

Du prélèvement au résultat

Traitement des prélèvements virologiques

(sérologies, charge virale VIH, culture virale)

marie-edith.lafon@chu-bordeaux.fr

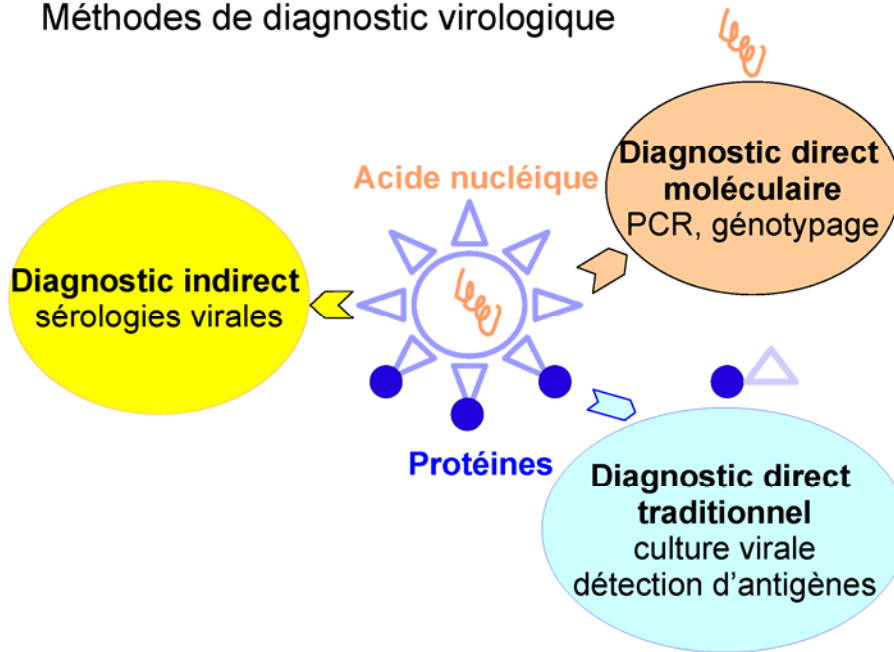
« Contraintes » pré-analytiques



- Guide de Bonne Exécution des Analyses (1999) :
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 de prélèvement souhaitables
 - * prévenir de l'expédition d'un tube « précieux »

Méthodes de diagnostic virologique




Sérologies virales

- **Echantillon : tube sec** (sérum)
transport : température ambiante
conservation : 4°C
- **Principe** : recherche d'Ac
Ig totales, IgM, IgG
- **Sérologie positive :**
le patient a été en contact avec le virus
- **Intérêt** : rapidité (4h à 1j)
- **Limite** :
sensibilité moindre : nourrissons,
personnes âgées et immunodéprimées
- **Coût (exemple)** : (B=0,27 euros)
sérologie HIV B70



Cas particulier : Accident d'Exposition au Sang

Patient source	Patient exposé
1) Infection VIH ? sérologie rapide (4h)  puis diagnostic classique	1) Traitement anti-rétroviral précoce et durant 1 mois si PS infecté VIH
2) VHC ?	2) Accident du travail et sérologies initiales (sans urgence)
3) VHB ?	3) Suivi pendant 6 mois (7 mois si traitement anti-VIH)

Echantillons pour le diagnostic direct
(PCR ou techniques traditionnelles)

- **Sans milieu de transport :**
tube stérile
LCR, urine, selles, liquides divers,
biopsies non fixées...



sang total sur tube EDTA (jamais d'héparine +++)



- **Ecouvillon plongé dans un milieu de transport**
Virocult : gorge, nez, conjonctives, vésicules



- **Frottis sur lame (gynécologie)**

Transport rapide à température ambiante (sinon 4°C)



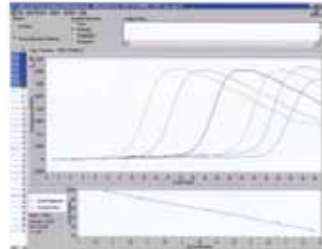
Les cibles du diagnostic direct

Structure détectée	Méthode	Applications
<i>Virus complet</i>	culture virale	HSV, VZV entérovirus, adénovirus
Protéines virales (antigènes)	diagnostic direct « rapide »	Rota /Adeno RSV, grippe, PIV HSV, VZV CMV
Acides nucléiques viraux	biologie moléculaire	HIV, HCV, HBV V. respiratoires, V. opportunistes, V. neurotropes

Charge HIV et autres examens moléculaires

- **Amplification génique (PCR)**
*HIV, HCV, HBV, CMV, HSV, virus opportunistes,
virus neurotropes, virus respiratoires...*
 - **Hybridation**
papillomavirus (HPV)
- Applications qualitatives (diagnostic)
et quantitatives (suivi sous traitement)**
- **Séquençage nucléotidique :**
*suivi sous traitement
mutations de résistance HIV (3 gènes du HIV)
mutations de résistance HBV (1 gène HBV)
génotype HCV avant traitement*

- **PCR positive : le virus est présent**



- **Intérêt** : sensibilité
40 copies d'acide nucléique / mL
- **Limite** : organisation du laboratoire
règles de manipulation, délai d'obtention du résultat
- **Coût** : charge HIV B300

Cultures virales

- **Echantillon** : tout type de liquide biologique
transport à **4°C**
- **Principe** : recherche de virus entier infectieux



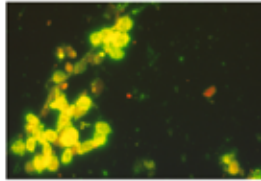
- **Culture positive : le virus est infectieux**
- **Intérêt** : technique de référence
- **Limite** : délai (48h-10j), **3 semaines pour les négatifs**
- **Coût** : entérovirus dans les selles B150

Cas particuliers : détection d'antigènes

- **Echantillons :**

écouvillon vaginal (**HSV pre-partum**),
écouvillon nasal ou pharyngé (**virus respiratoires**),
selles (**gastro-entérites**),
sang total sur EDTA bouchon violet (**Ag CMV pp65**)

HSV



VRS

- **Principe :** recherche de protéines virales
- **Test positif :** le virus est présent en grande quantité
- **Intérêt :** rapidité (20 minutes à 3 heures)
- **Limite :** manque de sensibilité + + + faux négatifs
- **Coût :** HSV sur prélèvement vaginal B 100

Analyse clinique
clé de voûte du diagnostic



Diagnostic virologique
techniques complémentaires

Etape pré-analytique
conditionne la qualité du résultat



Collaboration étroite entre le service et le laboratoire

Rodin, Le Secret

