

Viroses respiratoires

- du bon usage des outils diagnostiques

les nouveaux et les autres

06-11-2012

Equipe du laboratoire de Virologie – CHU de Nancy

Les virus et Syndromes respiratoires

- Problématique

Majeure

- Objectifs

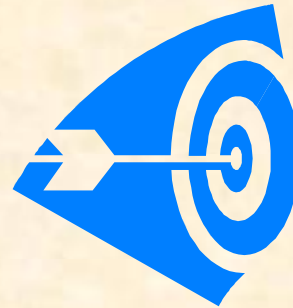
Outils diagnostiques au laboratoire

Logistique et proposition de C.A.T.

Les virus en cause

- Quels virus rechercher ?

- pas de virus commensal
- fonction clinique/contexte



- Pathogènes

- majeurs classiques

ex. virus grippaux, VRS, Métapneumovirus

- infections respiratoires hautes ou basses ...

Les virus et Syndromes respiratoires

- Infections respiratoires hautes

- rhinites, rhino-pharyngites
- otites ...



- Infections respiratoires basses

- pneumopathies
- trachéites, bronchites, bronchiolites
- exacerbation asthme, BPCO ...

Débat / tropisme viral pour tractus respiratoire supérieur ou inférieur

A quels virus faut-il penser?



- **Virus 'classiques'**

Virus influenza humains (A, B)

Virus respiratoire syncytial

Virus parainfluenza 1-4; Rhinovirus/Entérovirus

Coronavirus 229E et OC43; Adénovirus; Virus de la rougeole

Herpesviridae: HSV-1, CMV, VZV

A quels virus faut-il penser?



- **Virus 'classiques'**

Virus influenza humains (A, B)

Virus respiratoire syncytial

Virus parainfluenza; Rhinovirus/Entérovirus

Coronavirus 229E et OC43; Adénovirus; Virus de la rougeole

Herpesviridae: HSV-1, CMV, VZV

- **Virus plus récemment identifiés, émergents**

Métapneumovirus (hMPV A/B)

Coronavirus NL63 et HKU1; Bocavirus; Polyomavirus WU et KI

Henipavirus, Hantavirus

SARS-CoV

Influenza aviaire H5N1, H1N1-variant 2009

adénovirus

Point de vue médico-économique

- Traitement antiviral
- Antibiothérapie si pertinente
- Réduction des examens complémentaires & de la durée d'hospitalisation



Ex. Pneumopathie en REA et virus

- 100 patients immunodéprimés (2007-2009)

PCR multiplex /ImmunoFluorescence

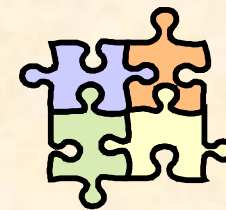
- Détection virale = 47% avec PCR multiplex (8% avec IF)
- Durée de séjour en réa (6 vs. 7j)
- Mortalité en réa (17% vs. 28%). *Schnell D. Respiratory Medicine (2012)*

Ex. > 500 000 dollars économisés avec Multiplex PCR/ 1 année sur 1800 enfants (Canada)

Mahony JB J Clin Microbiol (2009)

Virus respiratoires & diagnostic efficace

- Bien prélever et au bon moment
- Bien prescrire
- Combinaison d'outils diagnostiques au laboratoire
 - techniques conventionnelles
 - technique multiplex



Les virus et Syndromes respiratoires

Diagnostic direct / prescription renseignée

- IFD (Immunofluorescence directe 2h)

Influenza A, B (limite A H1N1 2009)

Parainfluenza

VRS; Métapneumovirus

← Très rapides
← & pas chers

- TDR (1/2h)

Influenzae A, B, H1N1

VRS;

Adénovirus

Rapides, chers
& TRES informatifs

- Outils moléculaires : PCR

PCR monoparamétrique (J1 si labo < 11h) : **grippe**, adénovirus

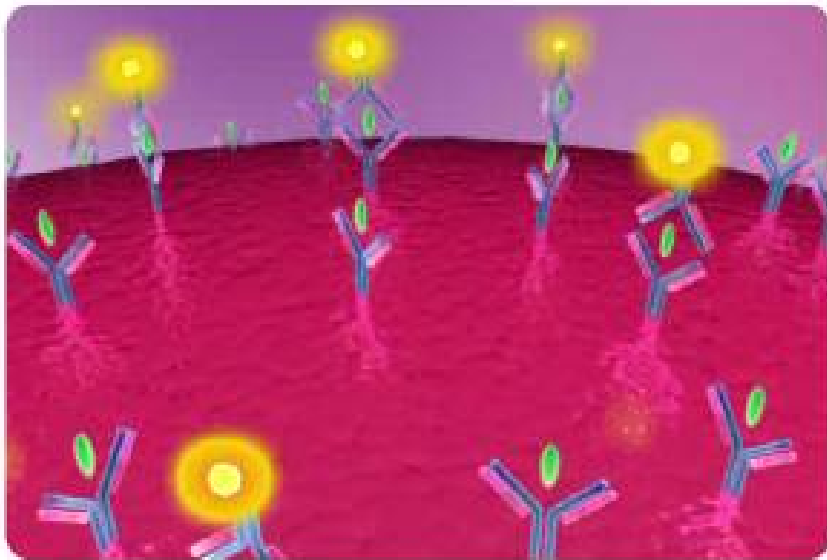
PCR **Multiplex** (2x/semaine, J1 si labo < 11h)



Multiplex PCR

Virus	Type/Sous type
Influenza A	H1
	H3
Influenza B	
Respiratory Syncytial Virus	
Coronavirus	229E
	OC43
	NL63
	HKU1
Parainfluenza Virus	Parainfluenza 1
	Parainfluenza 2
	Parainfluenza 3
	Parainfluenza 4
Human Metapneumovirus	
Entero-rhinovirus	
Adenovirus	
Human Bocavirus	

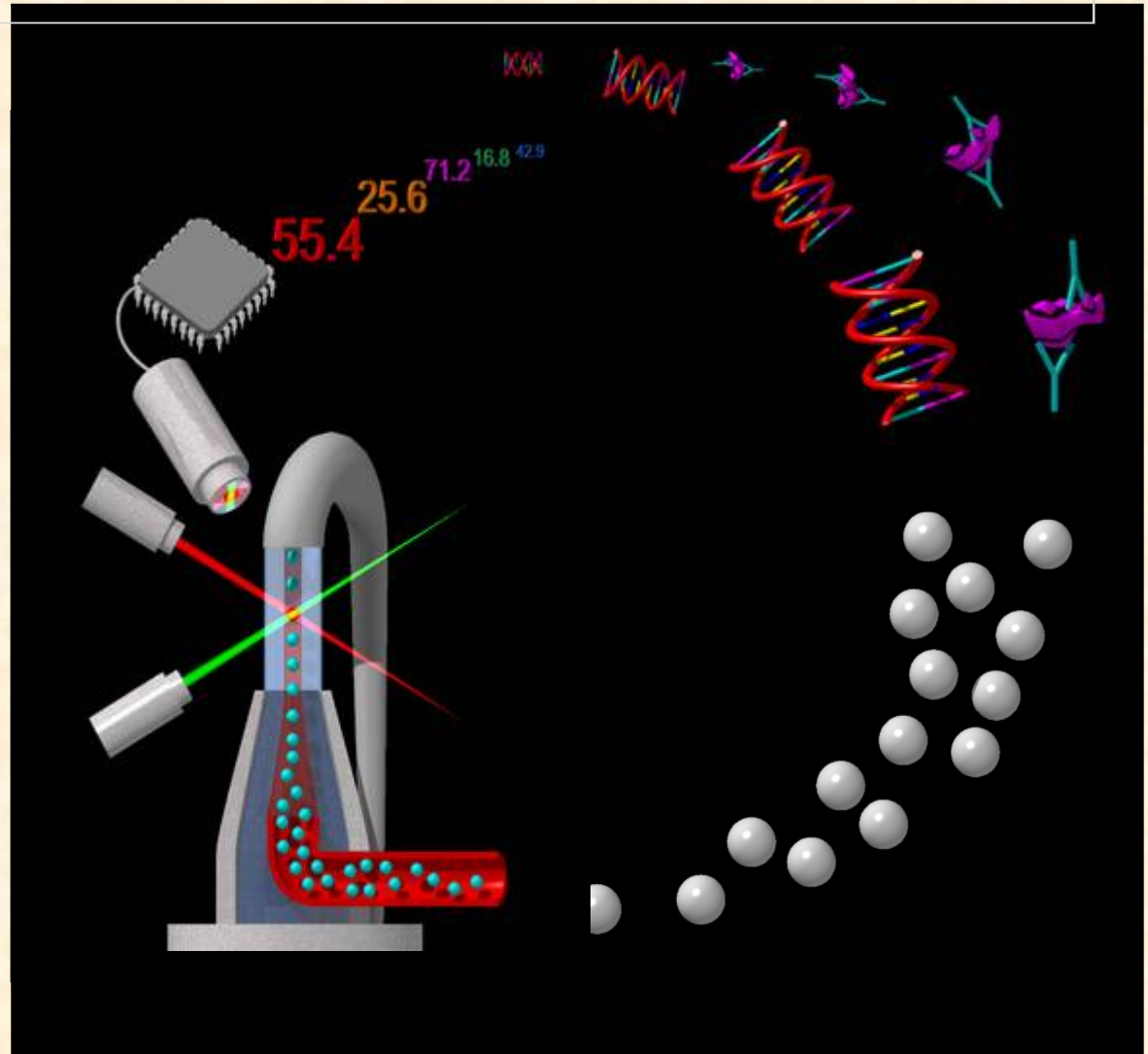
Multiplex - Technologie Luminex



- Microsphères recouvertes de réactifs de liaison/hybridation
- Produit PCR de l'échantillon ajouté aux microsphères + Ac biotinylé
- Rapporteur fluorescent

Technologie Luminex

- Microsphères
- Fluide/Optique
- Traitement des données



Les tests - rappel

Diagnostic direct / prescription renseignée

- IFD

Influenza A, B

Parainfluenza

VRS; Métapneumovirus

← Très rapides
← & pas chers

- TDR

Influenzae A, B

VRS;

Adénovirus

Rapides, chers
& TRES informatifs

- Outils moléculaires : PCR

PCR monoparamétrique: grippe, adénovirus

PCR **Multiplex**



Bien prélever & bien prescrire



- Tôt après l'apparition des symptômes
- Prélèvement au lieu de réplication du virus

- **écouvillonnage*** (naso-pharyngé) milieu UTM

TDR, PCR



- **aspiration** (nasale, bronchique), **LBA**, *biopsies*

aspiration/IFD-PCR

LBA/PCR

→ **flacons stériles**

Viroses respiratoires

– Place des nouveaux outils diagnostiques

Conclusions : échantillons ? prescription ?

- *Saison grippale, SDRA en réa ??*



Viroses respiratoires

– Place des nouveaux outils diagnostiques

Conclusions : échantillons ? prescription ?

- *24-12, bronchiolite NR ??*



Viroses respiratoires

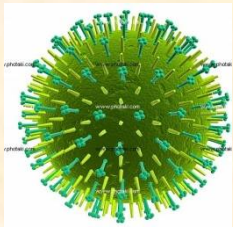
– Place des nouveaux outils diagnostiques

Conclusions : échantillons ? prescription ?

- *∇ période, pneumopathie sévère hospitalisée ??*



Prise en charge microbiologique des infections respiratoires



Tous les jours *

- IF
- TDR
- PCR grippe A/B
en période épidémique

- culture fongique
- PCR pan-fongique

- culture bactérienne
- antigénuries pneumocoque & légionelles
- PCR pan-bactérienne

2 séries / semaine

- PCR Multiplex 16 virus
mardi/vendredi

- antigénémie
Aspergillus

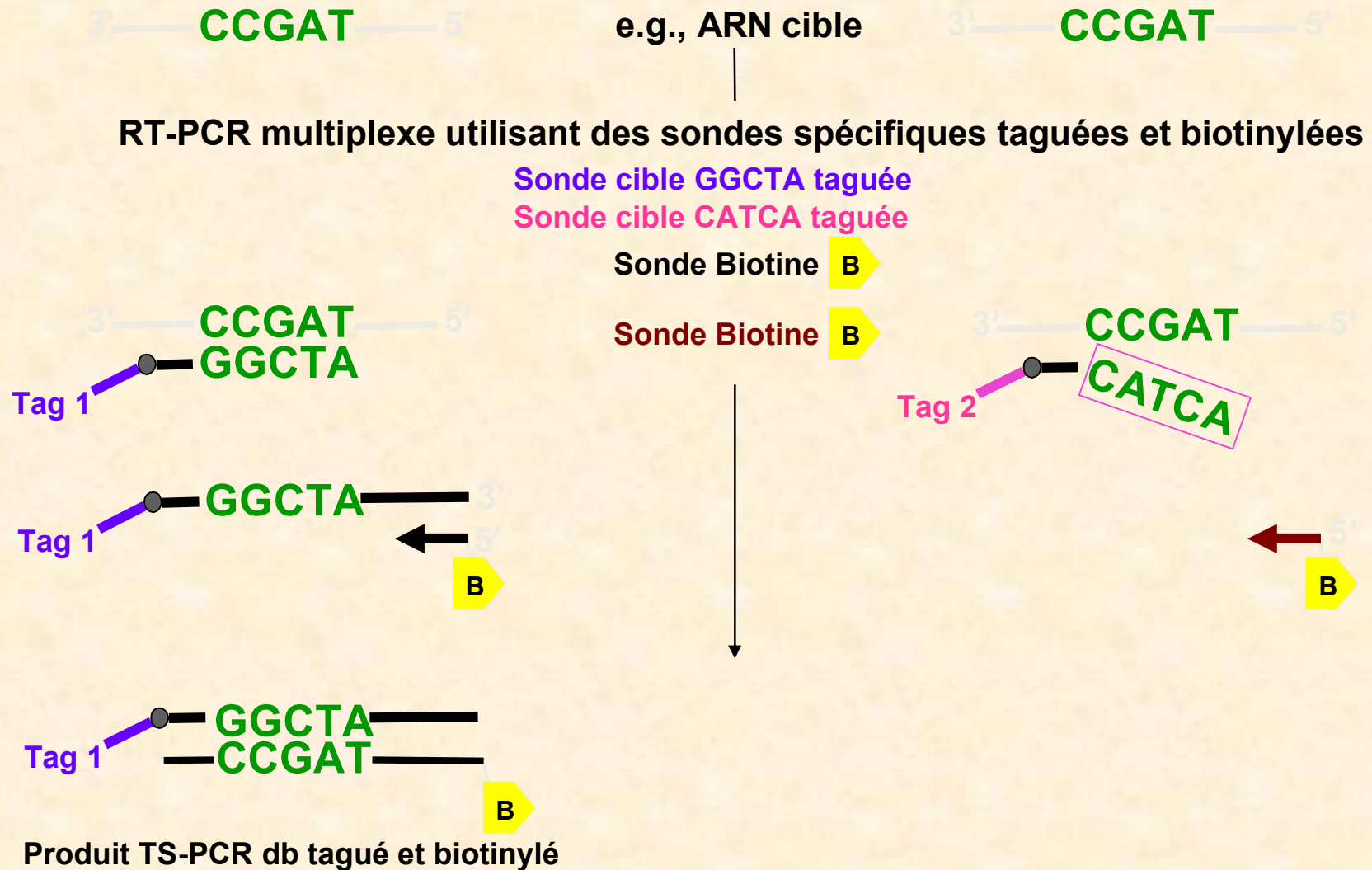
1 série / semaine

- PCR toxoplasmose
- PCR *Pneumocystis*
- PCR *Aspergillus*

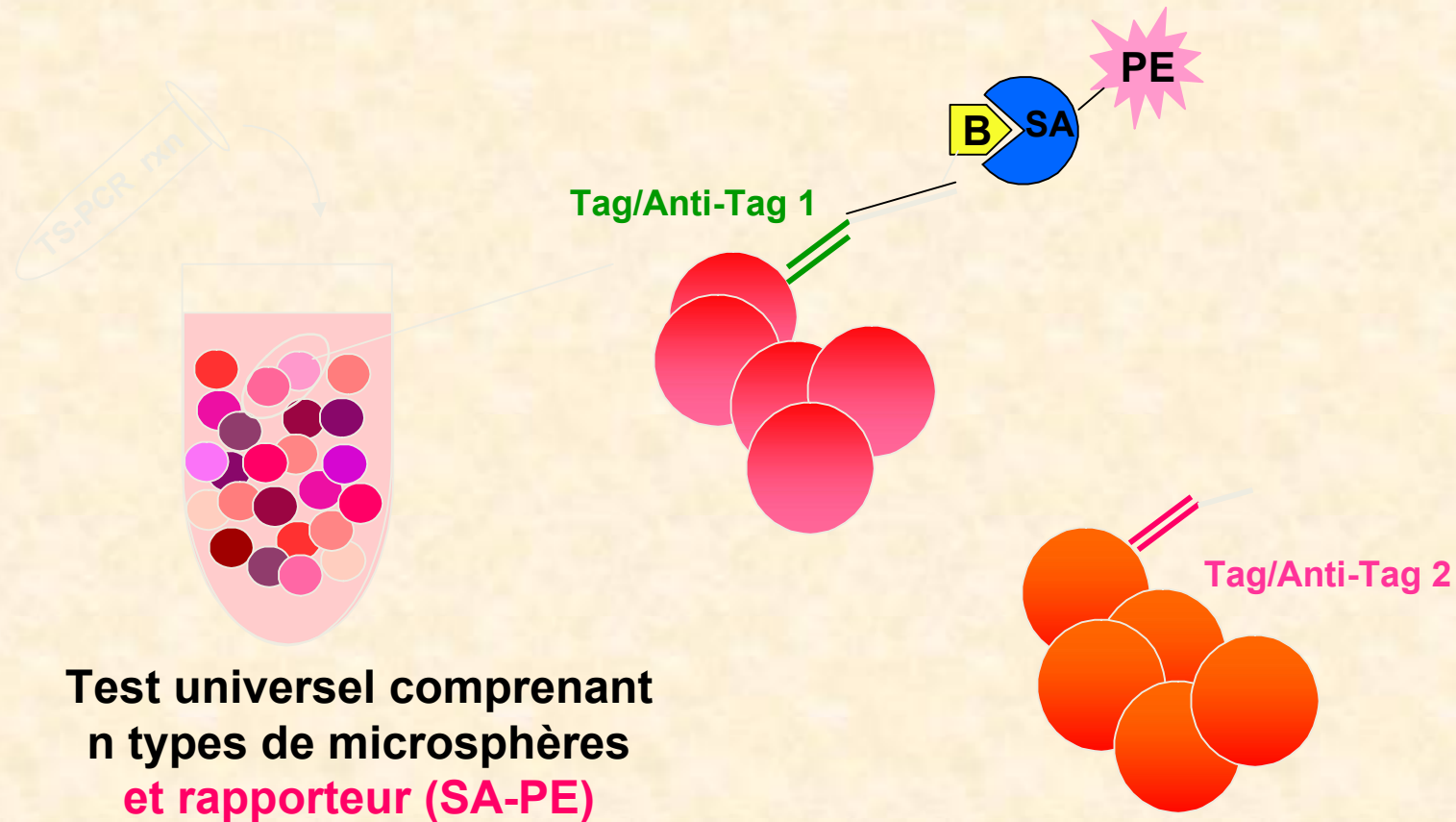
- PCR Multiplex 5 bactéries
- sérologies *Chlamydiae*,
Mycoplasma & *Legionella*

* **VIROLOGIE** : lundi 8h - samedi 11h & **PARASITO-MYCOLOGIE** : lundi 8h - vendredi soir
BACTERIOLOGIE culture : tous les jours – **PCR** : lundi 8h - samedi 13h30

RVP FAST: Étape 1-RT-PCR



RVP FAST: Étape 2- Hybridation et détection



Les virus et Syndromes respiratoires en pratique

Hors épidémie grippe

- IF tous les j*
- TDR tous les j*

- PCR Multiplex
mardi/vendredi

* lundi au samedi 11h
+ Herpesviridae

Epidémie grippale.

- IF tous les j*
- TDR tous les j *
- PCR grippe A/B tous les j*
- ... PCR Multiplex
mardi/vendredi

Multiplex/Luminex

Virus	Type/Seuil type
Influenza A	H1
Influenza B	H3
Respiratory Syncytial Virus	
	229E
Coronavirus	OC43
	NL63
	HKU1
	Parainfluenza 1
Parainfluenza Virus	Parainfluenza 2
	Parainfluenza 3
	Parainfluenza 4
Human Metapneumovirus	
Enterovirus	
Adenovirus	
Human Bocavirus	