

Problématique du diagnostic dans les pays en voie de développement : l'exemple des fièvres hémorragiques virales

Sylvain Baize

CNR des Fièvres Hémorragiques Virales

*Unité de Biologie des Infections Virales Emergentes, Institut
Pasteur*

Centre International de Recherche en Infectiologie, Lyon

Actualités du PHARO – 5-7 octobre 2016

Problématique des FHV causées par des agents du groupe à risque 4 dans les pays endémiques

Flaviviridae

Virus de la fièvre jaune

Virus de la dengue

Virus de la FH de la forêt de Kyasanur

Virus de la FH d'Omsk

Filoviridae

Virus Ebola

Ebola Zaïre

Ebola Soudan

Ebola Côte d'Ivoire

Ebola Bundibugyo

Virus Marburg

Arenaviridae

Virus Lassa

Virus Lujo

Virus Junin

Virus Guanarito

Virus Machupo

Virus Sabia

...

Bunyaviridae

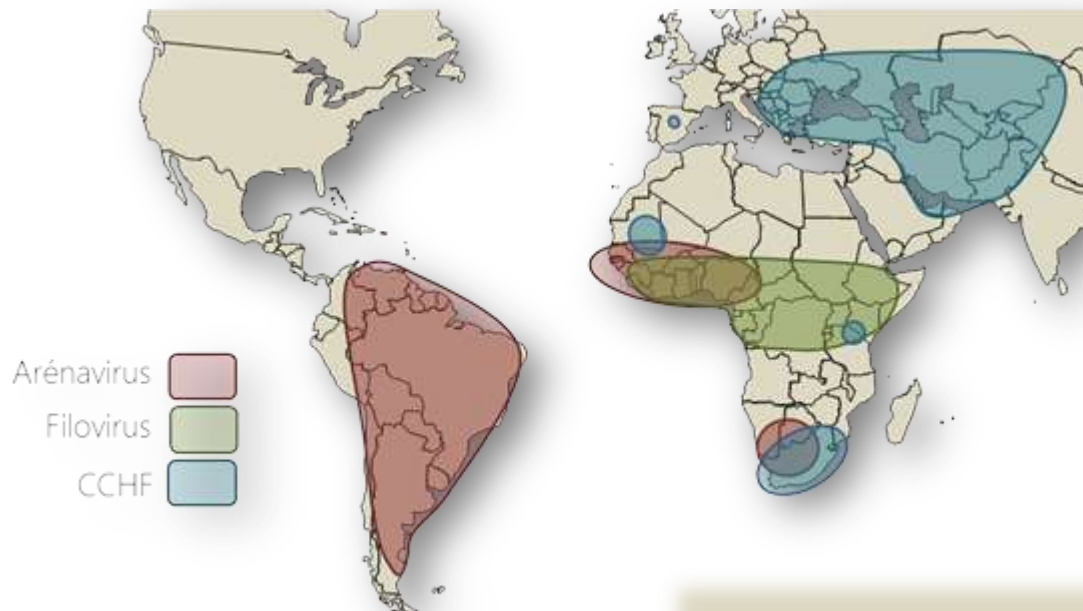
Genre: Nairovirus

Virus de la FH de Crimée-Congo

Bunyavirus

Virus de la fièvre de la vallée du Rift

Hantavirus



Problématique :

- Epidémies ponctuelles et imprévisibles
- Syndrome évocateur d'infections plus fréquentes (palu, dysenterie...)
- Surviennent souvent dans des zones reculées / pas de structures de santé
- Diagnostic difficile (pas/peu de kits commerciaux)
- Forte contagiosité et mortalité, pas de traitement ni vaccin
- Biosécurité: manipulation BSL4

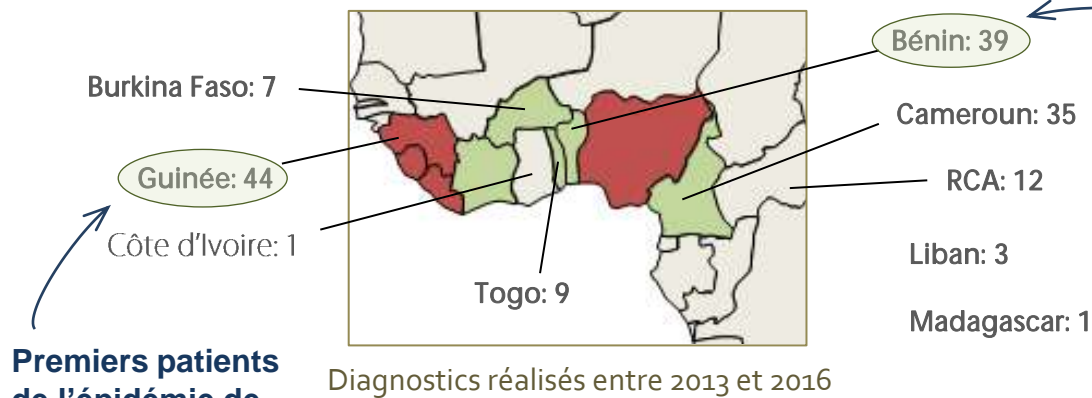
Souvent pas de diagnostic possible dans le pays

Rôle du CNR FHV dans la surveillance épidémiologique

Aider les pays n'ayant pas de capacité diagnostique à surveiller l'émergence de FHV

- **Transfert des échantillons à Lyon** : allongement des délais et coûts de transport élevés

mais, diagnostic dans un centre de référence



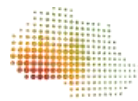
Dont 27 patients issus de l'épidémie de fièvre de Lassa survenue en 2016

Coût de transport:

De 2 500 € : un colis UN 2814 (< 50 mL)
à 48 000 € : 550 tubes Ebola + rapatriés de Conakry (étude EBOLA-TX)

Premiers patients de l'épidémie de MVE

avec l'aide de



resalab



Si négatif: transfert possible des échantillons au **CNR arbovirus** (IRBA, Marseille)

Aider ces pays à acquérir une capacité diagnostique

- Conseil technique au Cameroun et à la Côte d'Ivoire pour mettre en place le diagnostic Ebola
- Conseil à la Côte d'Ivoire et au Burkina Faso pour mettre en place des structures de confinement (de niveau 3: BF, 3 et 4: CI)

Exemple de la Guinée

Mars 2014 : l'OMS est informée qu'une épidémie de FHV est en cours en Afrique de l'Ouest (Sud-Est Guinée)

- Maladie transmissible
- Fièvre
- Diarrhée sévère
- Vomissements
- Mortalité très élevée

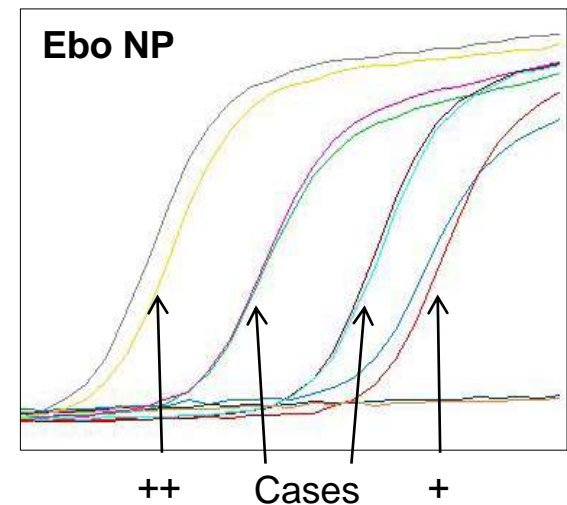
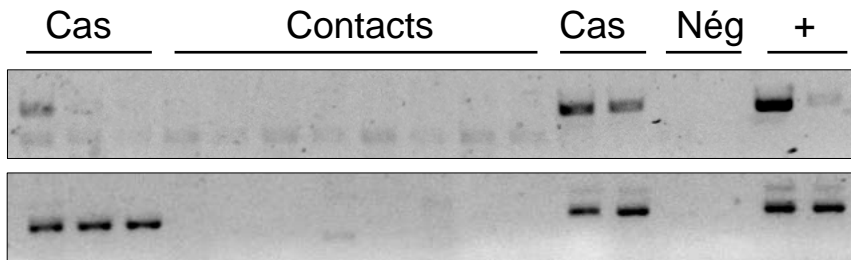


Equipe envoyée à Guéckédou (MSF et Min. Santé Guinéen)



1^{ère} série d'échantillons pour le CNR FHV (Lyon, 21/03/2014)

Gène L (polymérase)



Epidémie de MVE déclarée à l'OMS le 21/03/2014

Cas index : début décembre 2013 ...

Diagnostic de terrain en temps de crise : Exemple de l'épidémie de MVE 2014-2015

Un Centre de traitement Ebola a été établi par le Ministère des Affaires Etrangères et géré par la Croix-Rouge à Macenta (Guinée)



Besoin urgent d'un laboratoire au sein du CTE

- ~ Demande du Ministère d'établir un laboratoire qui devra fonctionner au moins 9 mois (23/09/2014)
- ~ Elaboration et mise en place du laboratoire par le CNR et l'UBIVE
- ~ Premiers diagnostics réalisés le 29/11/2014, fermeture mi décembre 2015

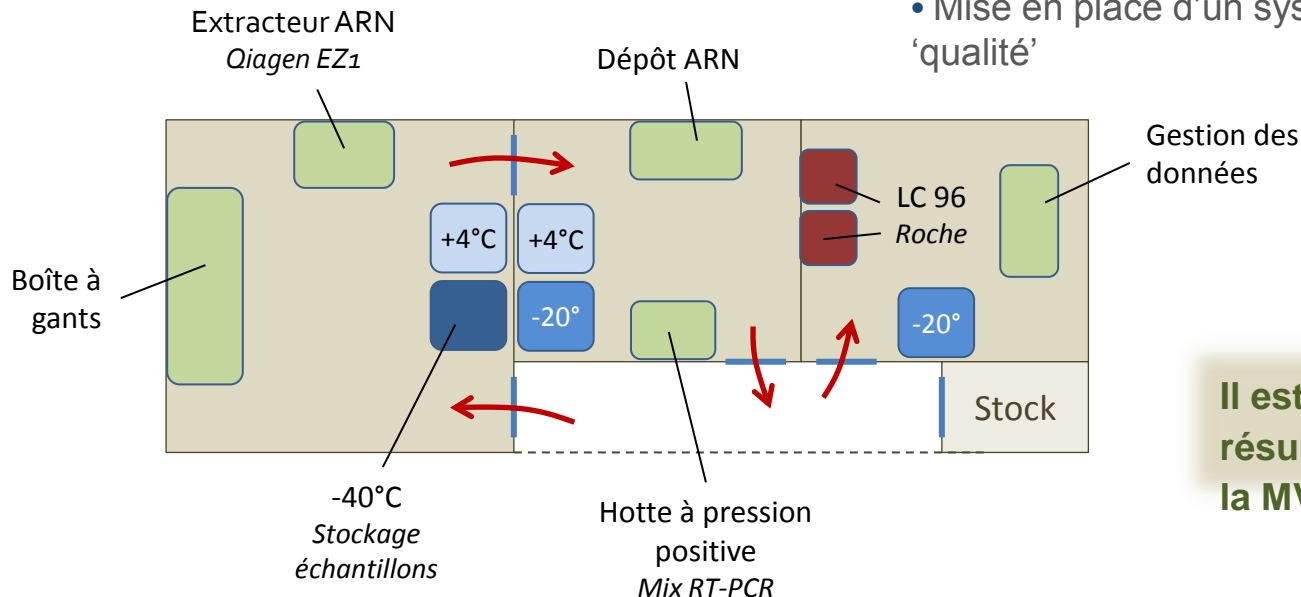
Spécifications du laboratoire : mise en place d'un 'système qualité'

- Formation des personnels, validation et rendu de résultat réservés au personnel habilité et qualifié
- Un 'chemin' de PCR rigoureux pour assurer de bonnes pratiques et une qualité constante et durable
- Duplication des équipements critiques pour assurer un service permanent, alimentation électrique secourue



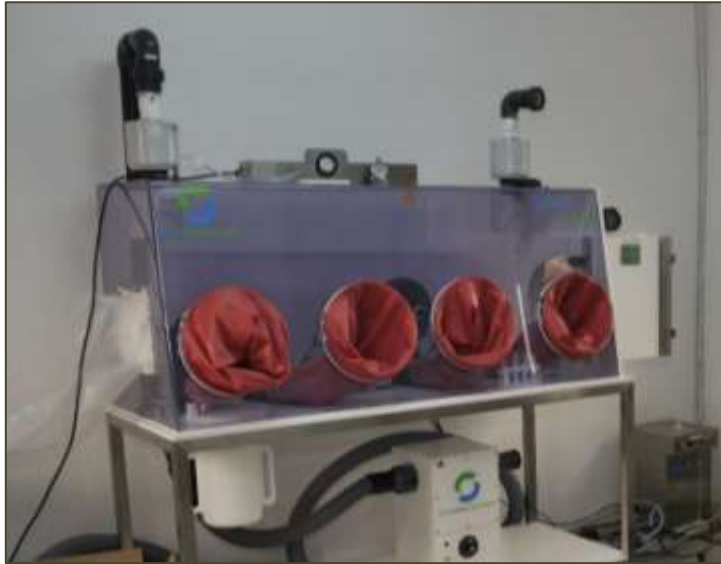
- Utilisation d'un kit diagnostic validé (CE) et d'un contrôle interne d'extraction et d'inhibition de PCR

- Mise en place d'un système documentaire 'qualité'



Il est crucial de rendre un résultat fiable dans le cas de la MVE

Spécifications du laboratoire : assurer un niveau de biosécurité optimal



Rotation de personnels pas nécessairement très expérimentés pour ce type de manipulation

~ Les prélèvements infectieux sont manipulés en PSM3

-200 Pa, sas entrée

Stérilisation quotidienne (*acide peracétique*)

Double décontamination des déchets

(*eau de javel et acide peracétique*)

Evacuation des déchets dans des sacs scellés et incinération immédiate

~ EPI portés en plus par les personnels pour doubler la sécurité
(*échantillons infectieux transférés en simple emballage*)



L'équipement

~ Une centrifugeuse dans le PSM3 pour une préparation correcte des échantillons



~ Un extracteur d'ARN (14 échantillons en 45')



~ 2 Light Cyclers 96 (format plaque 96 puits)



~ Un PICCOLO et deux iSTAT pour réaliser des analyses biochimiques

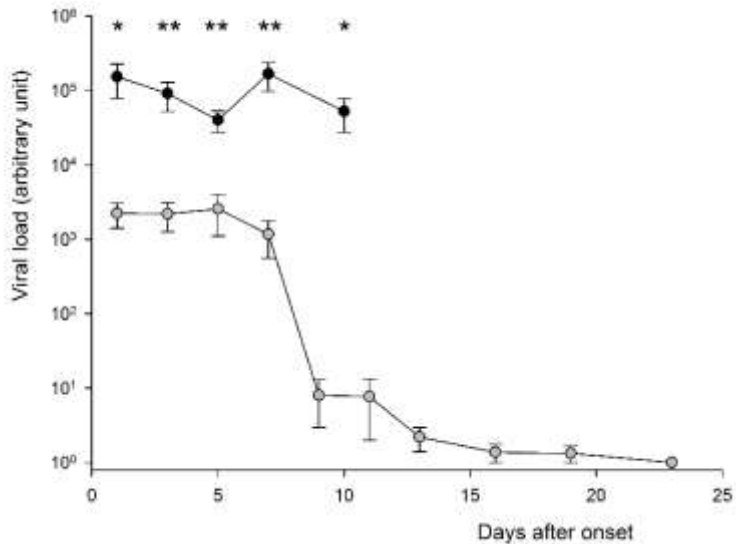
Réalisées sous PSM3

Difficulté: préservation du matériel en dépit de la stérilisation quotidienne

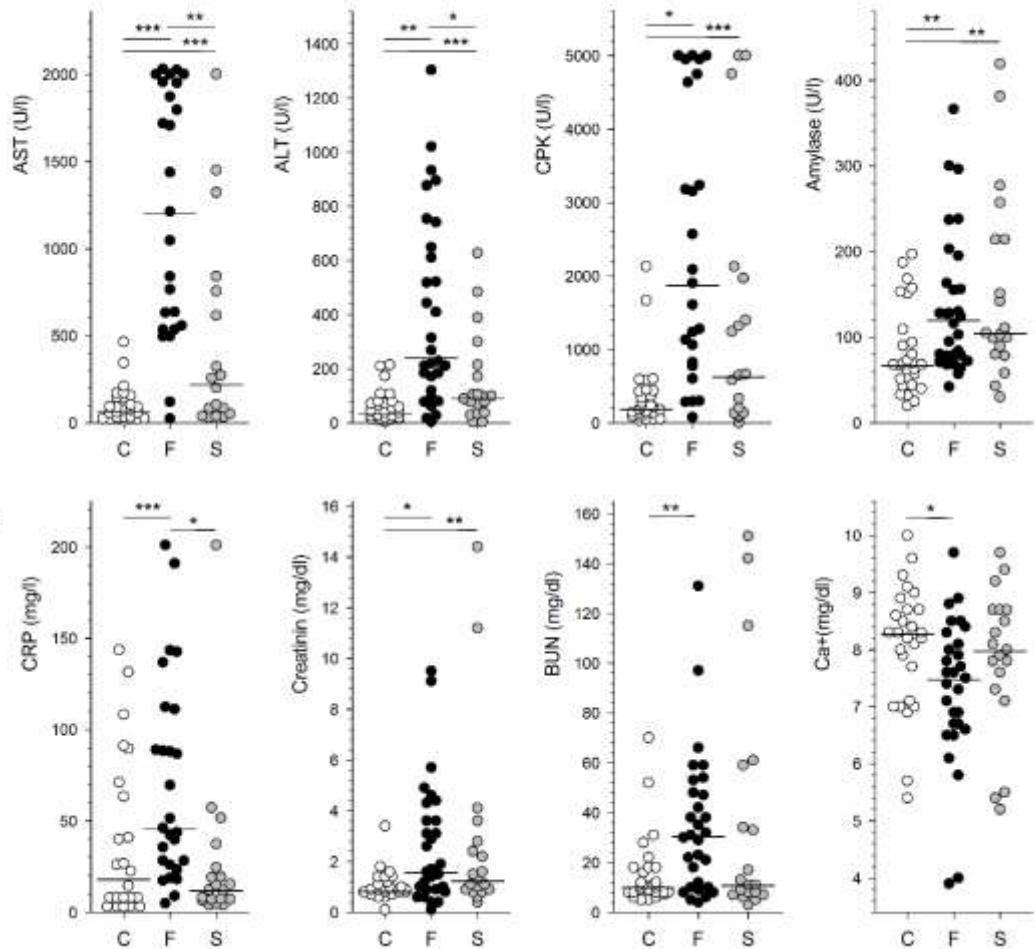


Permet de traiter un grand nombre d'échantillons par jour
Conservation optimale des échantillons (1 congélateur -40 C, 2 à -20 C)

Du diagnostic à l'optimisation de la prise en charge des patients




- Suivi quantitatif de la virémie
- Suivi de l'évolution des paramètres biochimiques chez les patients



Optimisation de la prise en charge des patients / essais ou projet de recherche cliniques

Biobanques et agents du groupe à risque 4 en zone d'endémie

Nécessité d'associer 'biosécurité – sûreté biologique – conservation optimale'



Présence d'un labo
'P4' dans le pays
(ou au moins d'un P3 avec
PSM3)

Stockage sécurisé
et risque terroriste

Assurer un stockage à
long-terme des
échantillons et une
traçabilité optimale
(**CRB**)

~ Conditions difficiles à remplir pour le moment dans la plupart des pays :

Structures de niveau 4 uniquement au Gabon et en Afrique du Sud à ce jour

En prévision en Côte d'Ivoire (IP Abidjan, projet P4 et CRB)

Aujourd'hui, il est toujours souhaitable de transférer les échantillons, mais il est important de rendre possible la constitution de biobanques dans les pays endémiques

Développer les capacités de diagnostic et de surveillance dans les pays endémiques

Mise en place de structures pérennes et de collaborations scientifiques

Remerciements



CIBU (formation personnels): C. BATEJAT

Autres départements

Marc JOUAN
A. GRANIER-BLANC, K. VICTOIR
J. HEURLEY, M. RABENORO
C. ROUSSEAU



Stephan Günther
Lisa Oestereich
Toni Rieger
Martin Gabriel
Dennis Tappe
Jonas Schmidt-Chanasit



Ministère de la Santé

Sakoba Keita
Lamine Koivogui



resaolab

Jean-Louis Machuron
François-Xavier Babin
Christophe Longuet



CNR FHV-UBIVE

Delphine PANNETIER
Alexandra FIZET
Stéphanie REYNARD
Justine SCHAEFFER
Mathieu MATEO
Nicolas BAILLET

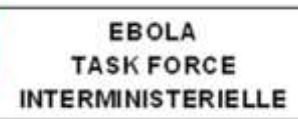


Ministère des Affaires Etrangères

Dr Clément TARON-BROCARD
Dr Christophe SCHMIT

Ambassade de France à Conakry

SE Bertrand COCHERY
Col. R. DEVOUGE



Dr Harold NOEL
Dr Alexandra MAILLE
Dr Henriette DE VALK



CTE de Macenta



CTE de Nzerekore



Michel Van Herp
Hilde de Clerck
Gemma Dominguez