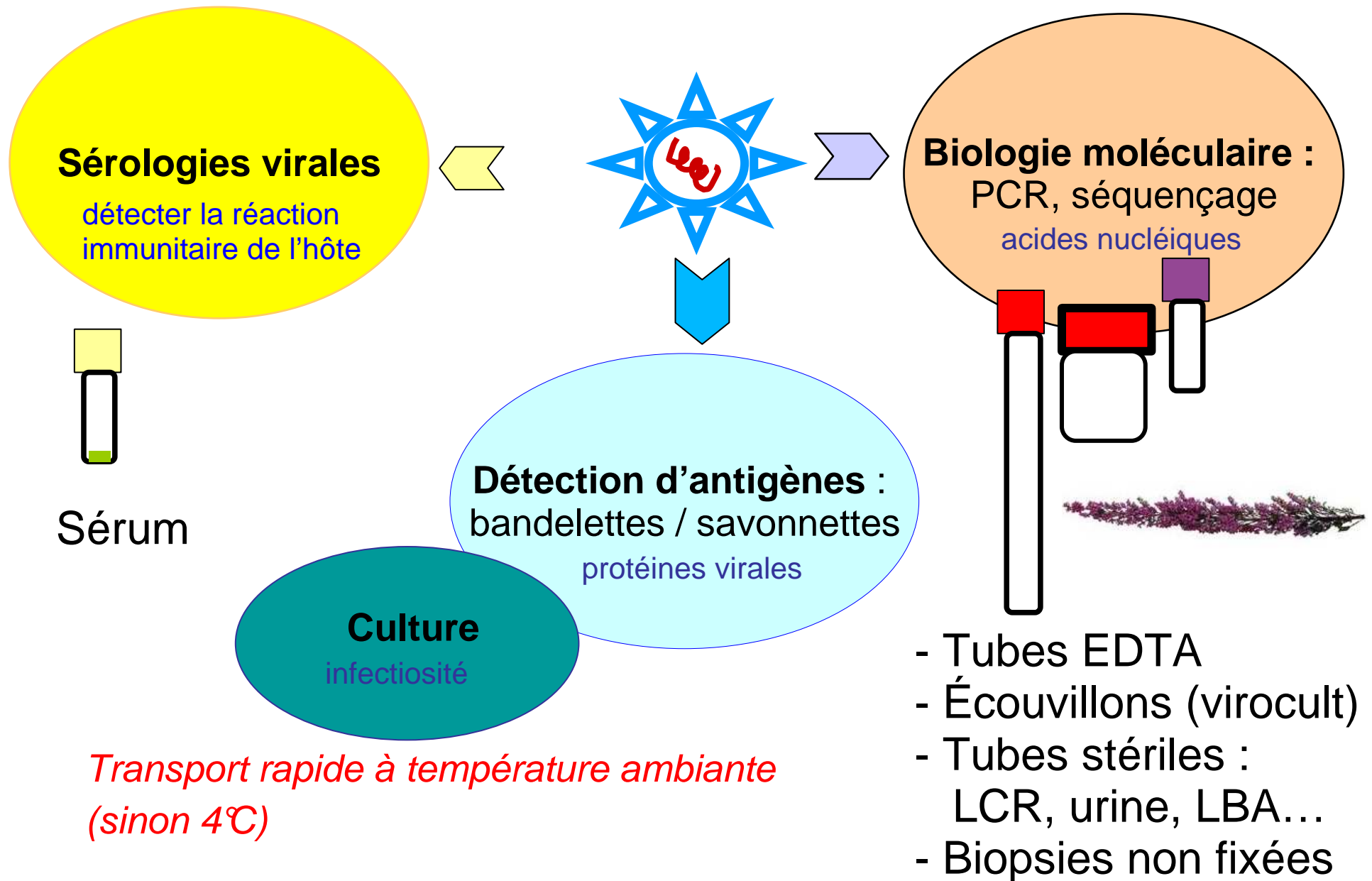


ED Médecine Tropicale

somar.kassab@chu-bordeaux.fr
marie-edith.lafon@u-bordeaux2.fr

Quelles méthodes et quels prélèvements ?

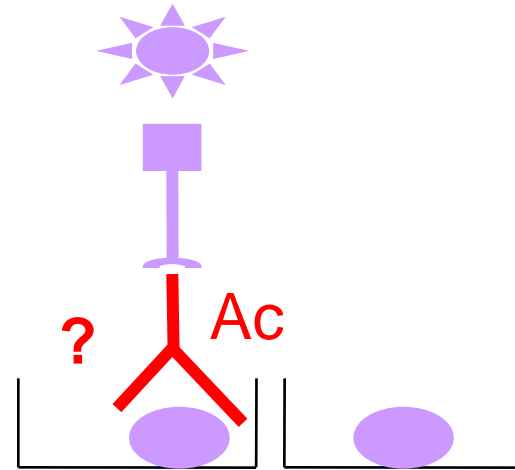


Sérologies virales



Sérum

Méthode :
ELISA



Chémiluminescence
tubes unitaires

HIV,
HCV, HBV, HAV
CMV, EBV, HSV, VZV,
rubéole

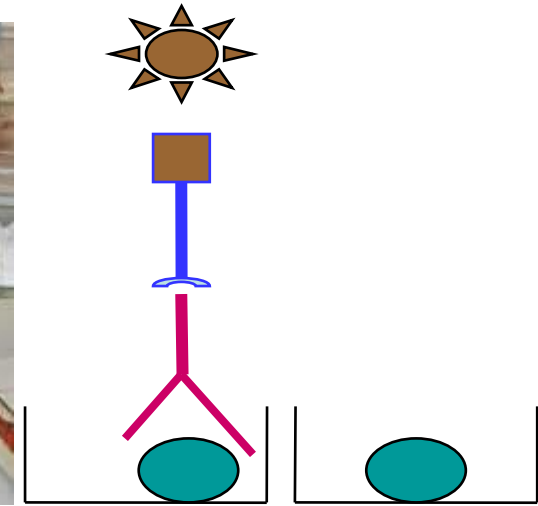


Plaques ELISA

Autres sérologies



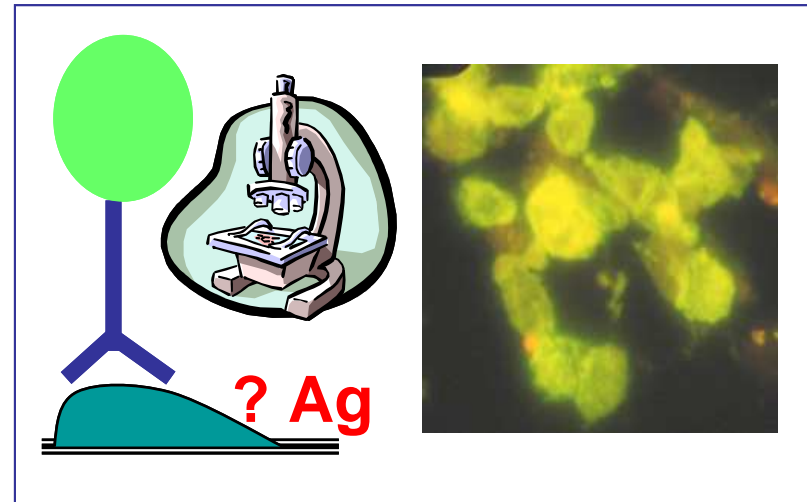
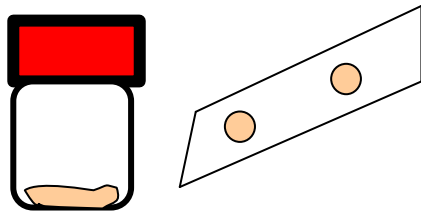
Sérologies virales



- **But** : mise en évidence d'un contact
- **Intérêts** : automatisation, rapidité, sensibilité / spécificité (ELISA)
- **Limite** : sensibilité moindre aux âges extrêmes
croisements antigéniques
interprétation des IgM

Détection d'antigènes
Immunofluorescence

Bandelettes / savonnettes



HSV avant accouchement

But :

détection de la présence du virus en forte quantité

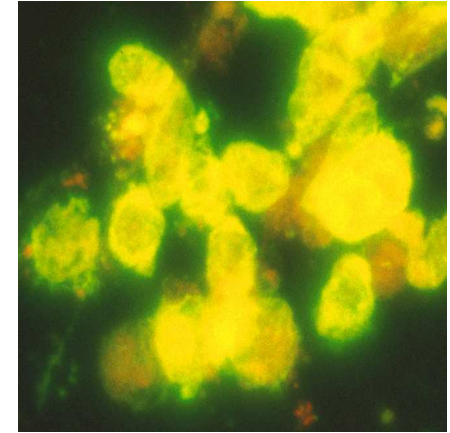
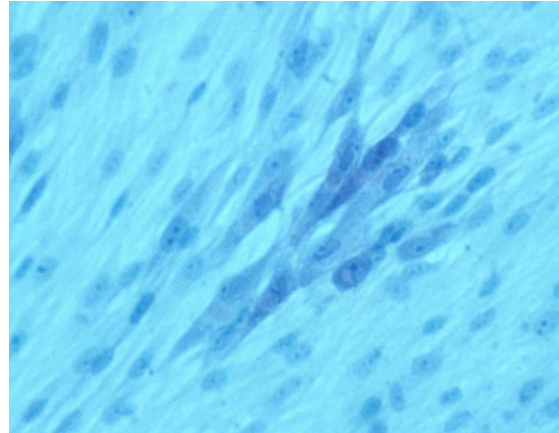
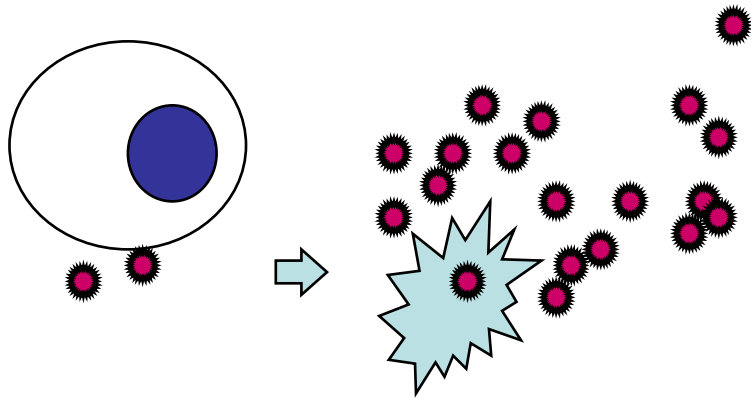
Intérêt : rapidité (20 minutes à 3 heures)

Limites : manque de sensibilité, lecture subjective



Rotavirus

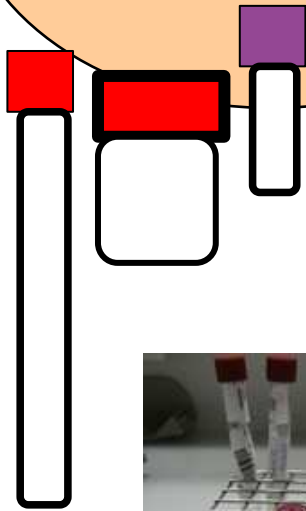
Cultures virales



- **But :**
démonstration du caractère infectieux du virus
- **Intérêt :** technique de référence (phénotype d'une souche)
- **Limites :**
lenteur : 3 semaines pour les négatifs + + +
virus non ou mal cultivables

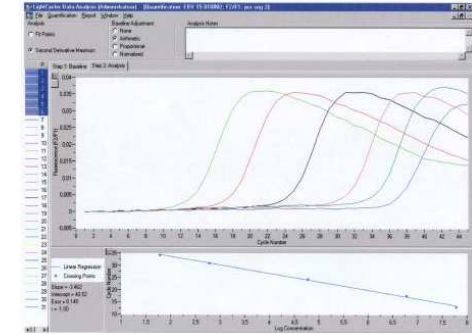


Biologie moléculaire :
PCR, séquençage

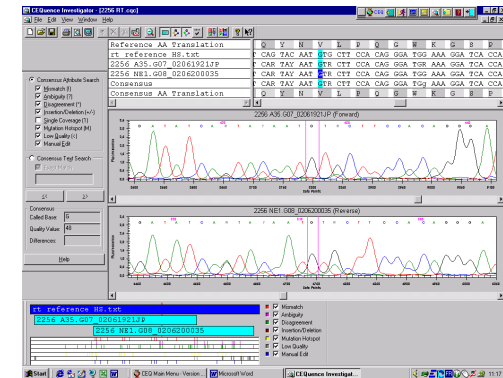


Pas de tube hépariné

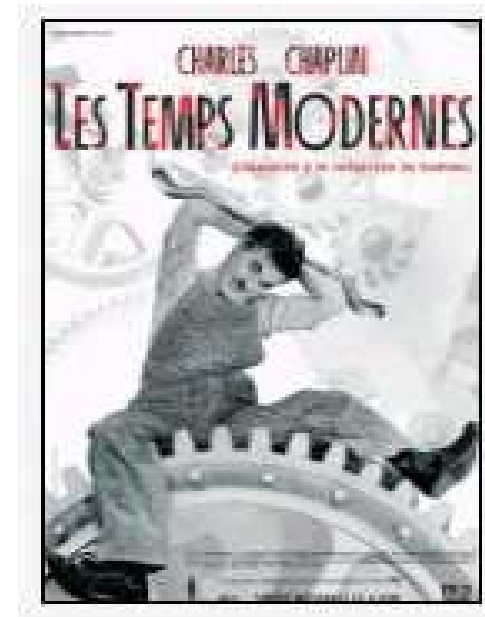
PCR en temps réel : quanti / quali
HIV, HBV, HCV « charges »
CMV, EBV, HHV6,
HSV, VZV, Grippe, ...



Séquençage : HIV, HCV, HBV



« Contraintes » pré-analytiques



- Guide de Bonne Exécution des Analyses (1999)
Norme iso 15189 (Accréditation des Laboratoires de Biologie Médicale)

biologiste responsable des étapes pré-analytiques

- * choix des échantillons,

- * modalités de prélèvement, transport et conservation

- Bon sens et prudence : contact téléphonique avec le laboratoire partenaire
 - * vérifier les conditions
 - * prévenir de l'expédition d'un tube « précieux »

Hépatite aiguë

-Transaminases

- Sérologies virales :

HAV : IgM + IgG-

HEV : IgM+ IgG-

HBV : Ag HBs+ IgM anti HBc+

Hépatite chronique

HBV : Ag HBs+ Ac anti HBc+
Delta ?

HCV : Ac anti HCV+ ARN +

Vaccination

- HBV : Ac anti-HBs > 10 UI/mL
 Ac anti HBc négatifs
- HAV : IgG anti HAV positives

**Tolérance
Immunitaire**
ALT normales

**Clairance
Immunitaire**
ALT élevées

Réactivation
IgM anti HBc
ALT élevées

Portage inactif
ADN VHB faible
ALT normales

ou

Mutants pré-core
ADN VHB élevé
ALT élevées

Ag HBe

Ac anti HBe

Ag HBe

Ac anti HBe

Ac anti HBc = contact

Ag HBs = hépatite B en cours

Hépatite B chronique

années

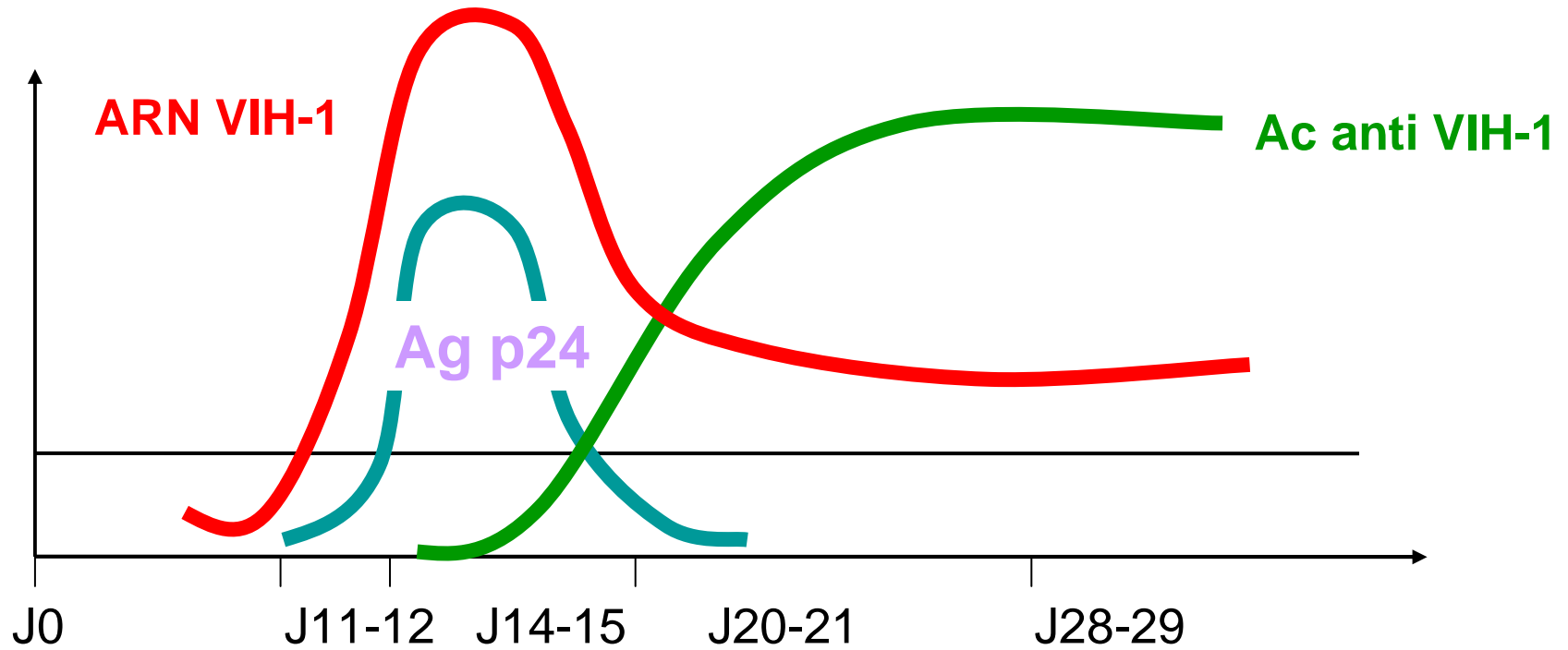
Infection par le VIH

- 1) Diagnostic de contact avec le virus :
sérologie + WB (un seul test ELISA suffit)
confirmation sur 2ème prélèvement

- 2) Suivi :
 - charge VIH (ARN quantitatif) et CD4 : 3/an

 - résistance au traitement :
mutations de résistance (génotype de résistance)
dans les gènes viraux codant
transcriptase inverse, protéase, gp41, intégrase, gp120

Primo-infection par le VIH-1



Fenêtre sérologique

Virologie tropicale : diagnostic biologique

Dr Somar KASSAB
Laboratoire de Virologie
CHU de Bordeaux

DU de Médecine Tropicale

Introduction

- Zoonoses ? Pas toujours.
- À transmission vectorielle ? Pas toujours.
- Hémorragiques ? Pas toujours.
- Exotiques ? Pas toujours.
- Léthalité variable.
- Potentiel épidémique variable.
- Toutes des pathologies **émergentes**.

Introduction

- **Alphavirus** : Chik, O'Nyong Nyong, Ross River, Mayaro
- **Flavivirus** : Dengue, YHF, WN, TBE, EJ
- **Bunyavirus** : Crimée-Congo, RVF, Hantavirus
- **Arenavirus** : Lassa, Junin, CML
- **Filovirus** : Ebola, Marburg

Diagnostic

- **Contexte épidémiologique :**
 - aire de répartition géographique du virus, du vecteur et du réservoir
 - saison d'activité vectorielle
 - épidémies en cours
- **Chronologie des signes :**
 - compatibilité de la période d'incubation

Diagnostic

- Plusieurs **tableaux cliniques**:
 - syndrome algo-éruptif fébrile
 - atteintes neurologiques périphériques et/ou centrales et atteintes oculaires.
 - syndrome hémorragique (thrombopénie, hépatite, CIVD)
 - syndrome rénal
 - syndrome pulmonaire

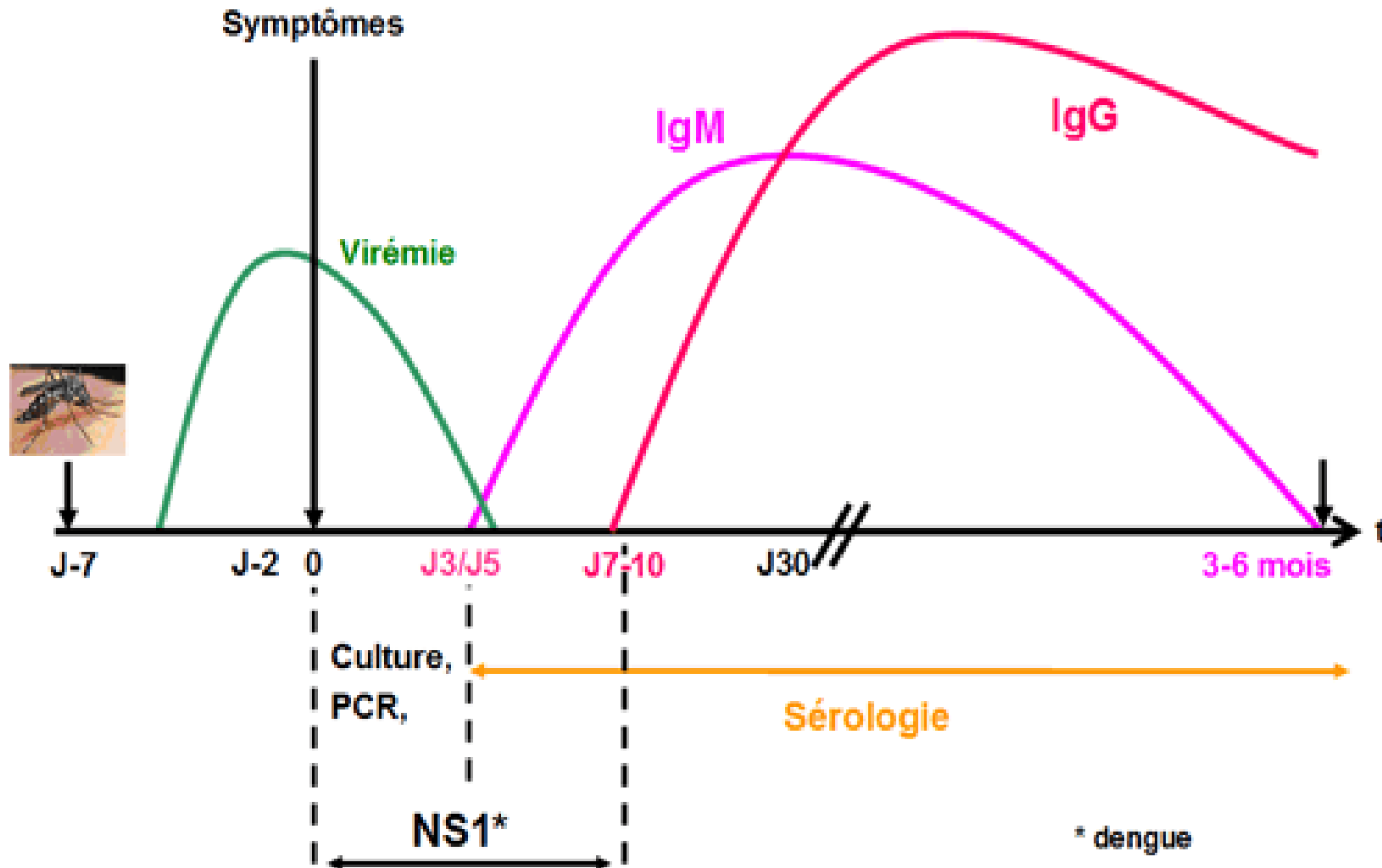
Diagnostic

- Souvent les **tableaux sont incomplets** avec des signes aspécifiques, surtout au début de l'infection.
- Même en période épidémique le tableau clinique ne permet pas de poser le diagnostic à coup sûr à cause des **diagnostics différentiels** (virologiques, bactériens et parasitaires)
- D'où **l'importance de la biologie** pour confirmer le diagnostic et éliminer les diagnostics différentiels

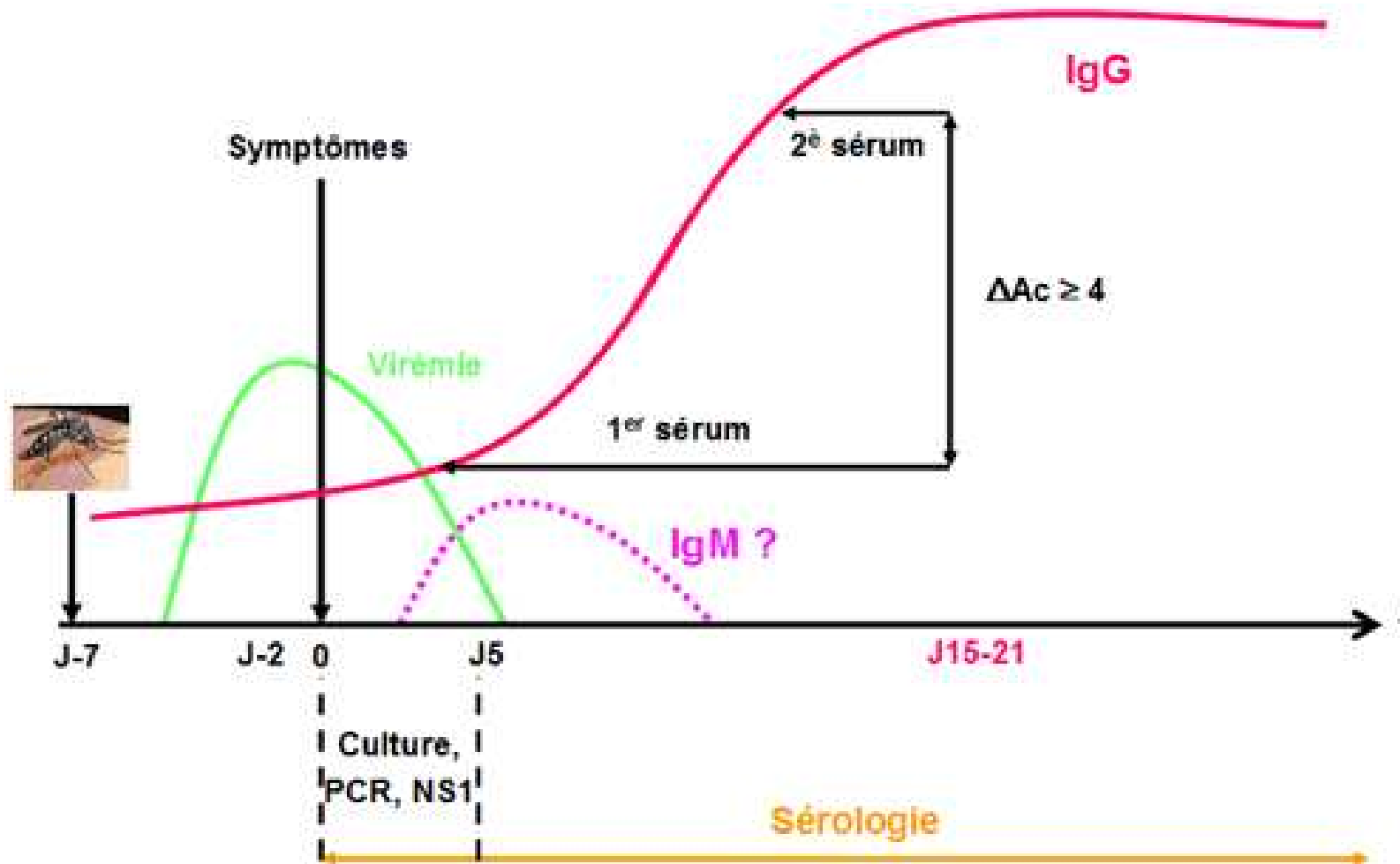
Diagnostic pour l'InVS

- **Déclaration obligatoire** des cas importés et autochtones confirmés et probables:
 - cas **confirmé** : isolements par culture ou RT-PCR ou séroconversion IgM/IgG
 - cas **probable** : signes cliniques et IgM
 - cas **suspect** : signes cliniques

Diagnostic biologique



Diagnostic biologique

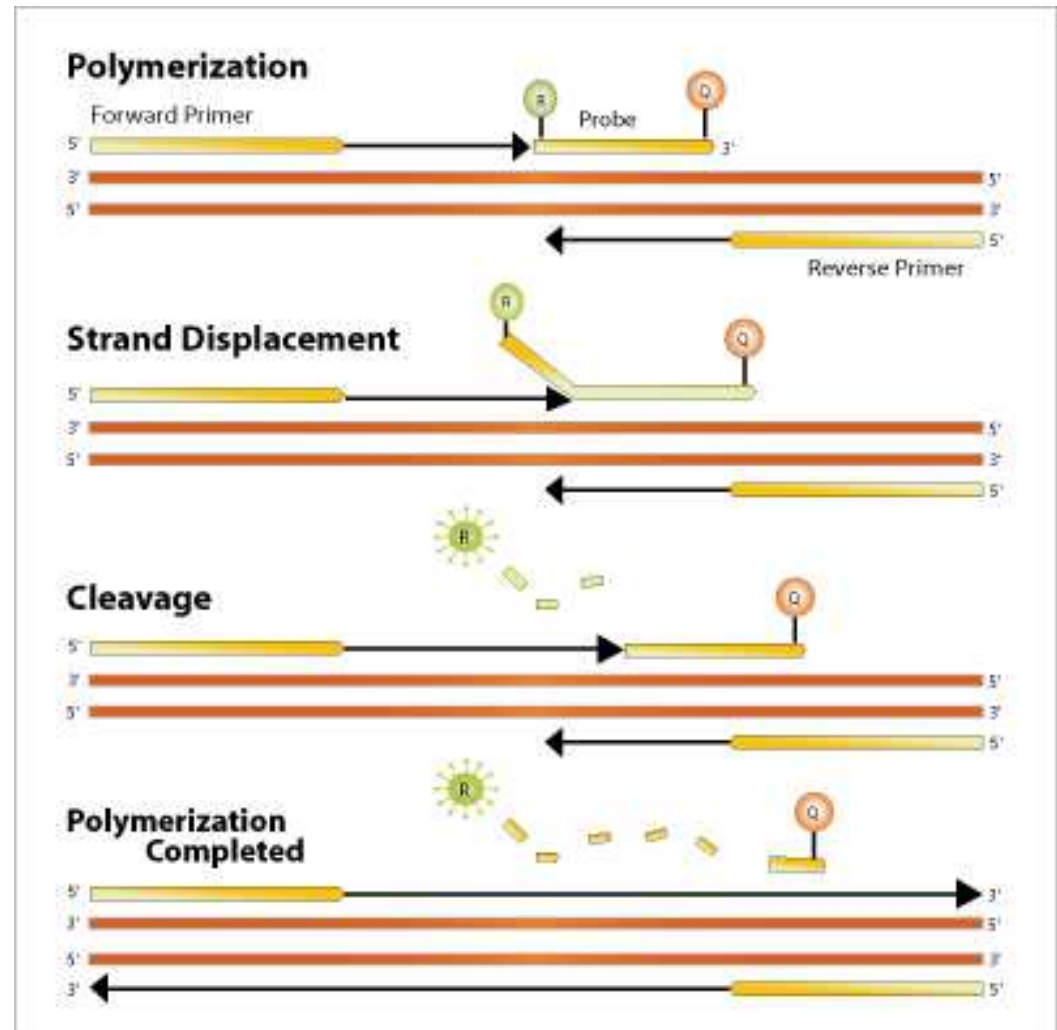


Diagnostic biologique

- Culture cellulaire :
 - laboratoire P3 ou P4 avec agrément
 - intérêt épidémiologique et pour la recherche
 - non faite en routine car longue et coûteuse

Diagnostic biologique

- RT-PCR :
après une étape de retro-transcription de l'ARN viral en ADNc, on a plusieurs cycles de PCR



Analysis Points
 Second Derivative Maximum

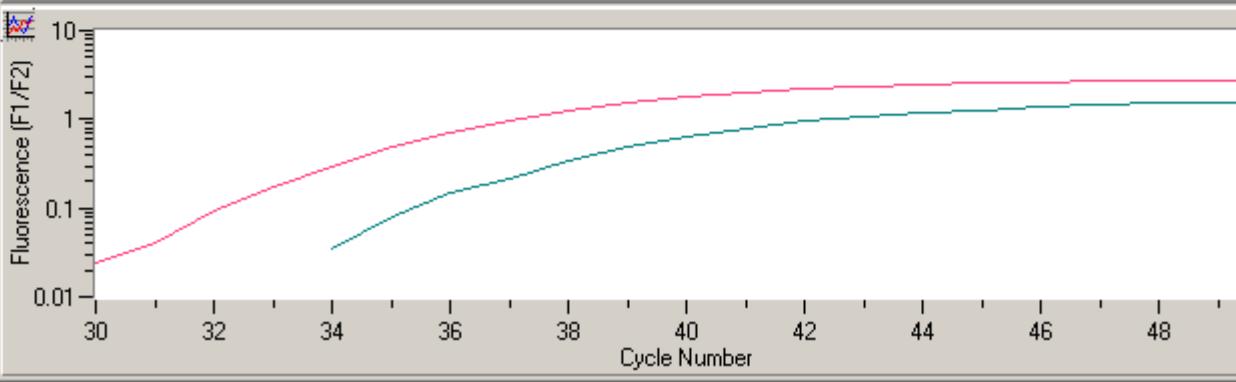
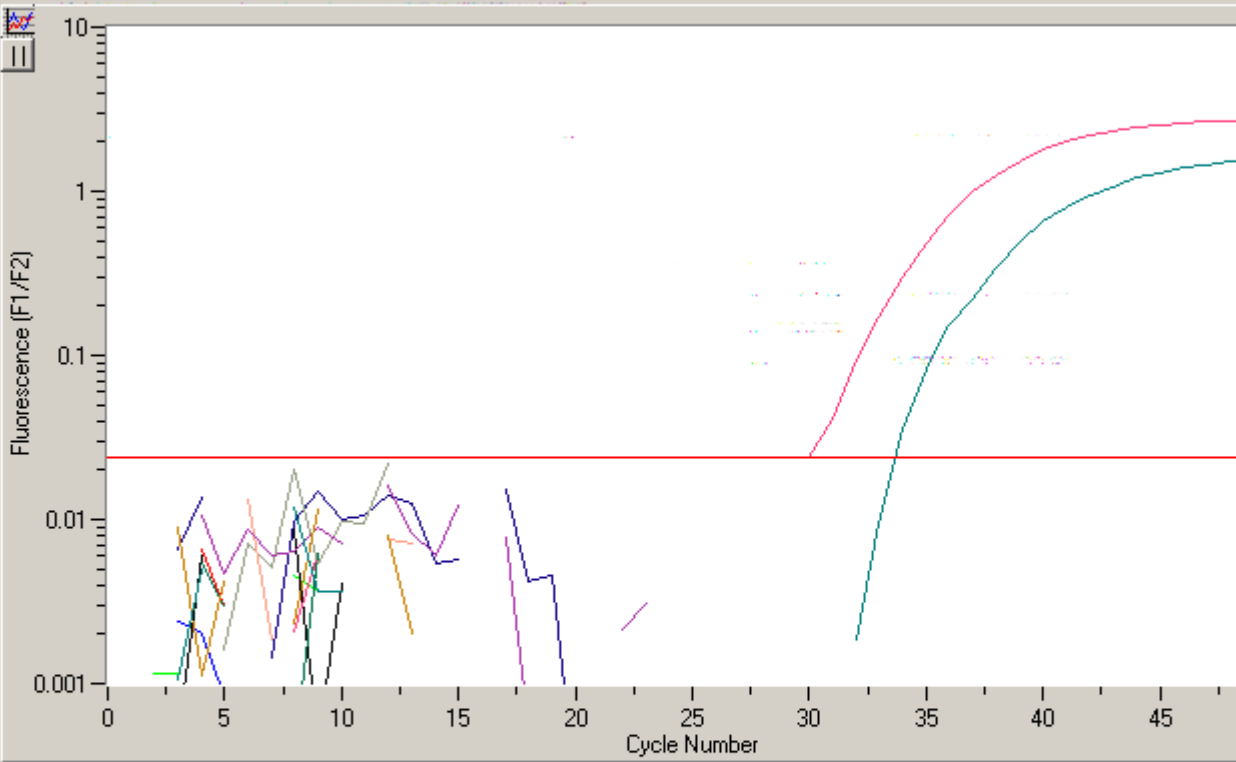
Baseline Adjustment
 None
 Arithmetic
 Proportional
 Normalized

Number of Points
 2
 Show Fit Points

Analysis Notes

| P... | Name | Calculat... | Cro... |
|------|----------|-------------|--------|
| 1 | c2193685 | | |
| 2 | c2205425 | | |
| 3 | c2221725 | | |
| 4 | c2230659 | | |
| 5 | c+ | 0.000E+00 | 29.99 |
| 6 | c- | | |
| 7 | d2193685 | | |
| 8 | d2205425 | | |
| 9 | d2208917 | | |
| 10 | d2221725 | | |
| 11 | d2230659 | | |
| 12 | c+ | 0.000E+00 | 33.51 |
| 13 | c- | | |

Step 1: Baseline Step 2: Noise Band Step 3: Analysis



Diagnostic biologique

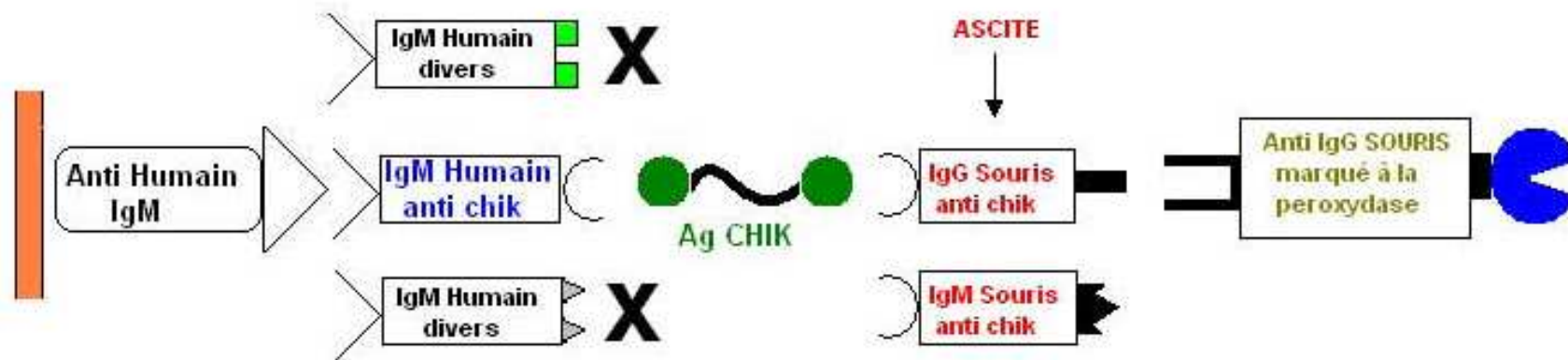
- RT-PCR : spécifique
 - sur prélèvement précoce : plasma, LCR.
 - nécessité une extraction de l'ARN
 - techniqué rapidement car ARN fragile
 - sensibilité variable en fonction des limites techniques de la RT-PCR et des condition de conservation du prélèvement

Diagnostic biologique

- Sérologies :
 - il existe des kits commerciaux pour de nombreux arbovirus
 - mais la technique de référence reste l'ELISA en Double Sandwich car c'est la plus sensible et spécifique.

Diagnostic biologique

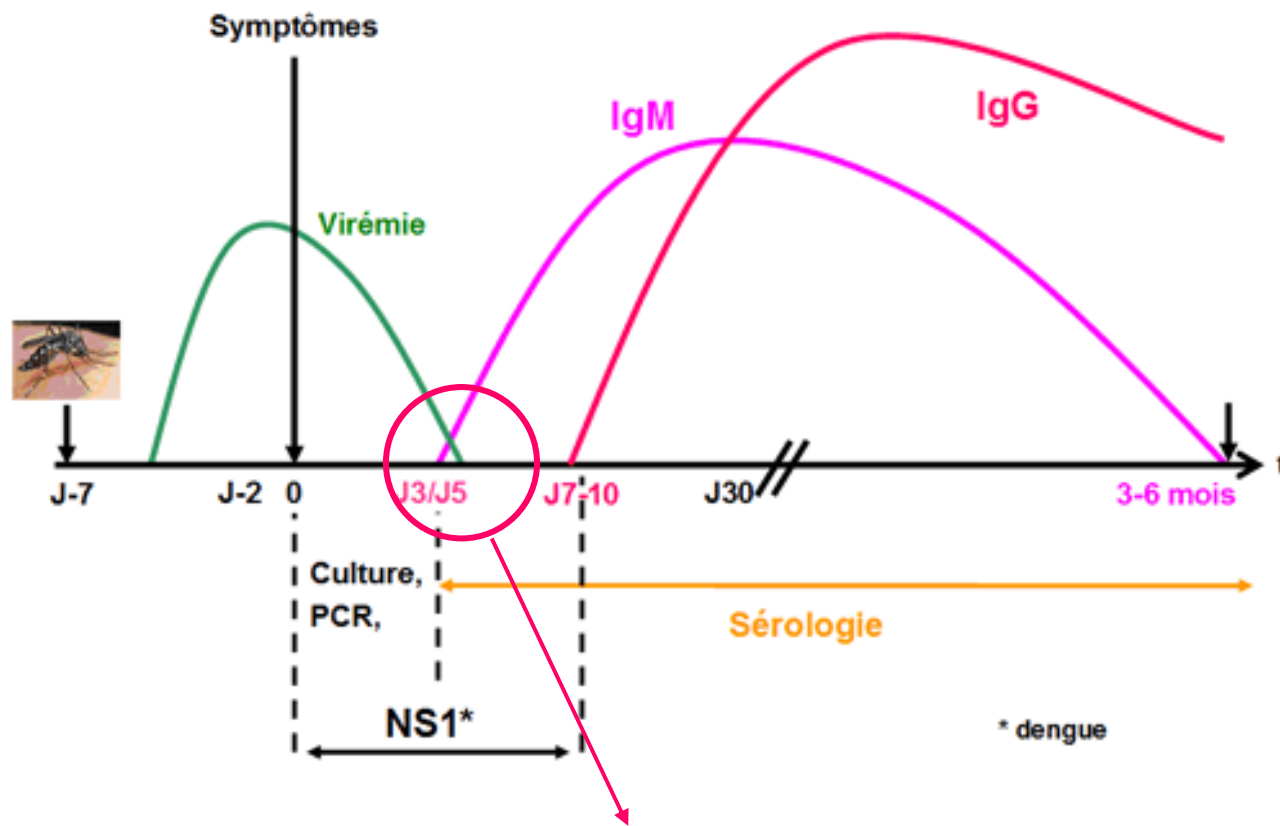
Serologie chikungunya



Diagnostic biologique

- Sérologies :
 - IgM : moins spécifiques, réactions croisées
 - IgG : possibilité d'une cicatrice sérologique
- Toujours 2 prélèvements à 10 jours d'intervalle pour suivre l'évolution

Diagnostic biologique



IgM Neg : trop précoce ???

RT-PCR Neg : trop tardif ??? Pas sensible ??? ARN dégradé ???

En pratique

- Dans tous les cas, **toujours** :
 - un **prélèvement précoce** pour la RT-PCR et une sérologie initiale
 - un **prélèvement à J10** pour une sérologie tardive
 - des **renseignements cliniques** joints à la demande pour savoir ce que l'on doit rechercher

Conclusion

- Ne pas hésiter à nous contacter
- Le diagnostic nécessite une collaboration entre le clinicien, le biologiste et l'épidémiologiste
- Il est indispensable de poser un diagnostic de qualité pour ces pathologies émergentes

MERCI