant aviaire A (H5N1) qui présente une létalité supérieure à 50 % chez l'homme. C'est le signalement d'un nombre anormal de cas graves et/ou mortels de grippe au printemps 2009 à Mexico qui a fait craindre l'arrivée d'une pandémie attendue et redoutée. L'apparition de ce nouveau variant à la morbi-mortalité apparemment élevée a nécessité la mise en place d'une réponse diagnostique rapide et sûre afin d'isoler et traiter les cas pour prévenir l'extension et limiter les conséquences de la pandémie.

Le contexte

L'émergence d'un nouveau variant grippal

Le génome des virus grippaux est un ARN monocaténaire segmenté (8 fragments pour les sous-types A et B, 7 fragments pour le sous type C) associé à des nucléoprotéines. Les déterminants de la barrière d'espèce sont entre autres liés aux types d'hémagglutinine et de neuraminidase. L'adaptation chez l'homme peut résulter :

– du passage direct de l'animal à l'homme puis de l'adaptation progressive par dérive antigénique (accumulation de mutations ponctuelles) ;

– ou de la production d'un nouveau variant chez l'homme ou un hôte intermédiaire animal par cassure antigénique (réassortiment des fragments d'ARN provenant de souches différentes).

En mars 2009, la survenue d'un rebond épidémique en fin de grippe saisonnière au Mexique avec apparition de cas aux États-Unis conduit la communauté médicale et scientifique à s'intéresser à cette souche d'émergence rapide, touchant de manière parfois grave des sujets jeunes sans antécédents notables. Ce nouveau variant a été isolé les 15 et 17 avril 2009 chez deux patients en Californie (1). La souche était issue d'un triple réassortant porcin possédant des fragments d'une souche porcine classique, d'une souche aviaire nord américaine et d'une souche humaine H3N2 (fig. 1). Une cassure antigénique a brutalement conféré à cette souche un fragment porcin H1N1 provenant lui-même d'une souche aviaire. Le nouveau variant H1N1 présent chez le cochon était adapté à la transmission à l'homme et à la diffusion dans la population. Une alerte est lancée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) le 24 avril 2009. Devant la diffusion rapide du virus sur le globe (Amérique du Nord puis Europe : Espagne, Royaume-Uni, France avec deux premiers cas importés fin avril et les premiers cas secondaires début juin (2)), le passage en phase d'alerte 5 (pandémie imminente) est déclaré le 29 mai, suivi de la phase d'alerte 6 (pandémie déclarée) le 11 juin 2009.

L'état des lieux des capacités diagnostiques

Dans le milieu civil

Trois réseaux participaient à la surveillance virologique de la grippe.

1. Le réseau grippe.

Au printemps 2009 la surveillance de la grippe et des Infections respiratoires aigues (IRA) dans la population générale reposait sur le réseau des Groupes régionaux d'observation de la grippe (GROG) regroupant des médecins généralistes et des pédiatres, la coordination nationale, les coordinations régionales et les laboratoires de virologie associés au réseau des GROG. Une surveillance hospitalière était également assurée par le réseau RENAL auquel participaient les laboratoires des Centres hospitaliers universitaires (CHU). Les Centres nationaux de référence (CNR) des virus influenzae des régions Nord (Institut Pasteur-Paris) et Sud (Lyon) et leur laboratoire associé (Institut Pasteur-Guyane) participaient à la surveillance virologique de la circulation des virus grippaux et autres virus respiratoires responsables d'infections respiratoires aiguës. Ils assuraient également l'identification des virus grippaux et leur caractérisation antigénique et génétique afin d'évaluer l'adéquation de la composition vaccinale avec les virus circulants et de surveiller l'évolution de la résistance des souches aux antiviraux.

2. Le réseau H5N1.

Le risque d'émergence d'une épidémie de grippe aviaire en particulier du variant H5N1 avait conduit à la mise en place d'un réseau de laboratoires agréés pour le diagnostic de ce variant (laboratoires des CNR et 15 laboratoires de virologie). La surveillance épidémiologique était assurée par l'Institut de veille sanitaire (InVS).

3. Les laboratoires LSB3.

Vingt-deux laboratoires hospitaliers (10 CHU, 3 laboratoires outre mer et 6 Hôpitaux d'instruction des armées) équipés de laboratoires de niveau de sécurité LSB3 étaient agréés pour le diagnostic des agents B.

Dans les armées

Les laboratoires des Hôpitaux d'instruction des armées (HIA) participaient à deux réseaux de surveillance, aucun n'étaient intégré dans le réseau civil H5N1.

1. Le réseau grippe.

Le Système militaire d'observation de la grippe (SMOG) était basé sur une surveillance épidémiologique assurée par des centres médicaux d'unités désignés (unités sentinelles) en relation avec le Département d'épidémiologie et de santé publique – devenu depuis le Centre d'épidémiologie et de santé publique des armées (CESPA).(Voir dans ce dossier l'article de Mayet A, et al.) (3). Les HIA assuraient un diagnostic de dépistage basé sur des tests immunologiques. Enfin, l'HIA du

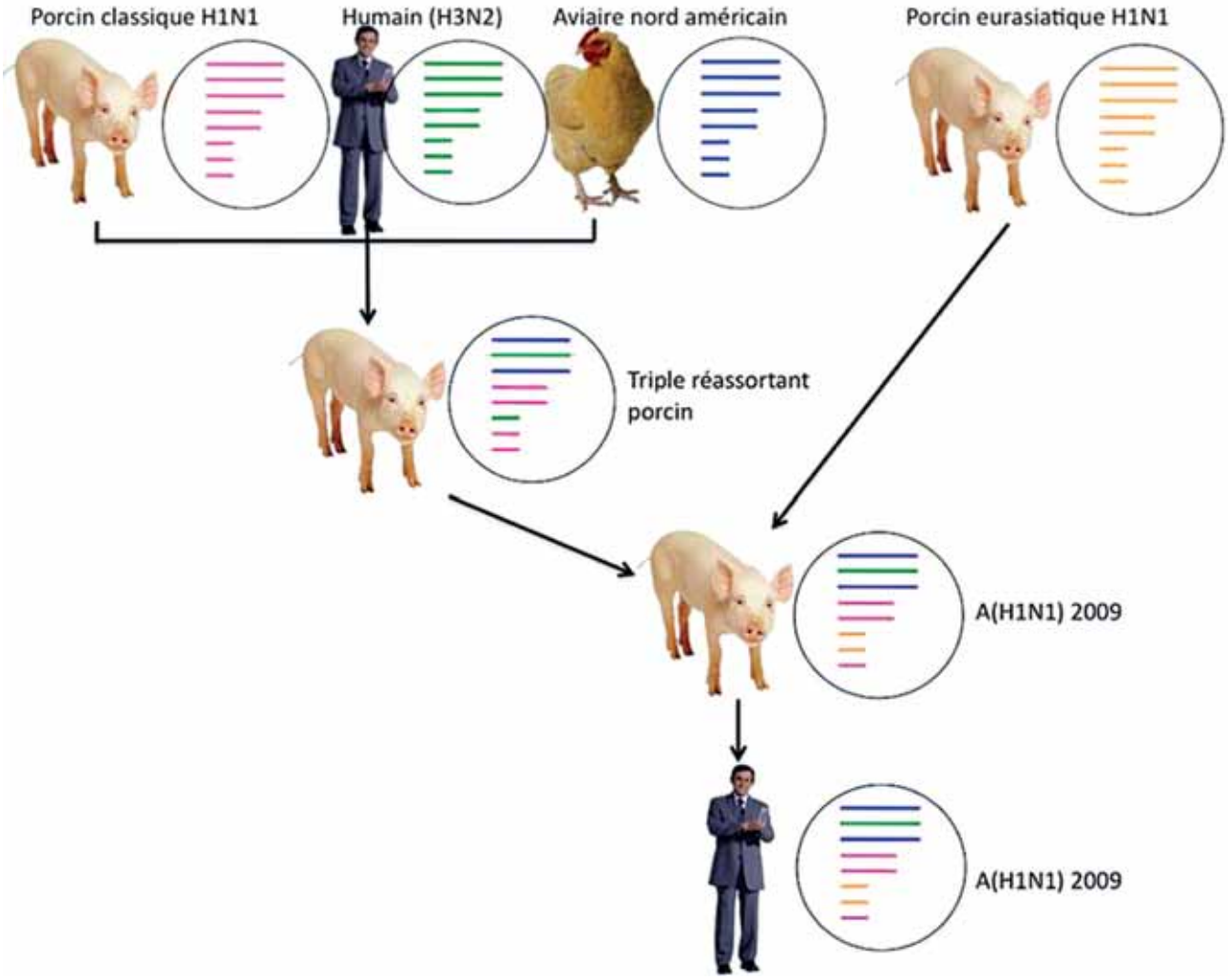


Figure 1. Origine du variant A (H1N1) pdm09 (HIA Bégin).

Val-de-Grâce (centre coordonnateur militaire) et l'HIA Robert Picqué réalisaient le diagnostic des souches circulantes par biologie moléculaire.

2. Les laboratoires LSB3.

Les HIA Val-de-Grâce, Bégin, Clermont-Tonnerre, Legouest, Robert Picqué et Laveran possédaient un laboratoire de niveau LSB3 fonctionnel.

La réponse des laboratoires de biologie au sein des armées

L'implication des laboratoires de biologie des HIA

La circulation de cette nouvelle souche a requis la mise en capacité diagnostique de laboratoires de virologie.

En région parisienne, entre les semaines 18 et 24 ; le diagnostic du nouveau variant grippal reposait sur deux laboratoires civils agréés (CHU Bichat et Pitié-Salpétrière), en complément de la Cellule d'investigation biologique d'urgence (CIBU) de l'Institut Pasteur, travaillant dans des conditions strictes de confinement LSB3. L'objectif était d'assurer le diagnostic des cas d'importation. L'apparition des premiers cas autochtones et la diffusion du virus – en milieu scolaire notamment – a rapidement conduit à la saturation des capacités diagnostiques de ces laboratoires. Les autorités ont alors fait appel aux deux laboratoires militaires parisiens (HIA Bégin et Val-de-Grâce) disposant de LSB3 fonctionnels et d'outils de biologie moléculaire. Ces deux laboratoires ont été intégrés officiellement au réseau le 8 mai 2009. À compter de mi-juin, ils ont été totalement intégrés dans le dispositif civil de prise en charge des échantillons biologiques et ont notamment géré les cas groupés dans les écoles du 15e arrondissement parisien. Début juillet, le niveau de biosécurité requis a évolué : il était demandé de travailler avec des procédures de niveau L3 dans un environnement L2. Lors de la semaine 28, 3 autres laboratoires de CHU ont été agrées. La configuration définitive en Ile-de-France regroupait 18 laboratoires, mais celle-ci n'a été obtenu qu'en fin d'année 2009, entre les semaines 36 et 50 (4).

En province, les quatre HIA disposant d'un LSB3 fonctionnel (Robert-Picqué, Legouest, Laveran et Clermont-Tonnerre) ont également été officiellement intégrés au réseau national le 8 mai 2009 et activés progressivement.

Au niveau national, le réseau définitif « grippe A » était composé de 32 laboratoires (26 en métropole et 6 outre-mer) dont 6 laboratoires des HIA.

La montée en puissance

Pour les laboratoires nouvellement intégrés au dispositif, les contraintes ont été lourdes, cette activité venant s'ajouter au fonctionnement habituel. Après la parution de la liste officielle des laboratoires du réseau, intégrant les six HIA, le délai de quelques jours nécessaire à l'intégration en pratique des laboratoires des HIA dans la répartition territoriale a permis aux équipes de finaliser les procédures techniques de diagnostic. Après l'étape de la mise en place et la validation de techniques nouvelles de biologie moléculaire en accord avec les CNR Nord (Institut Pasteur de Paris) et Sud (Lyon), la formation de nouveaux techniciens et biologistes a été incontournable pour assurer la continuité de service sur une longue période. En effet, les analyses réalisées dans les laboratoires de biologie des HIA étaient effectuées principalement au profit des hôpitaux civils. À titre d'exemple, en région parisienne, chaque laboratoire agréé était destinataire des échantillons en provenance des établissements d'une zone géographique donnée. La survenue de cas groupés, l'inquiétude liée à la virulence redoutée du virus et le décalage entre les évolutions successives des indications de prélèvement et leur application en clinique ont rapidement engendré une escalade de l'activité. À partir de mi-juillet et jusqu'au début du mois d'octobre, les HIA Bégin et Val-de-Grâce ont assuré à tour de rôle un jour sur deux la prise en charge des échantillons provenant de l'ensemble des hôpitaux périphériques d'Ile-de-France (30 correspondants environ), de l'Ensemble hospitalier militaire parisien (EHMP) et des Centres médicaux des armées (CMA). Les correspondants civils étaient répartis sur les départements 78, 92, 94, 95, le sud du département 93 mais également Paris intra-muros. Trente-cinq à quarante échantillons étaient acheminés quotidiennement dans les HIA parisiens au cours de l'été, ce nombre augmentant au cours de l'automne pour atteindre des pics à plus de 100 échantillons par jour (en particulier le lundi). Se sont également ajoutées dès fin juin des gardes de week-end en alternance avec les CHU agréés, pour assurer le traitement rapide des échantillons prélevés les jours non ouvrés.

L'arrivée de nouveaux laboratoires dans le réseau en octobre a permis la réduction de la zone géographique attribuée aux HIA parisiens à deux départements qui à eux seuls généraient une activité supérieure aux capacités diagnostiques journalières.

De même, en province, les HIA étaient totalement intégrés au réseau civil. Certains laboratoires des HIA étaient les seules structures agréées dans un département donné pour le diagnostic moléculaire de la grippe et ont donc assuré pendant plusieurs mois cette activité au profit des établissements civils.

Les problèmes à résoudre

Indications des prélèvements

La nécessité d'obtenir les informations cliniques utiles s'est vite avérée incontournable pour vérifier l'adéquation de l'indication aux recommandations nationales et organiser le traitement des échantillons par ordre de priorité (cas graves, patients fragiles ou à risque de formes graves, risque de résistance au traitement antiviral, entourage à risque…). Une fiche de renseignements standardisée a rapidement été mise à disposition des cliniciens mais son remplissage partiel a régulièrement nécessité l'appel téléphonique par un biologiste pour l'obtention des informations indispensables.

Matériel et transport des échantillons

La mise à disposition du matériel nécessaire pour les prélèvements (écouvillons et milieux de transport dédiés aux virus) n'a pas toujours été simple, en raison d'une augmentation drastique du nombre de commandes et de rupture de stocks chez les fournisseurs. L'acheminement vers les laboratoires répondait à l'instruction P650 pour le transport des matières infectieuses, avec un triple emballage agréé. Le nombre important d'échantillons a conduit à une sollicitation massive des sociétés de transport.

Traitement des échantillons au laboratoire

La mise en place des techniques, le niveau de biosécurité initial et l'afflux rapide d'un grand nombre d'échantillons notamment en raison de cas groupés au printemps et au début de l'été ont été des éléments chronophages majeurs dans l'activité de routine des laboratoires. Les conditions de réalisation du diagnostic du nouveau variant et les techniques utilisées ont évolué au cours de la pandémie suivant les connaissances nouvelles sur le virus : virulence, dérive génétique, sensibilité et spécificité des nouvelles techniques.

Lors de l'agrément initial des premiers laboratoires à partir de fin avril, un niveau de biosécurité LSB3 était requis pour l'inactivation des échantillons et la mise en culture. Cette mesure permettait d'assurer la sécurité du personnel, mais entrainait nécessairement une limitation du nombre de laboratoires dans le réseau ainsi qu'un ralentissement du traitement des échantillons. Le déclassement du virus en classe 2 de risque biologique n'est intervenue officiellement qu'à la semaine 48 (en pratique les conditions de sécurité de type LSB2 étaient appliquées dès la semaine 36). Le niveau de sécurité biologique requis étant resté élevé pendant une longue période, les premiers laboratoires intégrés au réseau ont été rapidement saturés par le nombre d'échantillons et les personnels impliqués dans l'activité ont été contraints par les conditions strictes de travail.

Afin de réaliser un diagnostic précis et rapide, la mise au point et la diffusion de techniques moléculaires, de témoins positifs et d'algorithmes décisionnels ont été réalisées par les CNR. Le diagnostic initial reposait sur une inactivation du prélèvement, suivi d'une étape d'extraction de l'ARN (souvent réalisée en technique

manuelle) puis sur la réalisation de trois RT-PCR en temps réel permettant la détection :

– d'un « gène de ménage » cellulaire, la GAPDH, marqueur de bonne qualité de prélèvement et d'extraction ;

– du gène M commun à tous les virus de sous-type A ;

– du gène H1 spécifique du variant A (H1N1) pdm09 ;

la dérive génétique du virus a conduit par la suite à la mise au point d'une nouvelle RT-PCR ciblant le gène N1 à l'automne 2009.

La nécessité de trois RT-PCR par échantillon limitait à 8 le nombre de patients par « *run* » donc le traitement de 8 échantillons représentait en moyenne 5 heures de travail d'un technicien.

Les groupes commerciaux ont axé leur activité de développement sur la mise au point de nouvelles techniques performantes et rapides (réalisation de plusieurs RT-PCR en une seule manipulation). Mais leur développement a été long et, dans ce dispositif de gestion interministérielle de crise, leur utilisation a nécessité une évaluation initiale des performances par les CNR ou des laboratoires associés. Leurs performances diagnostiques étaient de bon niveau (> 92 % de concordance avec la technique CNR) (5). Ils ne se sont malheureusement avérés utilisables qu'à la fin de l'année 2009, c'est à dire à la fin de la période d'afflux des prélèvements.

L'achat de ces réactifs nécessaires au diagnostic moléculaire de la grippe a représenté un surcoût majeur et forcément non anticipé dans le budget des laboratoires.

Des Tests de diagnostic rapide (TDR) des virus grippaux A et B basés sur des techniques immuno-chromatographiques sur bandelettes étaient disponibles avant le début de la pandémie. L'évaluation de la sensibilité et de la spécificité de ces tests pour le diagnostic du nouveau variant a été une nécessité avant leur éventuelle utilisation en routine. Ces tests ont rapidement montré une faible sensibilité pour le diagnostic du virus A (H1N1) pdm09 : 38,3 % à 58,3 % dans une étude portant sur 84 échantillons positifs en RT-PCR et évaluant trois TDR (6). Leur manque de sensibilité concernait essentiellement les patients avec une charge virale modérée à faible. Leur utilisation n'a donc jamais été validée dans les arbres diagnostiques ou décisionnels.

Rendu des résultats

Le contexte pandémique, l'inquiétude des patients ou des familles, la médiatisation, l'implication des diverses structures (DGS, InVS, CNR, SMUR, services d'urgence, service d'hospitalisation, équipes opérationnelles d'hygiène hospitalière, médecins scolaires), la dispersion géographique des échantillons et la notion d'urgence ont totalement modifié le schéma classique de rendu des résultats. Outre l'information rapide du prescripteur (appel téléphonique par un biologiste), les résultats étaient rendus sous forme papier pour la traçabilité dans le dossier patient. Malgré tout, pour un même patient, de multiples appels étaient reçus quotidiennement. Enfin, un compte-rendu journalier incluant les résultats des échantillons reçus, renseignements épidémiologiques et indications, et les critères de gravité était saisi par un biologiste dans un tableau Excel standardisé et envoyé chaque jour par mail à l'InVS.

Observatoire des souches

Les premières souches isolées étaient systématiquement envoyées aux CNR. Puis, devant l'afflux d'échantillons positifs, seules les souches à l'origine de cas graves (hospitalisation en réanimation ou décès) ou suspectées de résistance aux molécules utilisées en prophylaxie ou traitement ou à la vaccination ont été envoyées.

Prise en compte des particularités liées au service

La nécessité d'une surveillance et d'un dépistage de toute épidémie due au nouveau variant dans les Armées est rapidement devenue une nécessité afin de préserver les capacités opérationnelles des unités. Afin d'assurer un diagnostique virologique rapide, les laboratoires militaires pouvant réaliser le diagnostic de la grippe ont fourni les dispositifs nécessaires (écouvillons de prélèvement, milieux de transport, triples emballages, fiches de renseignements) aux unités soutenues.

L'activité diagnostique habituelle au profit du SMOG était poursuivie.

La question du soutien des troupes projetées en opérations extérieures s'est imposée à l'approche de la saison hivernale, en particulier pour les forces déployées en Afghanistan où le climat hivernal est propice à l'apparition d'épidémies de grippe. Dès septembre, des cas de syndromes grippaux ont été signalés parmi les troupes et la population afghane. En octobre, deux cas de grippe survenus au sein de la coalition ont nécessité une hospitalisation en réanimation à l'Hôpital Médico-chirurgical (HMC) Kaia de Kaboul. L'envoi d'une équipe et de matériel à l'HMC Kaia pour réaliser le diagnostic de la grippe par RT-PCR temps réel au profit des forces de la coalition et de la population afghane a été effectué en novembre 2009.

Le bilan de l'activité

Au total, entre la semaine 30 de l'année 2009 et la semaine 10 de l'année 2010, 103 352 échantillons ont été analysés par les laboratoires des réseaux « grippe A », RENAL et GROG. Il a été détecté 24 279 échantillons positifs. Le taux de positivité hebdomadaire variait de 0 % à 43 %. Le pic de détection des virus A (H1N1) pdm09 a été observé en semaine 48. La fin de l'épidémie a été enregistrée fin décembre. Des cas ont été diagnostiqués jusqu'en avril. Quelques virus saisonniers A (H1N1), A (H3N2) et B ont été diagnostiqués (7).

Concernant l'activité au profit des armées, 649 prélèvements rhinopharyngés ont été réalisés par le SMOG : 249 étaient positifs (38,4 %) (8). La proportion moyenne d'échantillons positifs lors du pic épidémique était de 58 %. Le virus A (H1N1) pdm09 représentait 96 % des virus grippaux isolés par le SMOG durant l'épidémie. Les autres virus retrouvés étaient de type A non spécifié (9 virus) et de type B (1 virus) (7).

En Afghanistan, entre le 30 octobre et le 20 décembre, 52 prélèvements ont été reçus et 50 analysés, 38 % des échantillons analysés étaient positifs. Trois patients ont nécessité une hospitalisation dont un dans un

état grave. Aucun patient français n'a été hospitalisé. Aucun cas grave n'a été diagnostiqué au sein des troupes françaises (9).

Les enseignements

Le variant grippal A (H1N1) pdm09 a été à l'origine d'une morbi-mortalité moins importante que ce qui était redouté. Selon l'INVS, un premier bilan faisait état de 1 334 cas graves et 312 décès notifiés en France (10). Cette pandémie grippale a cependant été le premier épisode de mise en place de mesures sanitaires majeures face à une menace virale depuis la création du réseau H5N1, pandémie attendue et redoutée du début du XXIe siècle. Il a ainsi été possible de mettre en évidence les difficultés auxquels les autorités sanitaires sont confrontées en pareille situation. Concernant l'implication des laboratoires de diagnostic, les aspects essentiels sont les suivants :

1. La circulation d'un nouvel agent ou nouveau variant nécessite la mise au point de techniques de diagnostic sensibles et spécifiques en urgence puis leur diffusion auprès des laboratoires pouvant assurer le diagnostic. Cette tâche incombe aux CNR en raison du degré d'expertise requis. Devant un nouveau variant, la mise au point de kits commerciaux (biologie moléculaire et TDR) et leur évaluation par comparaison à la technique de référence nécessite en moyenne 3 à 4 mois. Ces recommandations élaborées et diffusées par les CNR et les réseaux (indications de prélèvements, algorithme diagnostique, choix des méthodes) nécessitent du temps, une mise à jour permanente en fonction des données moléculaires, biologiques et épidémiologiques disponibles mais ne peuvent anticiper l'évolution moléculaire et épidémiologique virale. Un décalage temporel est donc inévitable entre l'observation d'événements ou de tendances et l'officialisation des recommandations. De plus, leur application en pratique, notamment pour les indications de prélèvements, subit une nouvelle phase de retard en raison des délais d'information de tous les acteurs et de leur intégration dans la pratique quotidienne, en particulier dans un contexte d'anxiété et de demande du patient.

2. Les laboratoires agréés pour le diagnostic biologique doivent disposer de certains pré-requis : disponibilité de techniques de biologie moléculaire (automates et personnel habilités à la réalisation, à l'interprétation et au rendu des résultats), niveau de biosécurité adéquat tant que la virulence de l'agent n'a pas été déterminée (laboratoires de niveau de sécurité LSB3 avec personnels formés et habilités au travail dans ces conditions particulièrement contraignantes).

3. Ces laboratoires doivent de plus être capables de réactivité : mise en place et validation de nouvelles techniques en un temps très court, ré-organisation du fonctionnement du laboratoire : personnels techniciens et biologistes dédiés à cette nouvelle activité tout en assurant l'activité habituelle, mise en place d'une réception spécifique de ces échantillons 24h/24h, réalisation du diagnostic les jours non ouvrés (week-end et jours fériés).

4. La dimension financière d'une telle activité doit également être soulignée, aucune structure n'ayant participé au réseau diagnostic de la pandémie 2009 n'ayant été indemnisé des surcoûts engendrés :

– achat de consommables : tenues spécifiques, masques, gants ;

– achat de réactifs de biologie moléculaire souvent coûteux voire location de nouveaux automates d'extraction ou de PCR temps réel ;

– masse salariale liée aux gardes supplémentaires des techniciens de laboratoires.

Ces aspects sont certes mieux appréciés à ce jour mais les difficultés à surmonter demeureront les mêmes au cours de la survenue d'une nouvelle pandémie, l'agent, la période, le mode de diffusion et les populations concernées étant par définition imprévisibles.

Les auteurs ne déclarent pas de conflit d'intérêt concernant les données présentées dans cet article.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Dawood FS, Jain S, Finelli L, Shaw MW, Lindstrom S, Garten RJ, et al: Emergence of a novel swine-origin influenza A(H1N1) virus in humans. N Engl J Med 2009;360:2605-15.
2. Jeannot AC, Hamoudi M, Bourayou N, Tabuteau C, Garandeau C, Trapateau JM, et al. First cases of secondary transmission of a novel swine-origin influenza A(H1N1) virus in france. Med Mal Infect 2010;40:48-50.
3. Mayet A, Meynard JB, Manet G, Haus-Cheymol R, Decam C, Ligier C, et al. Pandémie grippale 2009 dans les armées : l'expérience de l' épidémiologiste. Médecine et Armées 2012;40:417-24.
4. Seringe E, Agut H. The Ile-deFrance medical virology Network against Influenza A(H1N1)-2009. The response of medical virology laboratories to the influenza A(H1N1)-2009 outbreak in ile-de-france region (article soumis).
5. Van der Werf S, Lina B, Enouf V, Rousset D, Valette M, Bouscambert-Duchamp M, et al: Rapport d'activité annuel. Saison 2009-2010. Centre national de référence des virus influenzae.
6. Vasoo S, Stevens J, Singh K. Rapid antigen tests for diagnosis of pandemic (swine) influenza A(H1N1). Clin Infect Dis 2009;49:1090-3.
7. Rousset D, Bouscambert-Duchamp, M, Enouf V, Valette M, Grog I, Caro V, et al: Épidémie de grippe A(H1N1) 2009 en France : les paramètres virologiques. Bull Epidémiol Hebd. 2010;24-25-26:272-4.
8. Mayet A, Duron S, Nivoix P, Haus-Cheymol R, Ligier C, Gache K, et al. Novel influenza A(H1N1) outbreak among french armed forces in 2009: Results of Military Influenza Surveillance System. Public Health 2011;125:495-500.
9. Maslin J, Ducher P, Fourel D, Causse Le Dorze P. Ddeployment of a mobile rt-pcr laboratory molecular biology to deal with the A(H1N1) challenge in kaboul. Med Mal Infect 2010;40:650-3.
10. Vaux S, Brouard C, Fuhrman C, Turbelin C, Cohen JM, et al. Dynamique et impact de l'épidémie A(H1N1) 2009 en france métropolitaine, 2009-2010. Bull Epidémiol Hebd. 2010;24-25-26:259-64.