

VIRUS RESPIRATOIRES ET LEURS PARTICULARITES

Héla KARRAY-HAKIM

Séminaire-Atelier « Viroses respiratoires » , 18 Avril 2005

Les infections virales respiratoires constituent un chapitre important de la pathologie infectieuse humaine:

- **Fréquence** de certaines atteintes: RHUME, GRIPPE
- **Gravité** d'autres atteintes notamment **sur certains terrains** :
 - * bronchiolite à VRS du nourrisson,
 - * grippe des personnes âgées,
 - * pneumonies virales de l'immunodéprimé.
- **Caractère épidémique** de la plupart d'entre elles.

Quels sont les virus responsables ?

Virus respiratoires classiques

Tropisme presque exclusif pour les cellules ciliées des Muqueuses respiratoires

Virus influenza A, B

Virus parainfluenza 1, 2, 3

Virus respiratoire syncytial

Adénovirus

Rhinovirus

Coronavirus

Tropisme pour de nombreux types cellulaires dont les cellules ciliées des muqueuses respiratoires

Entérovirus

Virus respiratoires émergents

- **Nouveaux**

- Metapneumovirus humain (1, 2)
- Coronavirus : SARS et NH63

- **Identifiables par les outil moléculaires**

- Virus influenza C
- Virus parainfluenza 4
- Coronavirus OC43, 229E,

Virus respiratoires « opportunistes »

- **Dans le cadre d'infections généralisées**
 - herpes simplex
 - cytomégalovirus
 - Virus d'Epstein-Barr
- **Post-éruptifs**
 - virus de la varicelle
 - virus de la rougeole

Virus influenza A, B
Virus parainfluenza 1, 2, 3
Virus respiratoire syncytial
Adénovirus
Rhinovirus
Coronavirus
Métapneumovirus
Entérovirus

>200 sérotypes



Syndromes cliniques respiratoires

Rhume, laryngite, trachéite, bronchite,
bronchiolite, pneumonie, grippe

Chaque syndrome clinique respiratoire viral est en général

CARACTERISTIQUE d'un GROUPE DE VIRUS RESPIRATOIRES

Rhume → Rhinovirus, Coronavirus

Laryngite → V. parainfluenza

Bronchiolite → VRS, Métapneumovirus

Pneumonie → Adénovirus

Grippe → V. influenza

Pas de spécificité étiologique:

PLUSIEURS VIRUS différents peuvent être responsables du MEME SYNDROME CLINIQUE

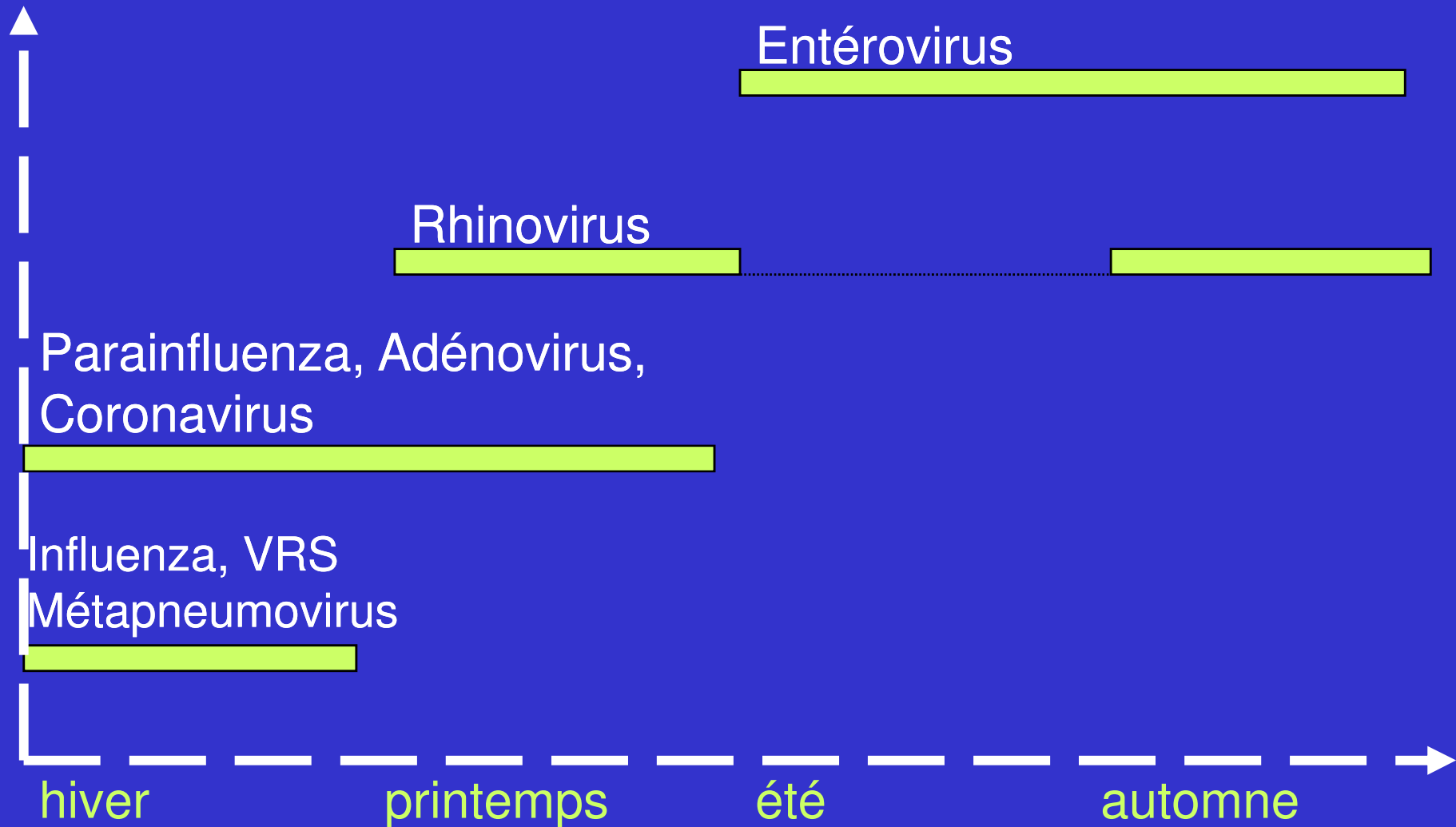


Importance du DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Virus les plus fréquents	Syndrome respiratoire	Autres virus incriminés
Rhinovirus, Coronavirus	Rhinite	Influenzav, VRS, PI, Adénov, Entérov, Métapneumov
Coxsackievirus HSV-EBV	Angine	Autres entérovirus
Adénovirus (surtout si adénop. ou conjonctivite associées) Influenzavirus	Rhinopharyngite	VRS, PI, Entérov, Métapneumov
Parainfluenzavirus 1, 2	Laryngite-Trachéite	Influenzav, VRS, Adénov
RHINOVIRUS, VRS, Parainfluenzavirus	Bronchite aiguë	Influenzav, VRS, PI, Adénov, Coronav, Métapneumov
VRS, Métapneumov Parainfluenzavirus 3	Bronchiolite	Influenzav, Adénov, Rhinov, Coronav, Entérov,
VRS, Influenzavirus Adénovirus	Pneumonie	Parainfluenzav, Rhinov, Entérov, Métapneumov
Influenzavirus	Grippe	Entérovirus (maladie de Bornholm)

EPIDEMIOLOGIE GENERALE

INFECTIONS EPIDEMIQUES (importance variable selon les virus)



Source de virus = **ENFANTS**

Primoinfection dès la petite enfance

Réinfections possibles et fréquentes au cours de l'enfance et à l'âge adulte:

- ✓ **Immunité non définitive** (variations antigéniques/ influenzav., rhinov.)
- ✓ **Immunité requiert plusieurs contaminations successives:**
VRS, parainfluenza
- ✓ **Immunité contre le sérotype infectant**

EPIDEMIOLOGIE GENERALE

Modes de transmission:

Direct

Aérienne
(aérosol)

Indirect

Mains des sujets infectés
Objets, vêtements,
Surfaces usuelles

CORONAVIRUS

Coronavirus : historique

◆ Coronavirus animaux : 1937 / 1946

- virus de la bronchite aviaire (IBV) 1937
- virus de l'hépatite murine (MHV) 1946
- virus de la gastro-entérite porcine (TGEV) 1949

◆ Coronavirus humains : 1965 / 1966

1^{ers} isolats humains obtenus dans les années 60 à partir de sécrétions respiratoires de sujets enrhumés

- souche B 814 (*Tyrell et Bynoe*)
- souche 229E (*Hamre et Procknow*)
- souche OC 43 et OC 48 (*Mc Intosh*)
- souche 692

 1967 : genre **coronavirus**

 1975 : famille des **Coronaviridae** (ICTV)

Nidovirales (1996)

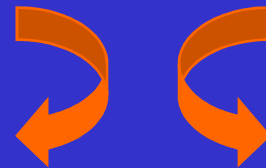
Arteriviridae



Roniviridae (2002)

Coronaviridae

Torovirus



Coronavirus



Groupe 1, 2, 3, (4 ?)

Famille des *Coronaviridae*

Genre Torovirus

Torovirus équin EToV
Torovirus bovin BToV
Torovirus porçin PoToV
Torovirus humain ?????

Genre Coronavirus

Groupe 1

Virus de la gastro-entérite porçine	TEDV
Coronavirus porçin respiratoire	PRCV
V. diarrhée épidémique porçine	PEDV
Coronavirus félin entérique	FECV
V. de la péritonite infectieuse féline	FIPV
Coronavirus canin	CCV
Coronavirus humain	HCoV-229E (1966)
Coronavirus humain	HCoV-NL63 (2004)

Groupe 2

Virus de l'hépatite murine	MHV
V. Encéphalite hémagglutinante	HEV
V. Sialoacryoadenitis	SADV
Coronavirus bovin	BCV
Coronavirus humain	HCoV-OC43 (1967)

Groupe 3

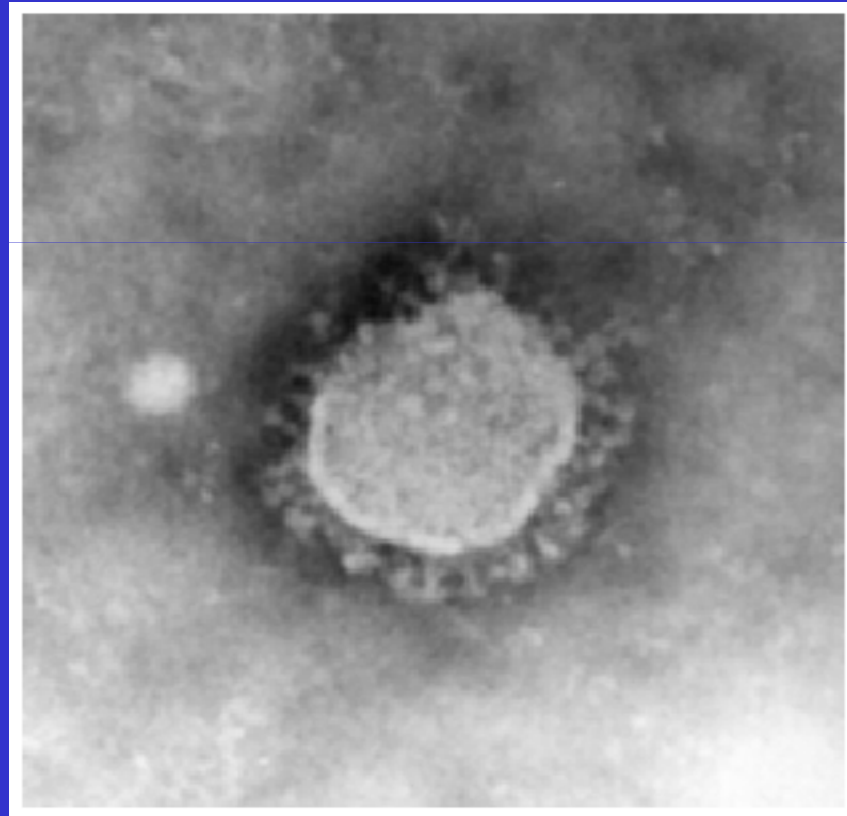
Bronchite infectieuse IBV
CoronaV. de la dinde TCV

Groupe 4 ???

Coronavirus associé au SRAS
SARS-CoV

Coronavirus

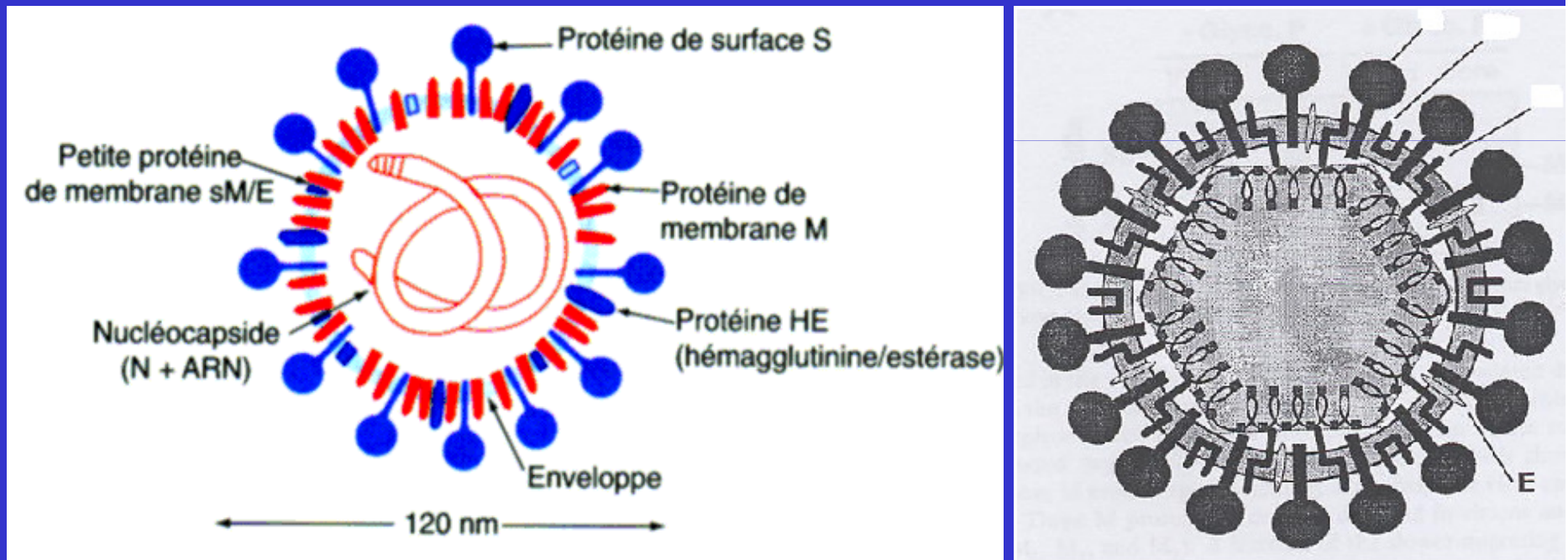
- aspect caractéristique *en couronne* en microscopie électronique



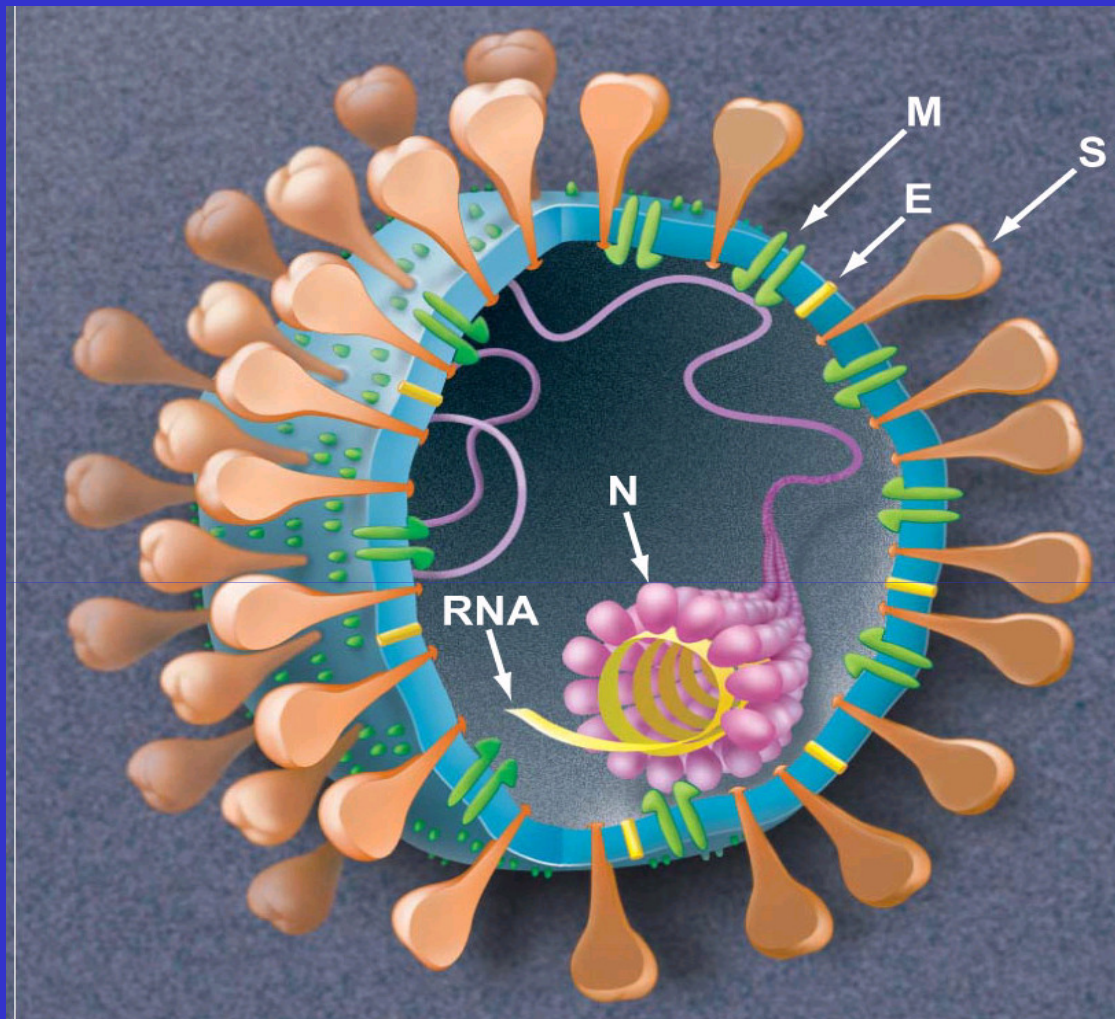
P. Lebon. St Vincent de Paul. Paris

Morphologie et structure

- ❖ 80 à 150 nm de diamètre
- ❖ virus enveloppés
- ❖ nucléocapside classiquement hélicoïdale (exception chez virus ARN+)
- ❖ capsid externe icosaédrique ?

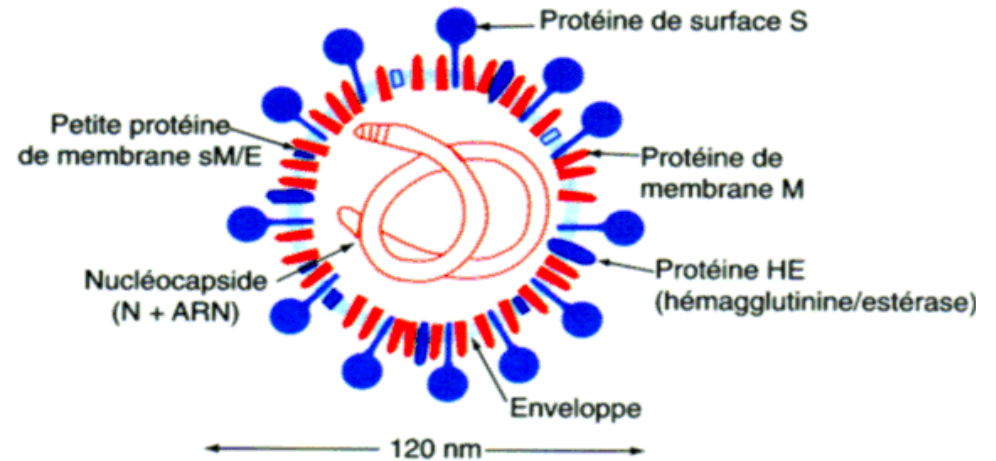


Représentation schématique des coronavirus



Représentation schématique tridimensionnelle du coronavirus
(Enjuanes, 2003)

Protéines virales structurales :



protéine S :

- glycoprotéine transmembranaire
- clivage en 2 sous-unités S1 et S2 (non obligatoire)
- rôle majeur dans les premières étapes du cycle : attachement au récepteur (détermination du tropisme), fusion des membranes virales et plasmiques
- principal inducteur d'anticorps neutralisants

protéine M :

- composant protéique principal du virion : rôle structural majeur
- protéine requise pour l'assemblage des particules virales

protéine N :

- protéine de la nucléocapside, étroitement liée à l'ARN génomique

protéine sM :

- rôle indéterminé, intervient avec M dans la phase d'assemblage

protéine HE :

- présente uniquement chez les coronavirus du groupe 2

Tropisme

- ◆ Les Coronavirus sont connus comme ayant un spectre d'hôte étroit
 - cependant des passages inter-espèces sont possibles : infection expérimentale de singes par MHV par exemple, infection des guépards par FIPV, exemple récent du SRAS
- ◆ Les coronavirus humains ont un triple tropisme :
 - **respiratoire**
 - digestif
 - système nerveux central
- ◆ Le degré d'atteinte cellulaire induit par une infection à coronavirus varie selon la souche virale et la cellule cible, et va de l'absence totale d'effet cytopathique à la lyse.
 - étude en ME de l'ultrastructure de l'épithélium nasal lors d'une infection respiratoire haute à coronavirus (*Azfelius, 1994*) : perte de la ciliature
- ◆ Les coronavirus peuvent infecter les cellules de façon persistante

Récepteurs identifiés

Souche 229E

- aminopeptidase N, métalloprotéase présente à la surface des cellules épithéliales pulmonaires, intestinales, et rénales, des fibroblastes et de certaines cellules du système nerveux central (*Yeager et al, Nature, 1992*)

Souche OC43

- plusieurs candidats retenus :
 - récepteurs contenant de l'acide sialique semblables à ceux utilisés par Influenza C
 - molécules HLA de classe I
 - antigènes carcinoembryonnaires

Souche SARS-CoV

- **ACE2** : angiotensine-converting enzym, molécule exprimée dans de nombreux tissus : bronches, poumons, cœur, reins, tractus gastro-intestinal (*Li et al., Nature, 2003*)

Evolution

◆ taux élevé de mutations ponctuelles :

infidélité de l'ARN polymérase ARN dépendante

◆ recombinaison :

- décrite *in vitro* et *in vivo* : FECV type II = FECV type I x CCV
- hétérologue (avec gènes cellulaires ou gènes d'autres virus)
- homologue (échange rapide de mutations bénéfiques au virus)

◆ délétions :

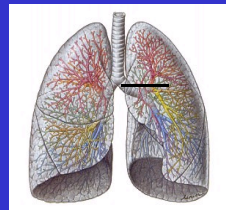
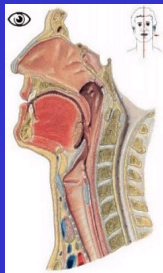
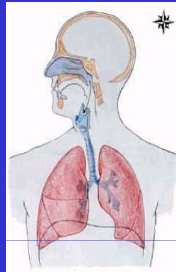
- exemple de l'émergence en 1986 d'un mutant du TGEV, le PRCV chez le porc : *délétion dans le gène S* ==> **changement de tropisme,**
de l'appareil digestif à l'appareil respiratoire

◆ phénomène de capture de gène (?) :

pourrait expliquer l'homologie existant entre les gènes HE du MHV et du virus Influenza C

Pathologies liées aux coronavirus humains classiques

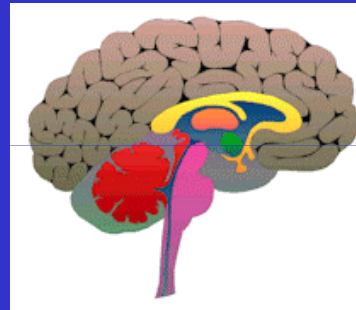
Appareil respiratoire



RHUME

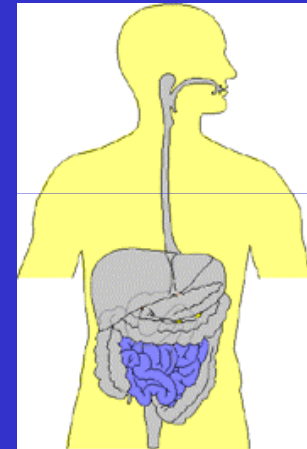
bronchite
bronchiolite
pneumopathies

Système Nerveux central



site de persistance ?
inf. démyélinisantes ?

Appareil digestif



portage sain ?
diarrhées ?
entérocolite ?

Infections respiratoires à coronavirus « classiques »

Infections respiratoires hautes

- chez l'homme, la **RHINITE** est le principal symptôme associé à l'infection naturelle ou expérimentale par les coronavirus.
- **2^{ème} agent du RHUME** après les Rhinovirus
(incidence globale ~ 15%)

Infections respiratoires basses

- **bronchiolite, pneumopathie, pneumonie** : plus rares → sujets fragilisés ou immunodéprimés (greffe, chimiothérapie, ages extrêmes de la vie...)
- **association à des épisodes d'hyper-réactivité bronchique** chez les sujets atopiques ou non

Otitis moyennes aiguës

Epidémiologie

◆ Rareté des études épidémiologiques chez l'homme :

- symptomatologie banale
- grande difficulté à étudier ces virus

◆ Etudes de séroprévalence :

- virus ubiquitaire
- séroprévalence augmentant rapidement avec l'âge

- ✓ proche de 100 % à l'âge de 5 ans

- ✓ infection de l'enfance

- ✓ réinfections tout au long de la vie

(grande hétérogénéité antigénique,
immunité spécifique de la souche infectante)

Détection des coronavirus respiratoires classiques

Culture

Détection d'Ag intracellulaires

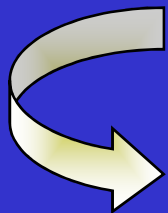
Détection d'ARN

Sérologie : peu d'intérêt dans le diagnostic des infections respiratoires

Etudes de séroprévalence ++

Culture des coronavirus classiques *difficile*

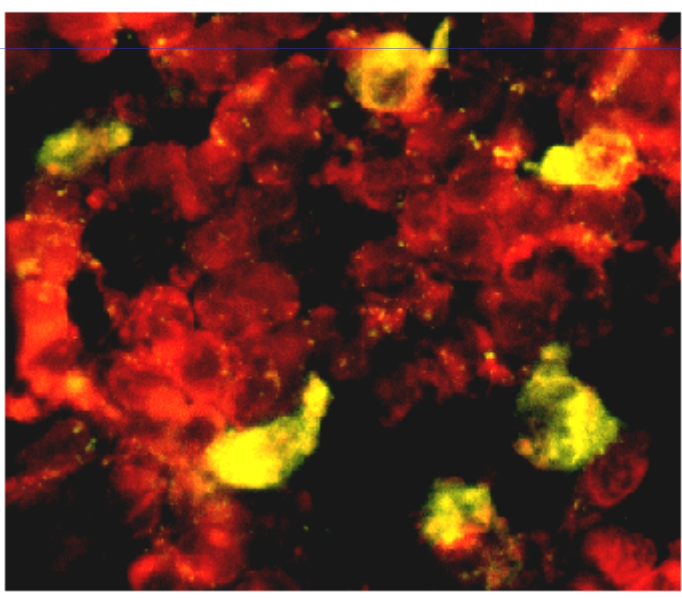
- ◆ Seules les souches prototypes sont adaptées à des systèmes cellulaires facilement utilisables
 - 229E : WI38, MRC5 (cellules diploïdes)
 - OC43 : HRT 18 (lignée continue)
- ◆ Culture en 24-48 heures, température comprise entre 33 et 35°C
on obtient rarement de hauts titres infectieux par passages successifs
- ◆ Absence d'effet cytopathique caractéristique :
 - toujours avoir un « témoin cellule », pour objectiver les modifications du tapis cellulaire
 - lyse extensive du tapis
 - étape d'identification spécifique nécessaire : neutralisation, IF...
- ◆ Les isolats obtenus en culture cellulaire sont rares



technique inappropriée au diagnostic

Détection d'Ag intra-cellulaires

- technique d'immunofluorescence ou immuno-enzymatique
- largement utilisée pour le diagnostic des infections respiratoires à VRS, influenza, adénovirus,..)
- problème pour les coronaV.+++ : absence d'anticorps disponible validé en diagnostic
- pas de communauté antigénique entre 229E et OC43 : détection duelle



Anticorps 1-OC1 (Talbot, Canada).

Culture OC43 sur HRT18.A. Vabret (Caen)

Fluorescence finement granuleuse intra-cytoplasmique

Détection de l'ARN des coronavirus =technique de choix

◆ RT-PCR : système le plus utilisé

Localisation des amorces : variable selon l'objectif

Détection : gènes conservés : N, M

nécessité de 2 systèmes différents pour 229E et OC43

hybridation moléculaire confirmant la spécificité du produit amplifié

Epidémiologie moléculaire : gène S

Tentative de PCR consensus de genre : (*Stephensen et al, 1999*)

- ✓ gène codant pour la polymérase (ORF1b)
- ✓ intérêt : très conservé, détection du genre coronavirus en 1 seule réaction
- ✓ inconvénients : peu sensible, sensibilité différente selon les espèces

Eviter si possible la PCR nichée dans les laboratoires de diagnostic
(contamination ++)

Détection des coronavirus dans la littérature

Culture +/- ME

Myint, 1994 : 50% !!

Ag intracellulaire IFI

Myint, 1978 : 0%

Sizun, 1994 : 22%

Lina, 1996 : 6%

HCoV dans prélèvements
respiratoires

Sérologies HCoV

McIntosh, 1974 : 8%

Makela, 1998 : 8%

El Sahly, 2000 : 3.7%

RT-PCR +/- hybridation

Pitkaranta, 1997 : 15%

Freymuth, 1999 : 4%

Koivisto, 2000 : 2.6%

RT-nested PCR

Myint, 1994 : 50%

Marin, 2000 : 2.7 %

Etude hiver 2001. CHU Caen (7 février - 28 mars 2001)

Vabret A et al. CID, 2003

501 prélèvements respiratoires

32 %

160 : détection positive

VRS.....	31.....	6.2 %
parainfluenza 3.....	5.....	1.0 %
influenza A	39.....	7 %
influenza B	36.....	7.1 %
rhinovirus	32.....	6.3 %
enterovirus	5.....	1.0 %
adenovirus	11.....	2.0 %

parainfluenza 1, 2, HCV-229E : aucune détection

22 enfants et 8 adultes,
Mais infection retrouvée dans toutes
les classes d'âge

341 restants

recherche de HCV-OC43

détection moléculaire sur
surnageants de culture

30 positifs

<6 mois	6 mois-2ans	3-15 ans	>15 ans
7/56	9/118	6/87	8/79
12.5%	7.6%	8%	8.9%

Coronavirus

Conclusion

La recherche des Cov dans les prélèvements respiratoires est difficile

Les méthodes moléculaires semblent les plus appropriées pour la détection de ces virus MAIS leur interprétation doit être prudente:

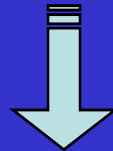
- Pas d'information sur le portage respiratoire de ces virus **OU**
- La durée d'excrétion de ces virus après une infection aiguë

Certains auteurs ont montré que les CoV sont détectables dans du tissu Cérébral provenant de sujets contrôles témoignant ainsi de la **neuro-invasion** de ces virus et de leur **persistance**

Coronavirus humain identifié en mars 2004 : NL63 (1)

(Van der Hoek et al. Nat Med, mars 2004)

- identification à partir d'un prélèvement naso-pharyngé d'un enfant de 7 mois hospitalisé pour conjonctivite et bronchiolite
- virus isolé en culture cellulaire et identifié par méthode moléculaire originale (VIDISCA)
- relié phylogénétiquement au HCoV-229E (groupe 1)
- enquête rétrospective (période décembre 2002-août 2003) chez 314 patients hospitalisés par détection moléculaire



7 autres cas trouvés :

4 enfants <1an
2 bronchiolites
2 inf. resp hautes

3 adultes
dont 2 immunodéprimés
avec pneumopathie

Coronavirus humain identifié en janvier 2005 : HKU1

(Woo PC et al. J Virol., 2005 Jan;79(2):884-95)

- identification à partir d'une aspiration naso-pharyngée d'un patient de 71 ans hospitalisé pour **pneumonie** (revenant de Shenzhen, Chine)
- virus détecté par RT-PCR quantitative (8.5 à 9.6×10^6 copies/ml)
- analyse phylogénétique → groupe 2
- enquête rétrospective à partir de 400 aspirations naso-pharyngées de patients hospitalisés pour suspicion de SARS ⇒ CoV-HKU1 est isolé chez 1 autre patiente de 35 ans présentant une **pneumonie**.

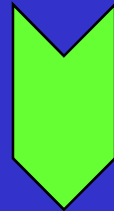


Un nouveau coronavirus du groupe 2 associé à des pneumonies?

METAPNEUMOVIRUS HUMAIN

Van Den Hoogen BG, Nature Med., 2001 Jun;7 (6):719-24

1^{ère} description du Métapneumovirus humain: isolé en 2001 à partir d'un enfant hollandais



28 isolats sur Culture sur rein de singe à partir d'aspirations
Nasopharyngées congelées et collectées durant les 20 années précédentes

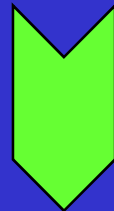
Enfants

13 : < 1 an
15 : 1 à 5 ans



Pathologie

Infection VAS; Bronchiolite
Pneumonie avec fièvre,
Myalgies; vomissements



Virus circule depuis au moins 1958: mise en évidence d'Ac
anti- hMétapneumov. dans 72 sérums congelés en 1958 et
provenant d'enfants et adultes

PARAMYXOVIRIDAE

Paramyxovirinae

GENRE **Respirovirus**

Virus parainfluenza humain 1 et 3

Rubulavirus

Virus parainfluenza 2 et 4a, 4b

Virus des oreillons

Virus de la maladie de Newcastle

Morbillivirus

Virus de la rougeole (virus morbilleux equin)

Pneumovirinae

GENRE **Pneumovirus**

Virus respiratoire syncytial humain

Virus respiratoire syncytial bovin, caprin, ovin

Virus de la pneumonie murine

Métapneumovirus **Métapneumovirus humain : (1 et 2)**

Métapneumovirus aviaires A, B, C, D

Epidémiologie

Van Den Hoogen BG, Nature Med., 2001;7:719-24

Aspirations nasopharyngées négatives



recherche hMPV par RT-PCR



7(+) / 68 → (10%)

Séroprévalence

6-12 mois	1-5 ans	>5 ans
25 %	63 %	100 %

Epidémiologie

Etude hMPV : hiver 2001-2002

758 aspirations nasales d'enfants (Caen et Flers)

Freymuth F, Ped Infect Dis J 2003; 22

Positives	366	48 % (1)
VRS	243	32 %
VIA et B	58	8 %
VPI 1,2,3	9	1 %
Adv	8	1 %
Rhino/entérov	38	5 %
Cov. OC 43	10	1,3 %
Négatives	337	
hMPV	19	2.5

(1) = % du total

Epidémiologie

Métapneumovirus humain : responsable de 2 à 13 %
d'infections respiratoires basses de l'enfant

La primo-infection survient au cours de l'enfance et

Des infections répétées surviennent au cours de la vie ⇒

Immunité partielle (variabilité du métapneumo comme le VRS:
divisé en 2 groupes 1 et 2)

Circule avec un pic de Janvier à Avril

Etude clinique

Freymuth F, PIDJ 2003; 22

26 hMPV infections (2000-2001-2002)

âge 3 – 12 mois : 23

> 1 an : 3

Clinique :

- **BRONCHIOLITE** 16
- crise d'asthme 4
- bronchite 1
- laryngite 1
- fièvre élevée 1
- rhinoph., conj., otite 1

Domaine pathologique

Nourrissons et enfants = VRS

- **Infections respiratoires hautes** : rhinite, pharyngite
- **Infections respiratoires basses**: BRONCHIOLITE et PNEUMONIES

Bronchites

++++ chez l'enfant < 1 an



- **Formes sévères** chez les nourrissons
 - les Immunodéprimés
 - Ayant une pathologie chronique
- Moins fréquemment: Otite moyenne
 - Diarrhée
 - Éruption cutanée
 - Conjonctivite
 - Fièvre
 - Lymphopénie, ↑ transaminases

Domaine pathologique

Adultes

- *Infections respiratoires hautes*
- *Infections respiratoires basses*

Remarque :

Le métapneumovirus peut donner des **formes cliniques similaires au SARS**

48 patients admis à l'hôpital de Hong Kong avec une suspicion de SARS

40% métapneumovirus (+)
12% coinfecteds par métapneumo+SARS
10% SARS (+)

Un patient de 40 ans ayant des critères de l'OMS en faveur d'un SARS probable a été découvert en post-mortem atteint d'une pneumonie à Métapneumovirus

Williams JV et al , N Engl J med 2004; jan 29; vol 350 (5):443-50

Etude sur 25 ans (1976-2001)

597 enfants agés de <6 mois - >3 ans
Infection respiratoire basse

Culture d'aspirations nasales conservées

321 (-)

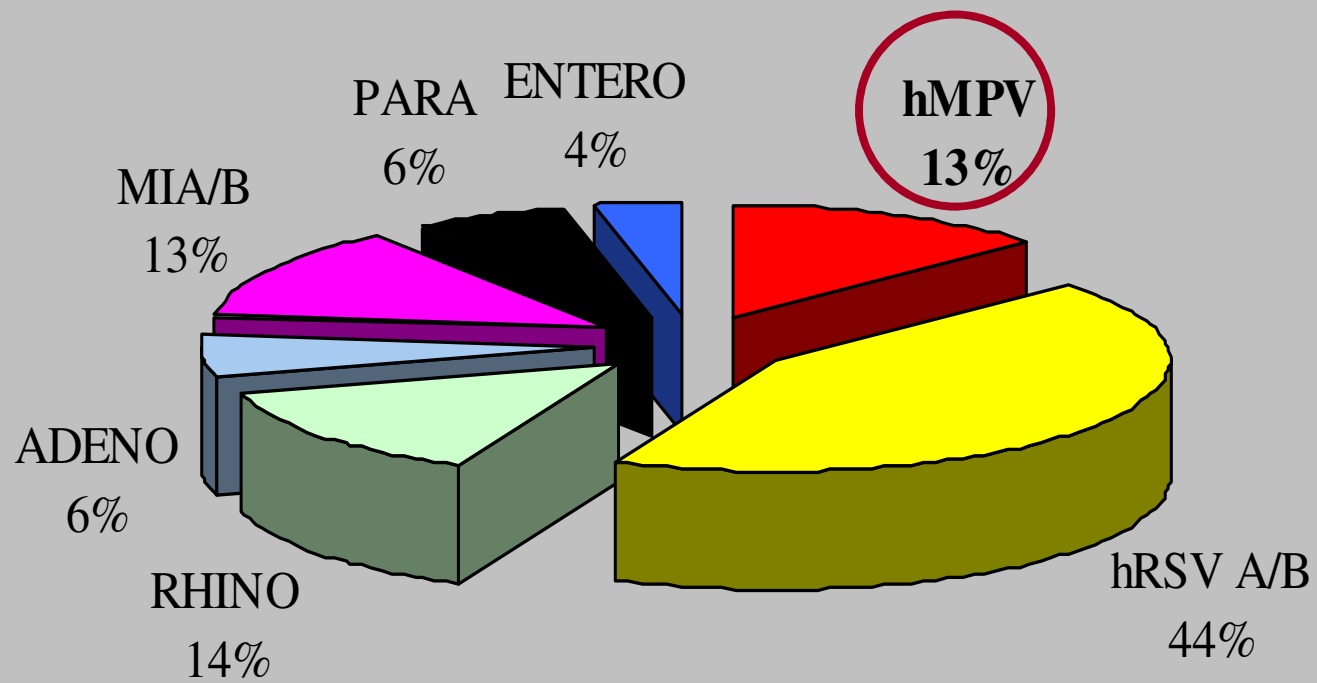
276 (+)

248 testés par RT-PCR

49 Métapneumov. (+)
20%

VRS	15 %
PI	10 %
Infl	5 %
Adéno	4%
Entéro, rhino, polio	} 7.2 %
HSV, rotavirus	
5 Coinf	

Place des différents virus chez l'enfant



Diagnostic de l'infection à hMPV

1. **Détection directe d'antigène** : non disponible

2. **Isolement en culture cellulaire**

- très difficile
- seulement sur rein de singe tertiaire ou LLC-MK2
- croissance très lente # 12 à 18 j.
- ECP inconstant ou peu caractéristique : **petites cellules arrondies, foyers de destruction, rare syncytium**

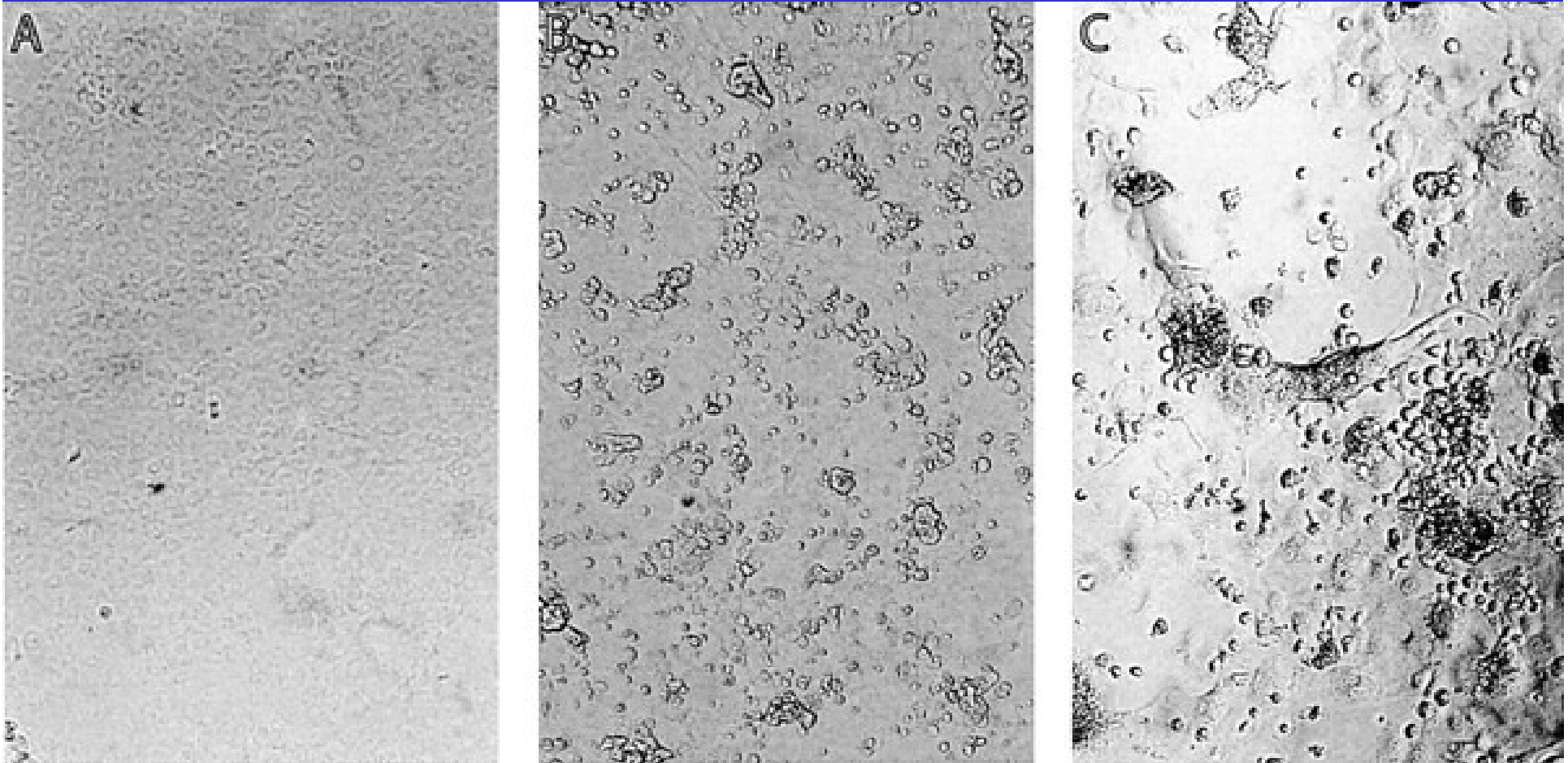
3. **RT-PCR**

- seule méthode actuelle possible pour identifier le virus sur le prélèvement ou en culture
- plusieurs cibles possibles : gènes L, N, F, M,
(Cote S, *J Clin Microbiol* 2003;41:3631)

4. **Sérologie**

par IF sur des cellules MK2 infectées

ECP du hMPV sur LLC-MK2



Hamelin ME Clin Infect Dis 2004;38:983

RT-PCR pour la détection du hMPV

- Van den Hoogen B, Nat med 2001;7:719 - RT PCR - gène L
- Peret TC, J Infect Dis 2002;185:1660 - RT PCR - gènes F, N
- Freymuth F, Ped Inf Dis J 2003;33:92 - RT PCR - gène N
- Mackay IM, J Clin Microbiol 2003;41:100 - PCR temps réel - gène N
- Greensill J, Emerg Inf Dis J 2003;9:372 - RT PCR - gènes M, F, N
- Boivin G, Emerg Inf Dis J 2003;9:634 - PCR temps réel - gène N
- Cote S, J Clin Microbiol 2003;41:3631 - PCR temps réel - gènes N,M,F,P,L
- Chan PK, Emerg Inf Dis J 2003;9:1058 - n RT PCR - gène F
- Ebihara T, J Clin Microbiol 2004;42:126 - RT PCR - gène F
- Maertzdorf J, J Clin Microbiol 2004;42:981 b- PCR temps réel - gène N

Pourquoi un diagnostic virologique pour une virose respiratoire ?

- Pour rattacher un syndrome clinique respiratoire à une étiologie virale
- pour «traiter » et prévenir les infections virales respiratoires
- pour comprendre l'épidémiologie des maladies respiratoires virales

Indication du diagnostic virologique ?

Formes sévères et compliquées



Recherche dirigée vers tous les virus respiratoires

PRELEVEMENTS

Enfants

Prélèvement de choix : **NASAL**

- Il faut prélever des sécrétions nasales et non pharyngées (*épithélium non respiratoire, contient 3 fois moins de virus, déconseillé pour l'adénovirus du fait de la présence quasi-constante d'adénovirus latents*)

Quantité de virus	Nez	Gorge
Titre moyen (log.TCID50/ml)	4.35	1.63

(Hall CB JID, 1975; 131: 1-5)

Prélèvement de choix : **NASAL**

- **Adapté même pour les infections basses/** bronchiolite à VRS:
pas de différence significative entre un prélèvement nasal et bronchique

% de positifs	Nez	Trachée
IF	69.4	66.1
RT/PCR	76.2	71.1

(Bronchiolites à VRS. Caen)

- Prélèvement nasal favorisé par le fait de la persistance de la rhinite qui débute généralement la bronchiolite

■ Réalisation du prélèvement nasal

par écouvillonnage

- recueillir suffisamment de cellules épithéliales (*virus associés aux cellules*)
- à l'aide d'un écouvillon humidifié
- utiliser 2 écouvillons (1 par narine)
- réaliser un frottement appuyé de la muqueuse
- exprimer le contenu dans un milieu de transport

OU MIEUX

par ASPIRATION NASALE

à l'aide d'une sonde reliée à un flacon

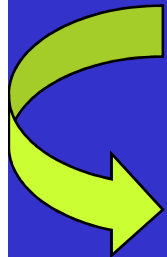
Secrétions nasales - hiver 1998-1999

	% de cellules	
	Correct	Insuffisant
PEDIATRIE : aspiration (n)		
Hôpital A (1118)	88	12
Hôpital B (993)	96.2	3.8
MEDECINS GENERALISTES : écouvillonnage (n)		
Réseau A (808)	75.7	24.3
Réseau B (331)	64	36

Cependant,

Dans les formes sévères de bronchiolite où la pathologie bronchiolaire peut être décalée de quelques jours par rapport à la multiplication virale

Dans les réinfections qui peuvent se produire sans rhinite, le nez de l'enfant peut être sec et l'aspiration peut ne pas ramener d'exsudat



Lavage nasal

SECRETIONS TRACHEOBRONCHIQUES obtenues après
kinésithérapie

Adultes et sujets âgés

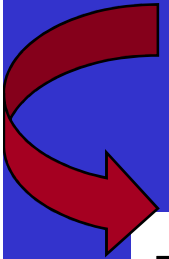
Prélèvement nasal inadapté:

- ✓ La recherche de virus respiratoires est plus difficile chez l'adulte que chez l'enfant car :
 - *Peu d'exsudat nasal*
 - *Excrétion plus faible de virus*
 - *Présence virale plus courte*
- ✓ La technique de recueil des sécrétions nasales par aspiration est souvent difficile à mettre en œuvre chez le sujet âgé

Elimination nasale du VRS

	Enfants	Adultes
Titre (PFU/ml)	$\leq 10^6$	$\leq 10^3$
Durée (jours)	5-10	3-4

Falsey AR. Clin Microbiol. Rev. 2000; 13:371-384



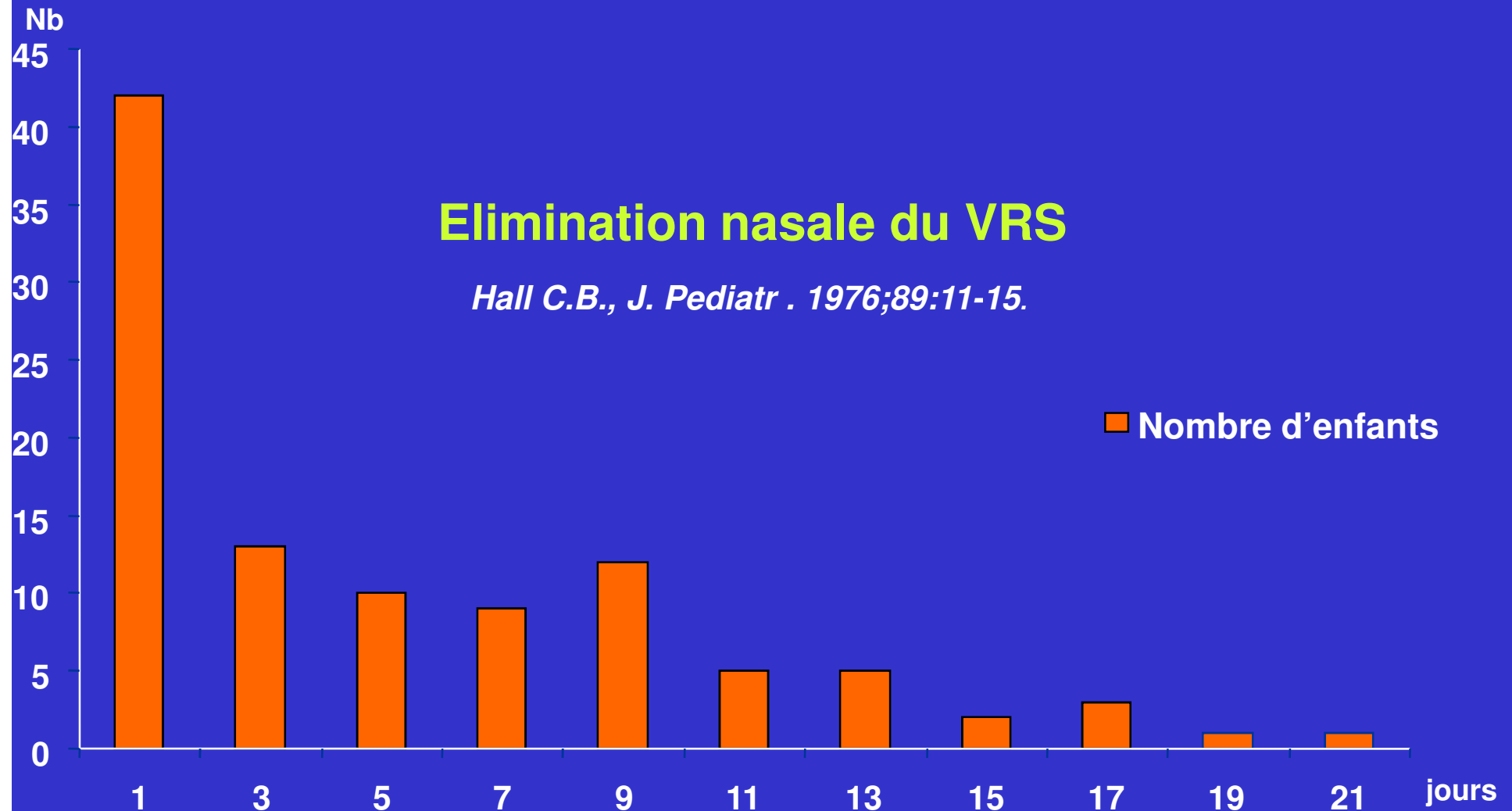
En ambulatoire: **écouvillonnage** appuyé de la paroi des 2 fosses nasales à l'aide de cotons tiges préalablement humidifiés peut permettre de recueillir suffisamment de cellules

Si malade hospitalisé pour pneumopathie: l'échantillon idéal à analyser est les **sécrétions trachéo-bronchiques**.

Si un **LBA** est recueilli, il faut obtenir séparément des sécrétions bronchiques et du liquide de lavage alvéolaire

CONDITIONS DE PRELEVEMENTS

1. Le plus tôt possible à la phase aiguë



CONDITIONS DE PRELEVEMENTS

2. Eviter de diluer les sécrétions respiratoires pour la recherche d'antigènes viraux en IF et les transmettre rapidement au laboratoire (<2h).
(ne pas congeler)

3. Si prélèvement destiné à la culture cellulaire:

- Utilisation d'un milieu de transport
- Son maintien au froid
- Transport rapide au laboratoire OU MIEUX inoculation DIRECTE du prélèvement à la culture

4. Dans le cas de tests EIA, les échantillons se conservent assez longtemps à la température normale sans altération antigénique

AUTRES PRELEVEMENTS

Selles: pour les **ENTEROVIRUS**

Peuvent être informatives surtout à distance de l'épisode aiguë.

Virémie: sang total pour les infections post-virémiques →

ADENOVIRUS

CMV, Varicelle, Rougeole

Outils du Diagnostic virologique

Recherche d'anticorps (sérologie) # inutile

Réponse tardive

Peu sensible

Ne détecte pas les IgM

Réactions croisées entre différents antigènes

Utile uniquement en cas d'épidémie ou pour des études de séroprévalence

Méthodes directes +++

Recherche d'antigènes viraux

Culture cellulaire

Méthodes moléculaires

Outils du Diagnostic virologique

1. Recherche d'antigènes viraux

Par IF: méthode de choix pour VRS, Infl., PI
un peu moins adaptée pour Adénov.
inopérante pour Rhinov., Entérov., Coronav.
non disponible pour Métapneumovirus humain

Tests ELISA commercialisés pour VRS, Infl., Adéno

Tests immédiats: pour Infl., VRS

2. Culture cellulaire

- nécessaire pour Rhinov., Entérovirus
- intérêt épidémiologique: caractérisation des souches
Influenza A et B
- nécessaire pour Adénov

3. PCR ou RT-PCR

- Indispensable pour la détection des Rhino, Métapneumov. humain, Coronav., PI 4, Infl C
- Même pour les autres virus respiratoires pour lesquels la PCR est plus sensible
- Situation de faible charge virale : asthme...

MAIS signification ? ? ?

Résultats virologiques

- **Dépendent de la méthode et des échantillons :**
 - performance des techniques de détection virale :*
 - en général : PCR > IF > culture
 - qualité de l'échantillon :*
 - en général : asp.nas/écouv.nas. = asp. bronchique > nasopharynx-pharynx
- **Positifs dans 40 à 80% des cas, mais varient en fonction:**
 - de la saison :**
 - 30 à 40% en automne ou au printemps
 - 70 à 80% en hiver
 - des virus : 3 groupes de prévalence**
 - 40-50% : VRS
 - 10-25% : virus influenza, rhinovirus, métapneumovirus
 - 5-8% : virus parainfluenza, adénovirus
 - 2-3% : coronavirus