

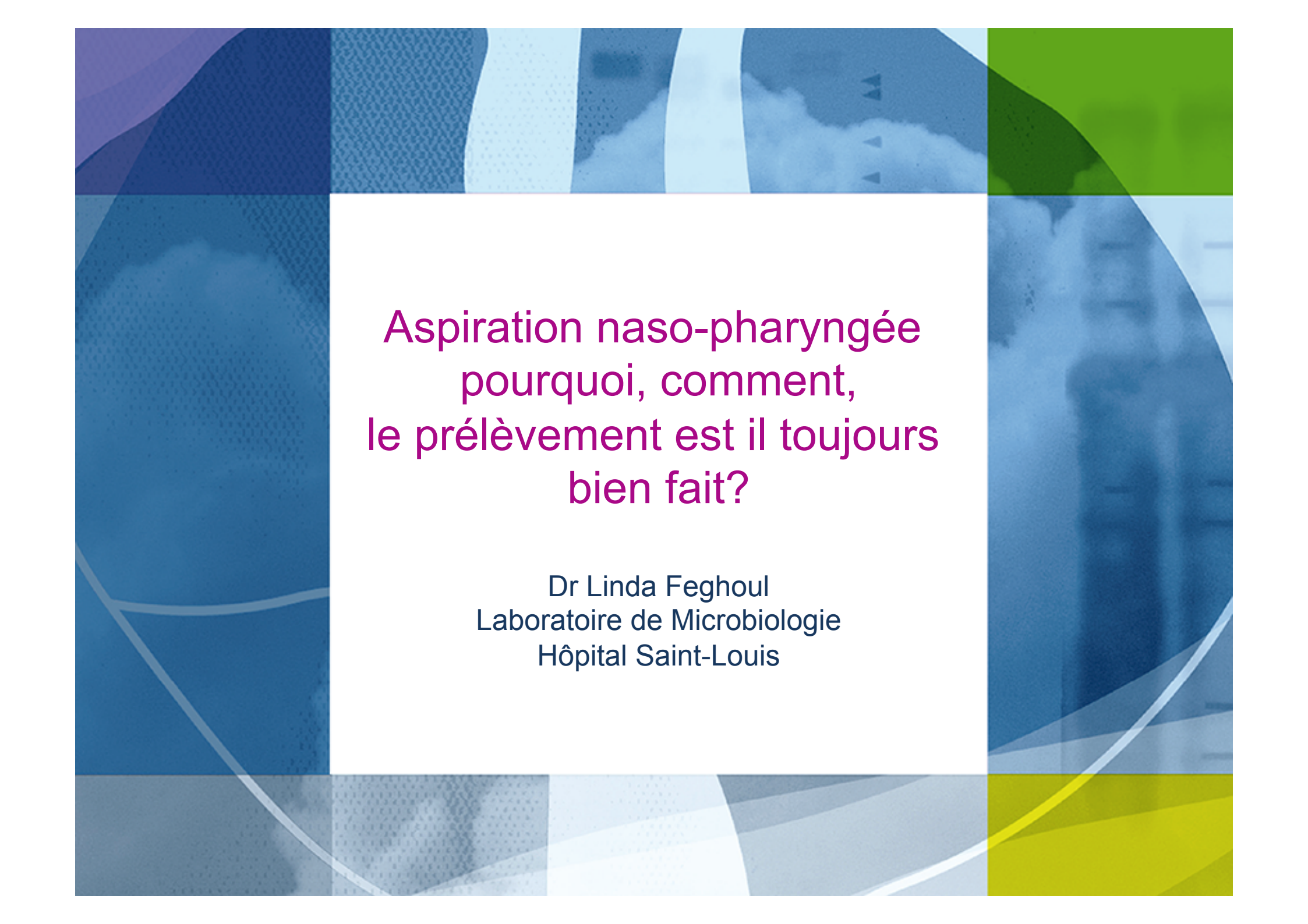


**Journées
du GREPI**

des jeudi 14
et vendredi 15
Novembre 2013



Déclaration de conflits d'intérêt
Absence de conflits d'intérêt



Aspiration naso-pharyngée pourquoi, comment, le prélèvement est il toujours bien fait?

Dr Linda Feghoul
Laboratoire de Microbiologie
Hôpital Saint-Louis



Aspiration nasopharyngée

- Technique invasive de désencombrement ou d'évacuation des sécrétions des voies aériennes supérieures à l'aide d'une sonde d'aspiration
- Utilisée chez les personnes incapables d'évacuer les sécrétions par la toux
- Personnes intubées ventilées
- Prévention de l'inhalation bronchique
- Diagnostic des infections respiratoires

Pourquoi?

- Infections respiratoires = cause majeure de consultation aux urgences et d'hospitalisation
- La plupart d'origine virale
- Diagnostic : mise en évidence du virus dans les prélèvements.
- **Aspiration naso-pharyngée**
- Ecouvillonnage nasal , LBA
- Dissuasion d'utiliser inutilement les antibiotiques

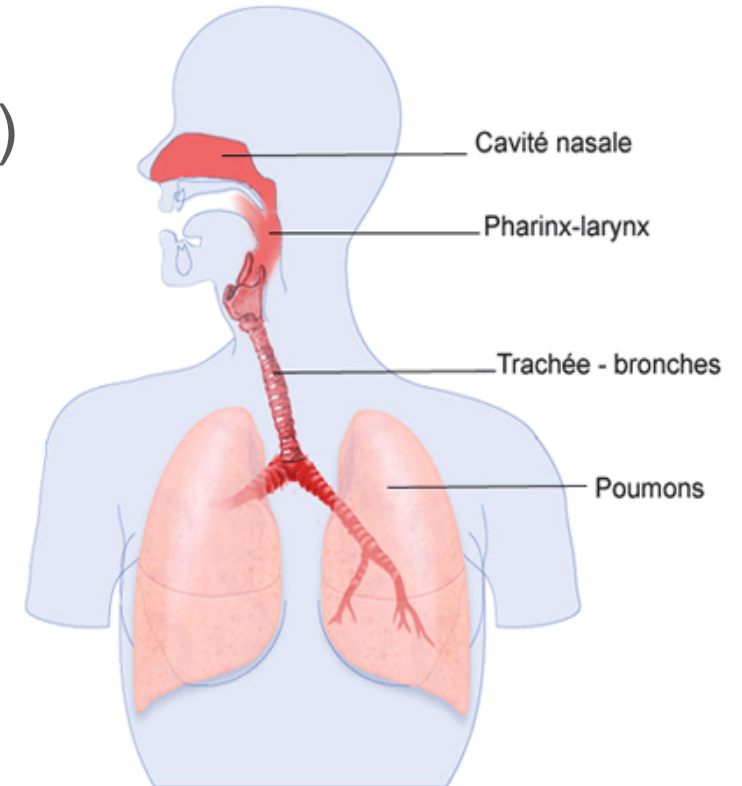


Atteintes respiratoires virales

- Virus transmis par voie aérienne : « virus respiratoires »
- Atteintes respiratoires hautes (rhinite ou rhinopharyngite)
- Selon les virus atteinte des voies respiratoires basses : bronchites, bronchiolites et plus rarement, atteinte pulmonaire

Virus → Infections respiratoires ?

- Virus influenza
- Virus respiratoire syncytial (VRS)
- Virus parainfluenza (PIV)
- Adénovirus
- Metapneumovirus (hMPV)
- Rhinovirus
- Coronavirus
- Bocavirus

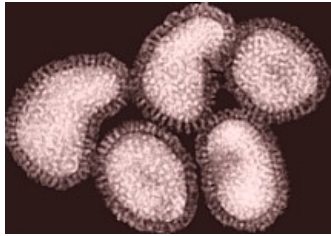


Virus → Infections respiratoires ?

| Syndromes | Causes virales |
|-------------------------------|---|
| Rhinite | Rhinovirus, Coronavirus |
| Pharyngite | Adénovirus, Parainfluenza Influenza, RSV, EBV, HSV |
| Laryngite | Parainfluenza |
| Bronchite | Influenza |
| Bronchiolite | RSV, Adénovirus, Rhinovirus, Coronavirus, Rougeole, Parainfluenza 3 |
| Pneumopathie communautaire | Influenza, Adénovirus, RSV, Parainfluenza, Rhinovirus |

« Virus respiratoires »

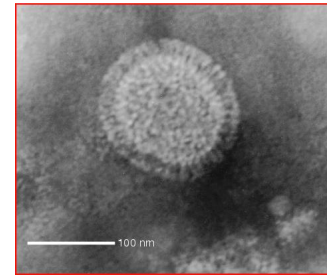
Virus à ARN



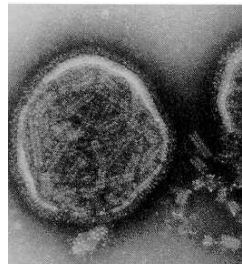
Influenza (A, B)



VRS (A, B)



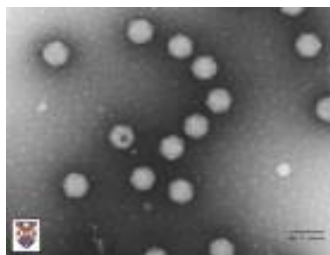
hMPV (A, B)



PIV (1-4)

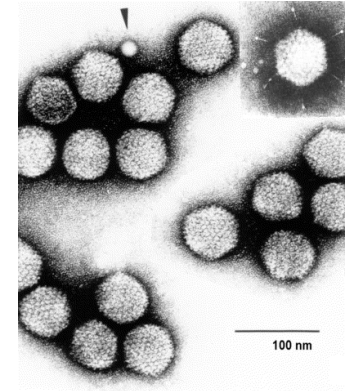


Coronavirus
(229E, OC43, NL63, HKU1, SRAS)



Rhinovirus

Virus à ADN



Adénovirus



Bocavirus

...



Immunodéprimés

- Ne pas oublier les infections opportunistes
- Réactivation de virus persistants
- Herpesvirus
 - CMV / HHV-6
 - HSV
 - EBV

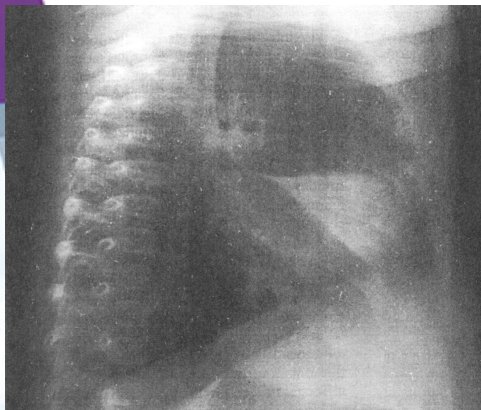
Diagnostic virologique – Indications ?



1. Bronchiolite du nourrisson

VRS+++

- Conférence de consensus 2000
- Formes communes : pas d'examen complémentaire



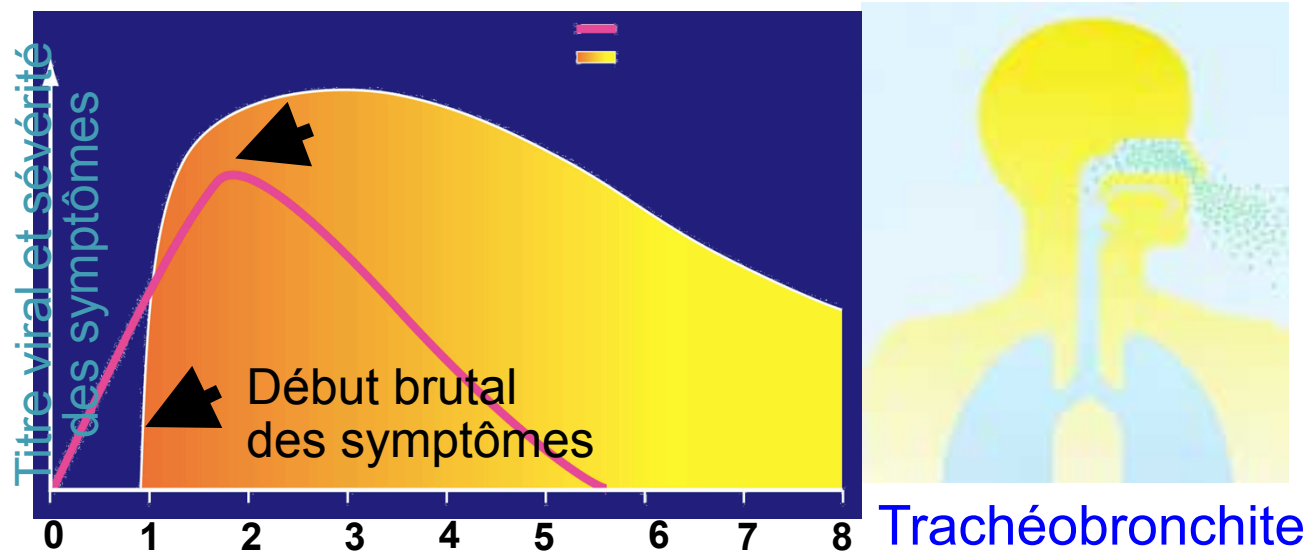
2. Formes graves

- Pneumonie de l'immunodéprimé
- IRA - Réanimation
- Diagnostic étiologique

Diagnostic virologique – Indications ?

3. Virus Influenza A/B – Grippe saisonnière

Fièvre, céphalées, myalgies, toux



Pas d'examen complémentaire : formes communes

Coût médical et social des épidémies

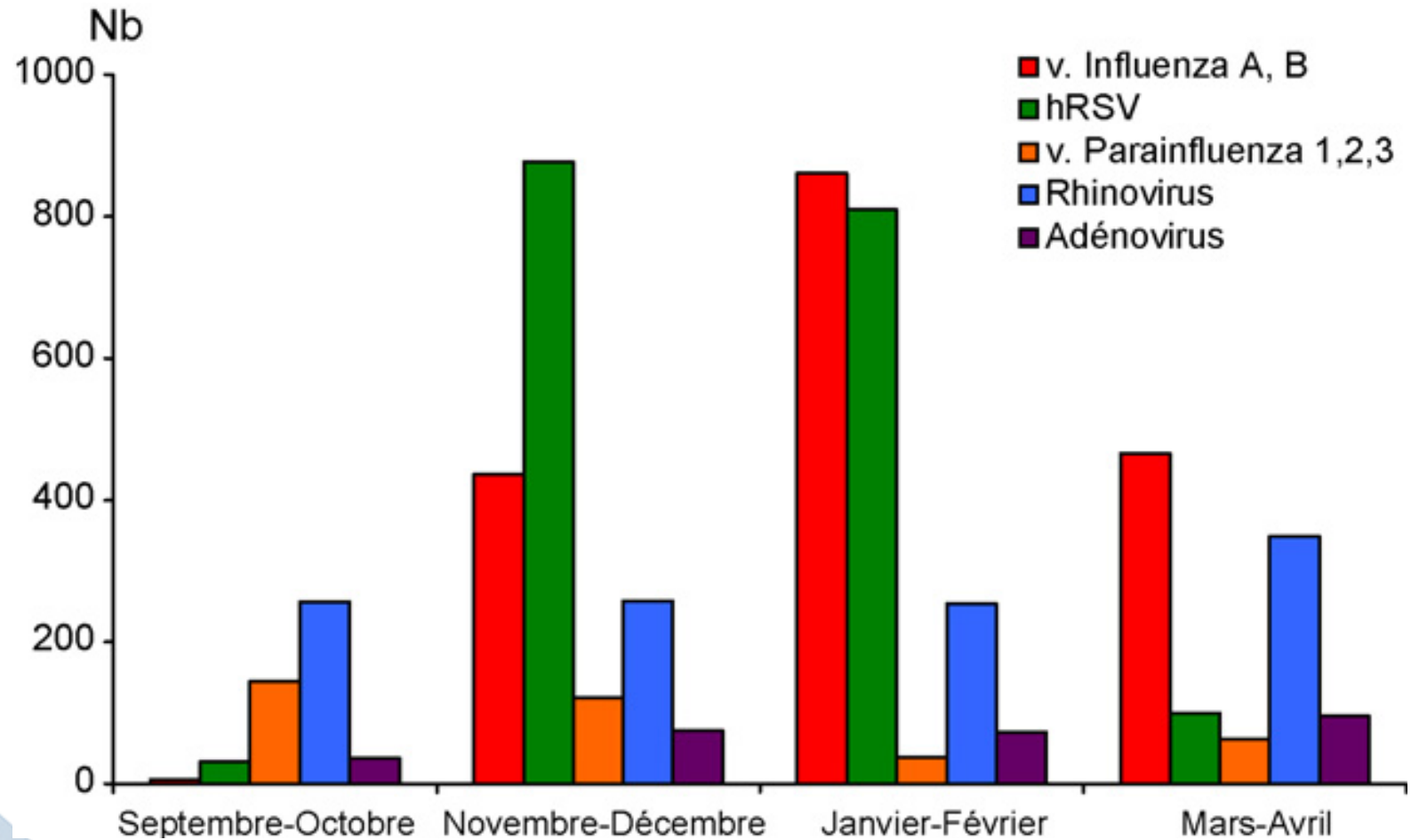


Epidémiologie

Variable en fonction

- De la saison
- De la population
- Des pathologies

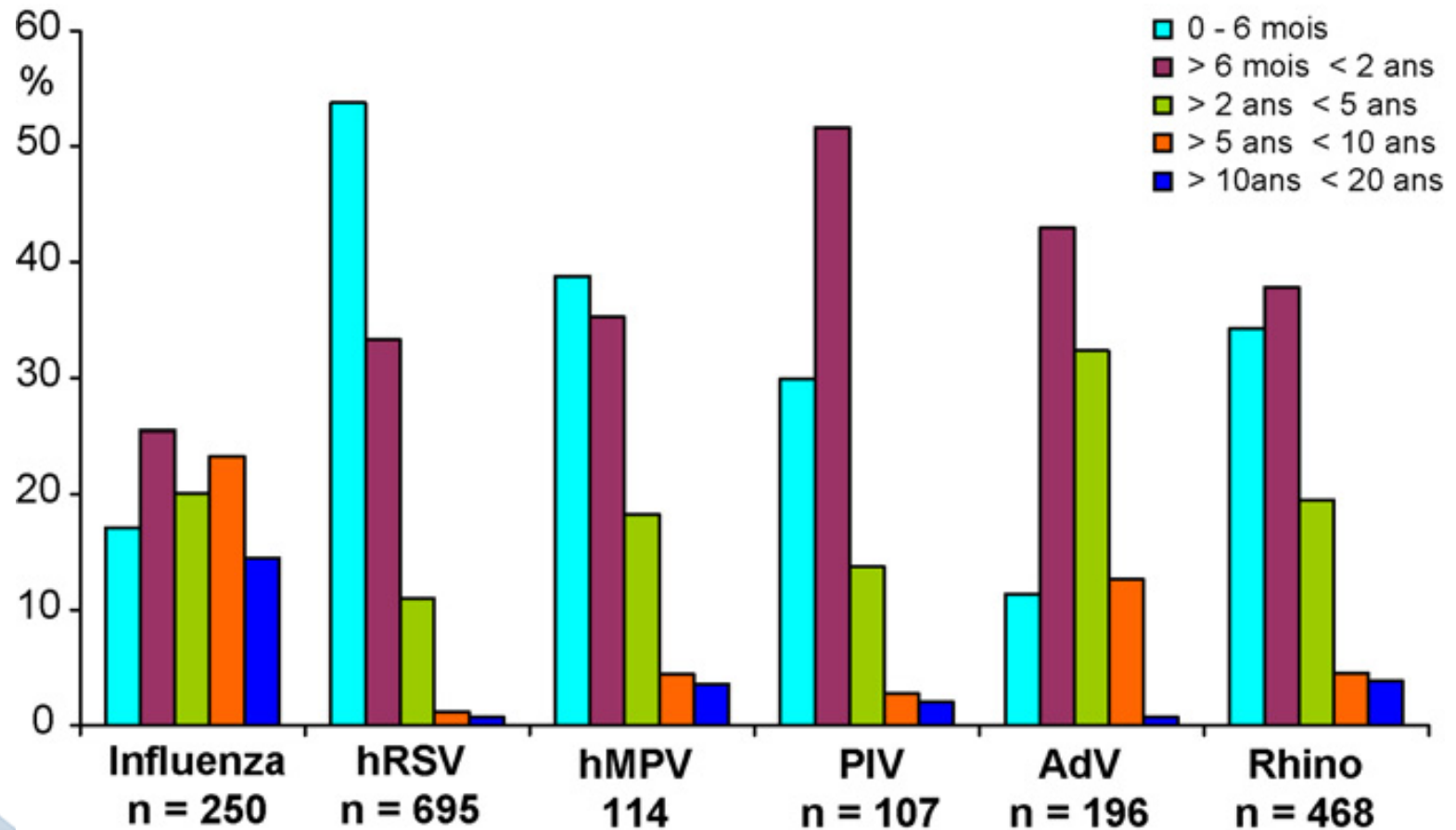
Saison



Les virus des bronchiolites aiguës. Arch Pediatr. 2010 Aug;17(8):1192-201.

Freymuth F, Vabret A, Dina J, Cu villon-Nimal D, Lubin C, Vaudecrane A, Guillois B, Gouarin S, Petitjean J, Lafaix-Delaire F, Brouard J.

Age - Bronchiolites



Les virus des bronchiolites aigües. Arch Pediatr. 2010 Aug;17(8):1192-201.

Freytmuth F, Vabret A, Dina J, Cuvillon-Nimal D, Lubin C, Vaudecrane A, Guillois B, Gouarin S, Petitjean J, Lafaix-Delaire F, Brouard J.

Comment ?

Matériels de prélèvement

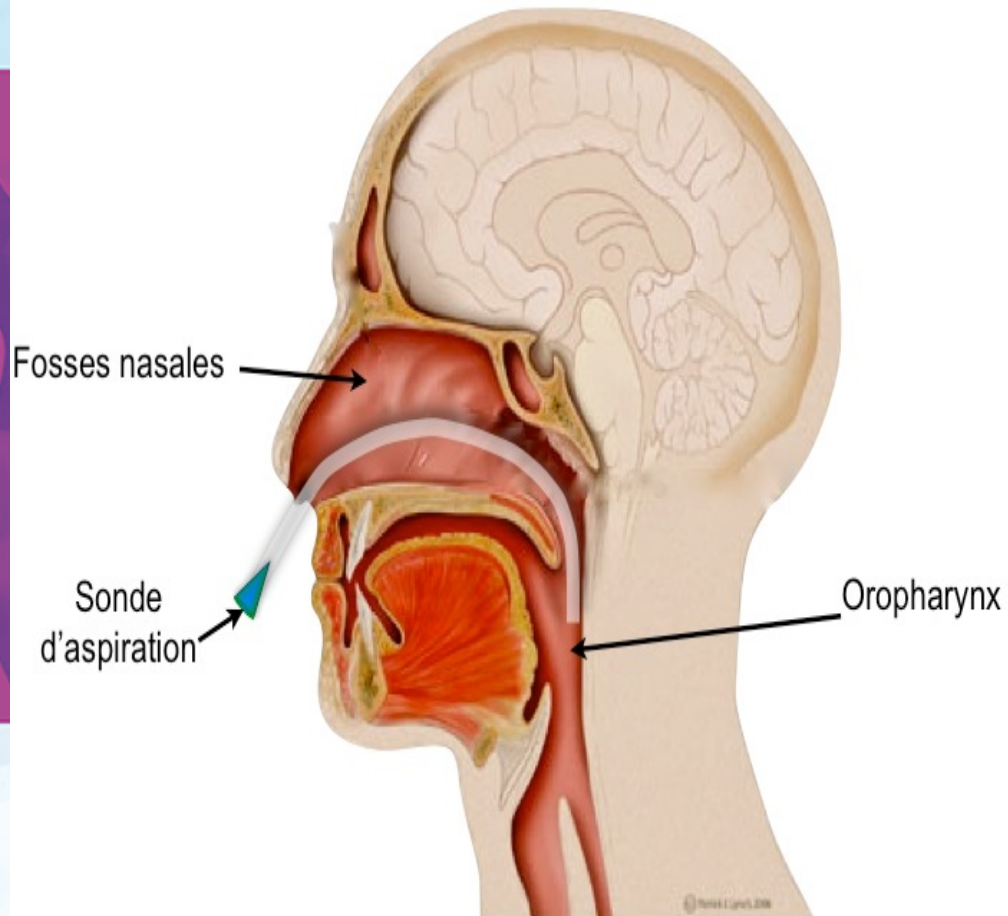




Prélèvement aspiration nasopharyngée

- Informer le patient de la nécessité du soin
- Etiqueter le tube conformément aux bonnes pratiques de laboratoire
- Se laver les mains : lavage simple ou SHA
- Mettre des gants, masque et surblouse
- *Anesthésie locale des cavités nasales (optionnel)*
- Prendre une sonde d'aspiration trachéo-bronchique, l'adapter au tuyau d'aspiration
- Lubrifier la sonde (serum physiologique ou KY®)

Prélèvement aspiration nasopharyngée



- Soulever la pointe du nez de manière à offrir la vision de la fosse nasale en enfilade au niveau de son plancher
- Brancher la sonde d'aspiration sur la seringue de 20 ml
- Introduire la sonde dans la narine perpendiculairement au plan de la face en longeant le plancher de la fosse nasale
- Enfoncer la sonde jusqu'au contact de la paroi rhinopharyngée.

Prélèvement aspiration nasopharyngée

- Instiller une pipette de sérum physiologique pour fluidifier les sécrétions si nécessaire
- Aspirer le mucus au moyen de la seringue sans mobiliser la sonde



OUI =>



NON =>



Prélèvement écouvillon endonasal

- Mettre des gants, un masque et une surblouse.
- Faire moucher le patient pour éliminer l'excès de sécrétions nasales.
- Maintenir la tête du patient inclinée en arrière
- Insérer l'écouvillon dans la narine, et le pousser délicatement le plus loin possible, parallèlement au palais
- Réaliser délicatement des mouvements rotatifs pendant 15 secondes.
- Retirer lentement l'écouvillon.
- Plonger l'écouvillon dans le milieu de transport.
- Couper la tige et laisser l'écouvillon dans le milieu de transport, fermer et identifier le tube.



Acheminement des prélèvements

- Le plus rapidement possible
- Dans les 2 à 3 heures au laboratoire
- Horaires du laboratoire :
 - Du lundi au vendredi :8h-18h
 - Le samedi : 9h-16h30
 - Fermé le dimanche
- S'ils ne peuvent être acheminés rapidement et pendant la fermeture du laboratoire : doivent être conservés à +4°C

Au laboratoire

- Enregistrement du dossier
↓
- Traitement des aspirations naso-pharyngée :
fluidifiant
↓
- Diagnostic moléculaire : amplification de séquences
génétiques d'ADN ou d'ARN caractéristiques d'un
virus
 - Extraction des acides nucléïques

Au laboratoire

- Extraction automatisée :
 - Qiasimphony ®
- Techniques :
 - Smartfinder ®
 - IDAHO ®
 - Cepheid ® (test rapide grippe)
- Durée total :
 - Smartfinder : 24 à 48h
 - IDAHO et Cepheid : <4h
- Importance de la richesse en cellules infectées du prélèvement



Extracteur intégré

Smartfinder

18 Virus

- Influenza A, B, H1N1(2009)
- Parainfluenza Virus 1,2,3,4
- Respiratory Syncytial Virus A,B
- Human metapneumovirus
- Rhinovirus (A, B, C) / Entérovirus
- Coronavirus OC43, 229E, NL63, HKU1
- Bocavirus
- Adenovirus A-F

4 Bactéries

- *C pneumoniae*
- *L pneumophilla*
- *B pertussis*
- *M pnemoniae*

SmartFinder22®c

J0
<13H
2H30

Extraction

RT-PCR multiplex

Hybridation

J+1
6H

Ligation
PCR temps réel
Courbes de fusion

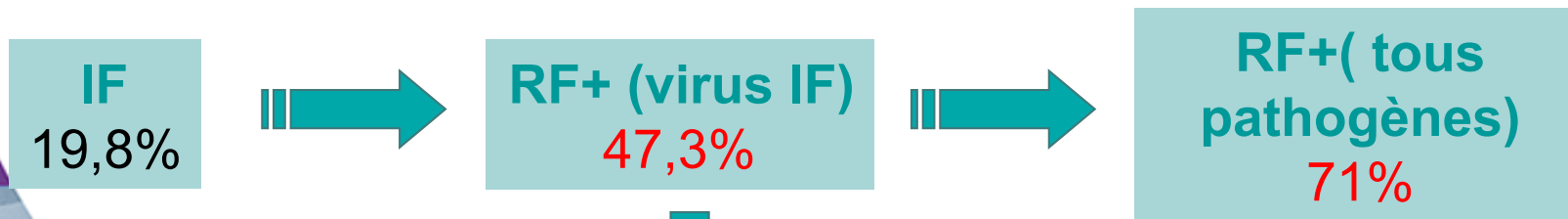
Analyse



Coût technique théorique ≈ 65 euros

Infections respiratoires aiguës chez les patients allogreffés de cellules souches

- Complications pulmonaires fréquentes
- Allopulm (A Bergeron, P Ribaud)
 - 01/2007 – 09/2009 - 83 patients – 237 échantillons

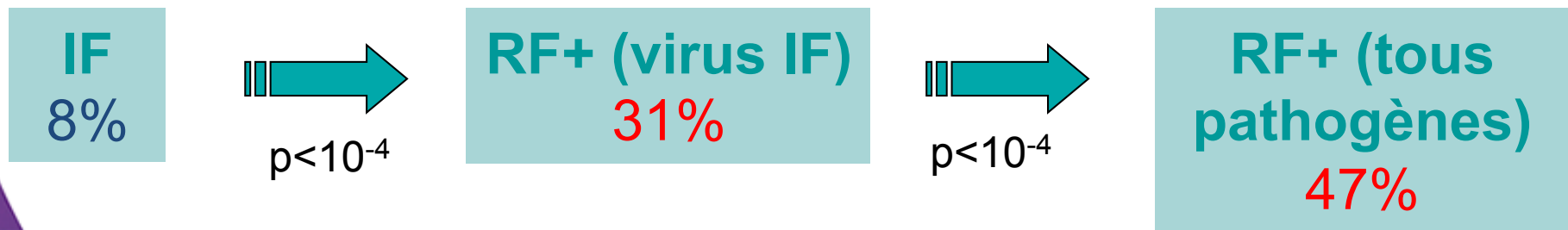


| | ADV | INF A | INF B | hMPV | VRS | PIV |
|------------------|---------|-------|-------|------|--------|------|
| IF | 0 | 6 | 3 | 18 | 10 | 5 |
| RespiFinder Plus | 14 | 17 | 8 | 25 | 34 | 14 |
| <i>p</i> | <0,0001 | 0,03 | 0,22 | 0,34 | 0,0002 | 0,03 |

B pertussis – 2
M pneumoniae - 1

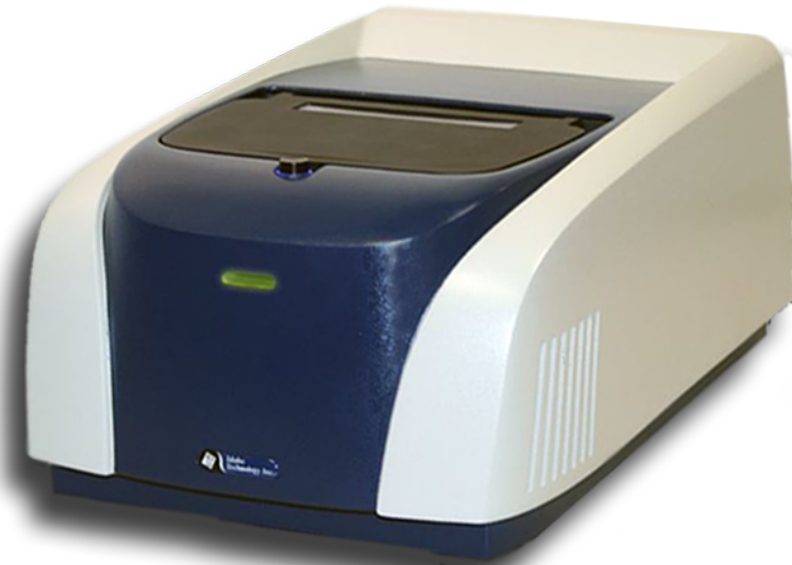
Patients immunodéprimés en Réa pour IRA

- 01-2007 – 07-2009 (E Azoulay, D Schnell)
- Réanimation médicale – Hôpital Saint-Louis
- 100 patients



| Diagnostic retenu | Virus + | |
|-------------------|---------|--------------------------------------|
| Infectieux 48 | 60% | |
| Non infectieux 40 | 30% | \Rightarrow Cofacteur ou portage ? |
| Sans étiologie 12 | 50% | \Rightarrow Etiologie ? |

IDAHO



- 1 heure
- 1 seul échantillon
- **150 euros**

Etude prospective

Evaluation de la technique FilmArray en comparaison avec la technique Smart22 :

- ✓ 206 prélèvements respiratoires (175 ANP et 31 LBA)
- ✓ 20 janvier 2012 au 22 février 2012

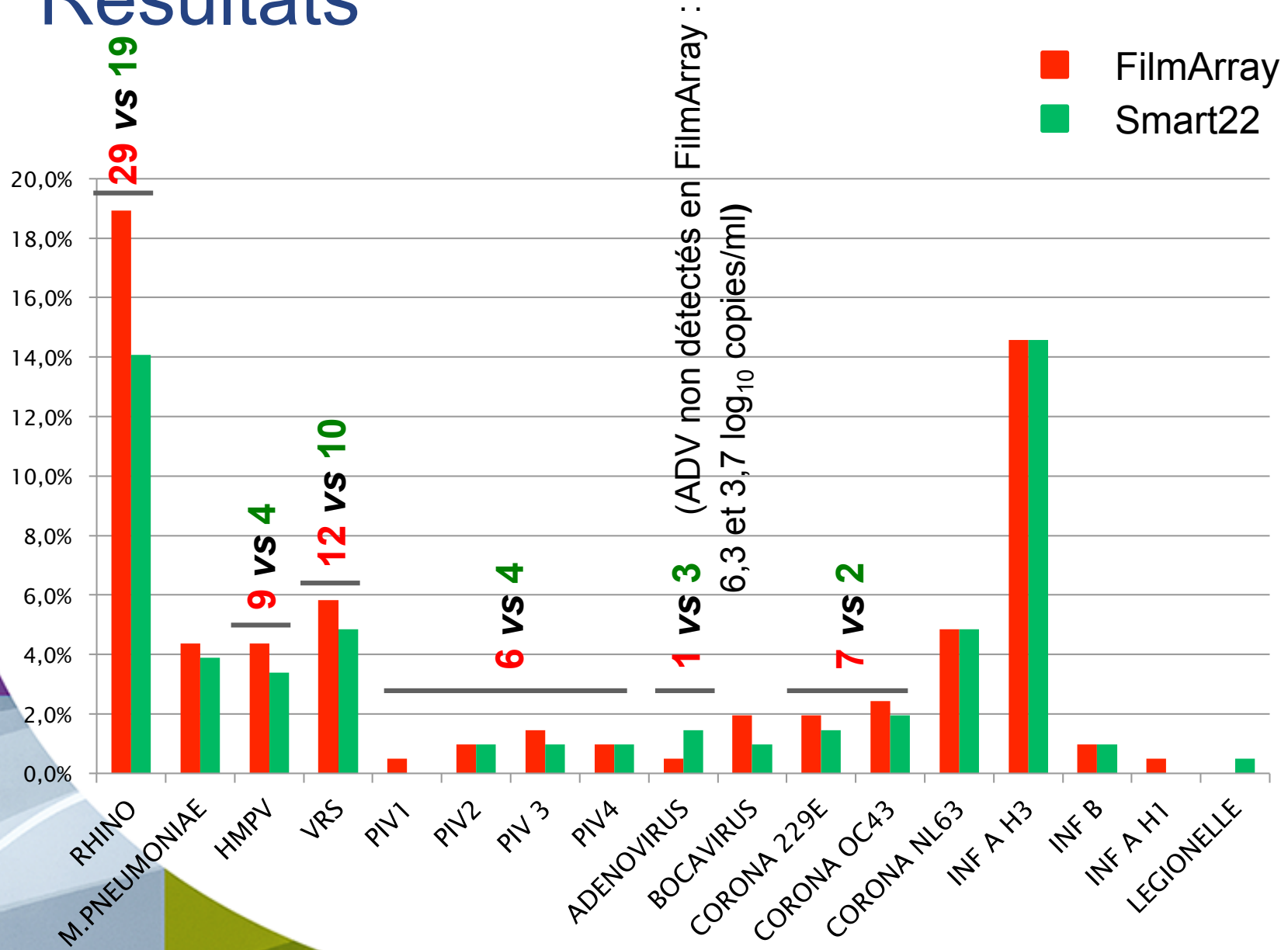
✓ Smart22 : test utilisé au laboratoire pour la détection des pathogènes respiratoires en pratique quotidienne

- extraction Easymag®
- une série / jour du lundi au vendredi

➤ Pathogènes détectés ?

Résultats

% de prélèvements positifs



Conclusion IDAHO vs smartfinder

- Système clos
- Un prélèvement à la fois

Les +

- ✓ Détection rapide et fiable des pathogènes respiratoires
- ✓ Formation très rapide du personnel et facilité d'utilisation
- ✓ **Pas de contamination post-PCR**

Les -

- ✓ Peu sensible pour la détection des ADV
- ✓ Pas de détection de Legionella pneumophila
- ✓ **Coût élevé : ≈ 150 € HT par test**
- ✓ Adaptée à l'urgence ou aux laboratoires ayant peu de prélèvements respiratoires à analyser au quotidien



Diagnostic grippe

GenExpert

- Délai 1H à 2H après réception du prélèvement en fonction de la quantité d'échantillons reçus, du matériel disponible dans le laboratoire et de la technique employée
- **Coût : 60 euros**

Diagnostic intégré Technologie Genexpert

Echantillon



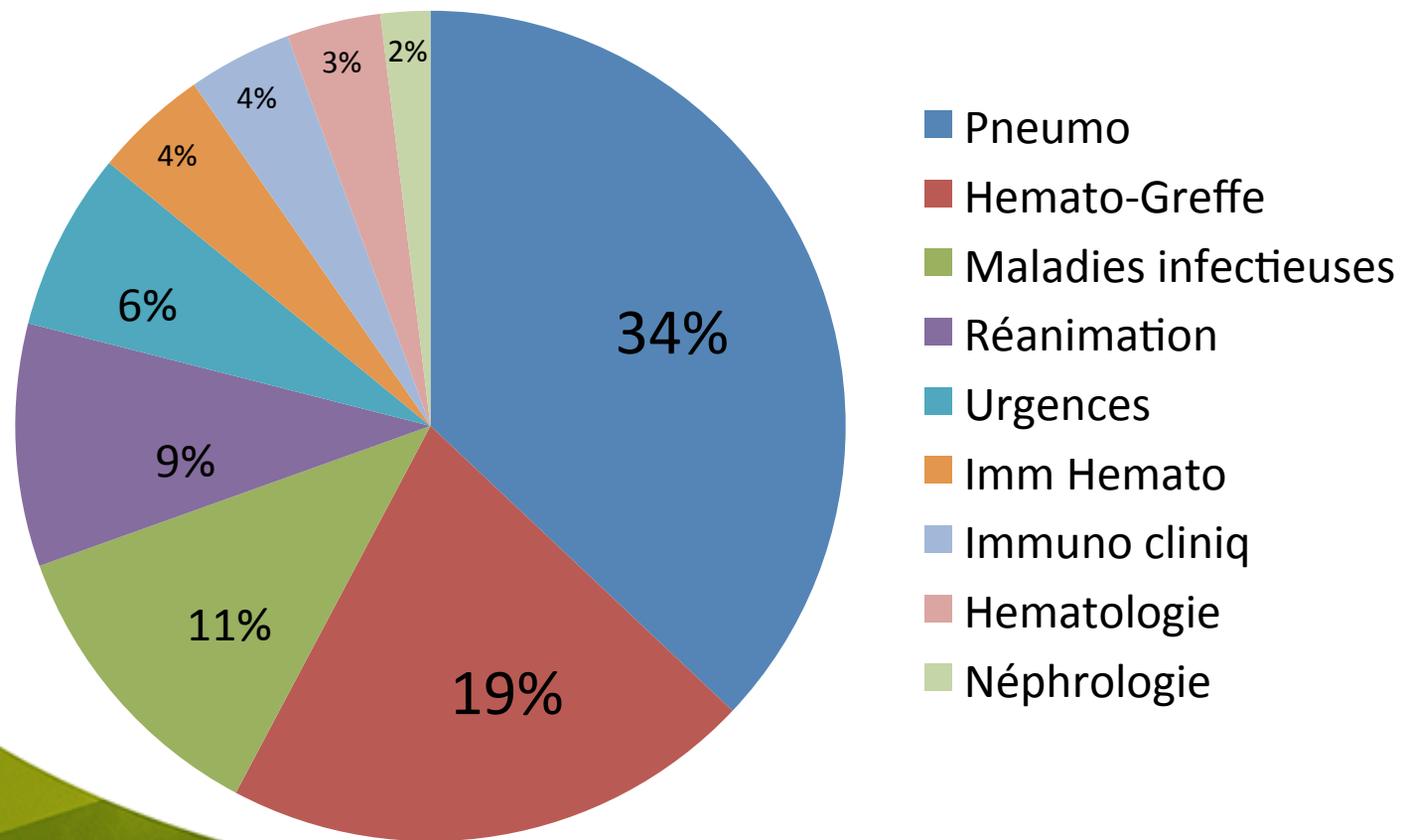
Réactifs



Extraction + Amplification = 1 heure

Recherche de virus respiratoires

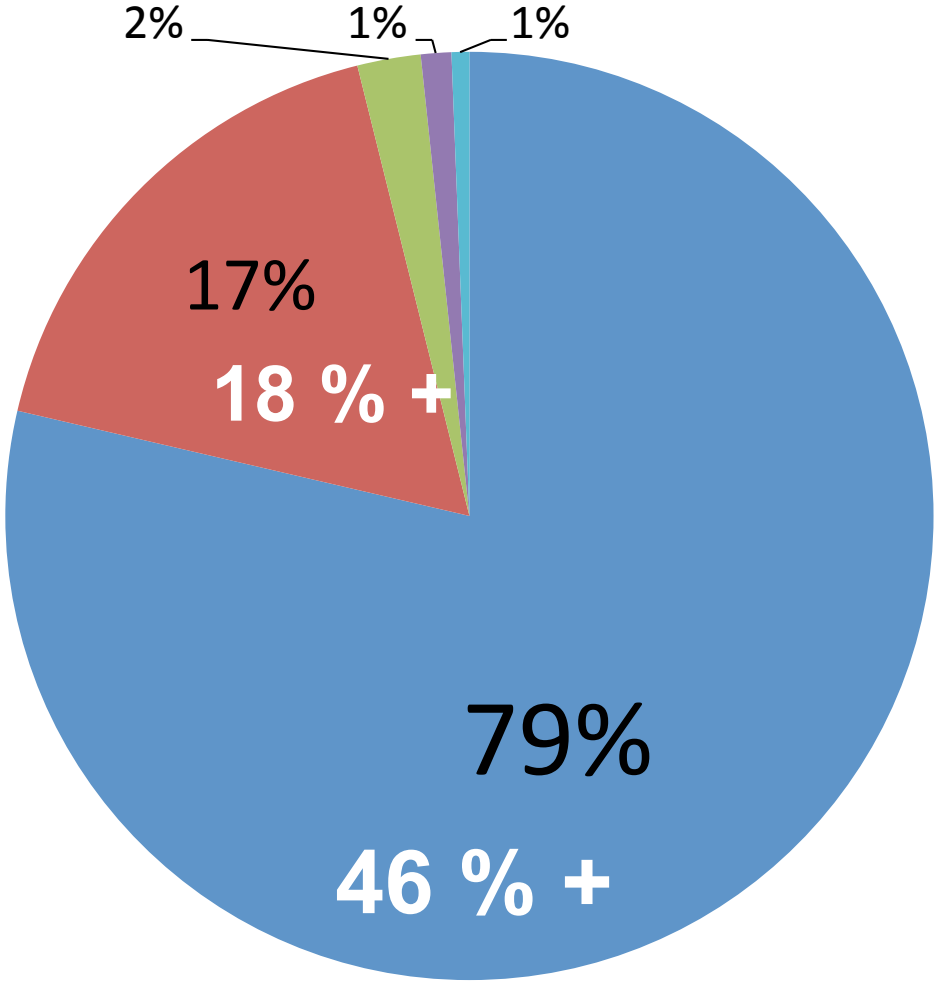
- 2011 1381 demandes
 - 82 % SLS



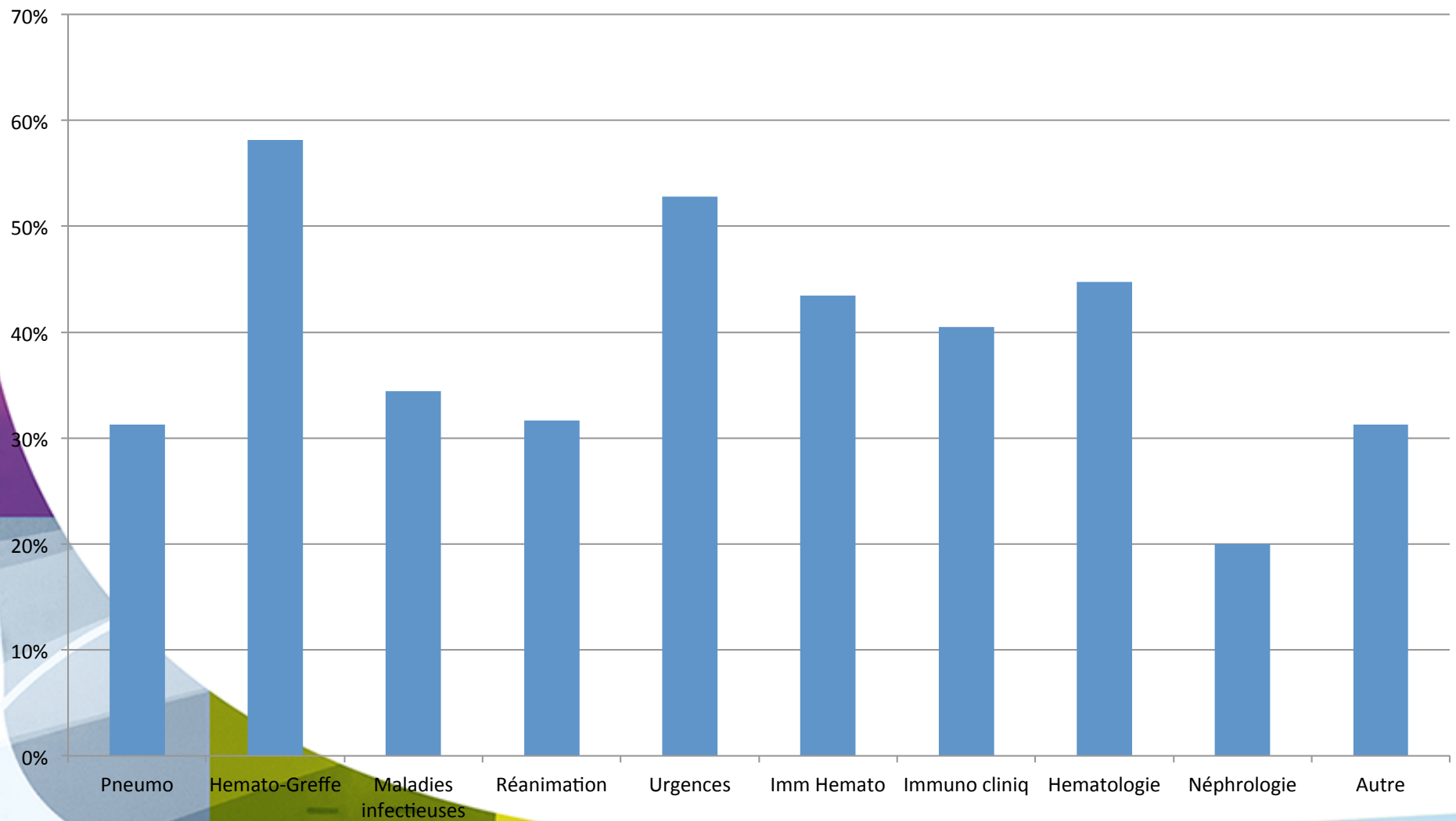
Prélèvements

40 % positifs

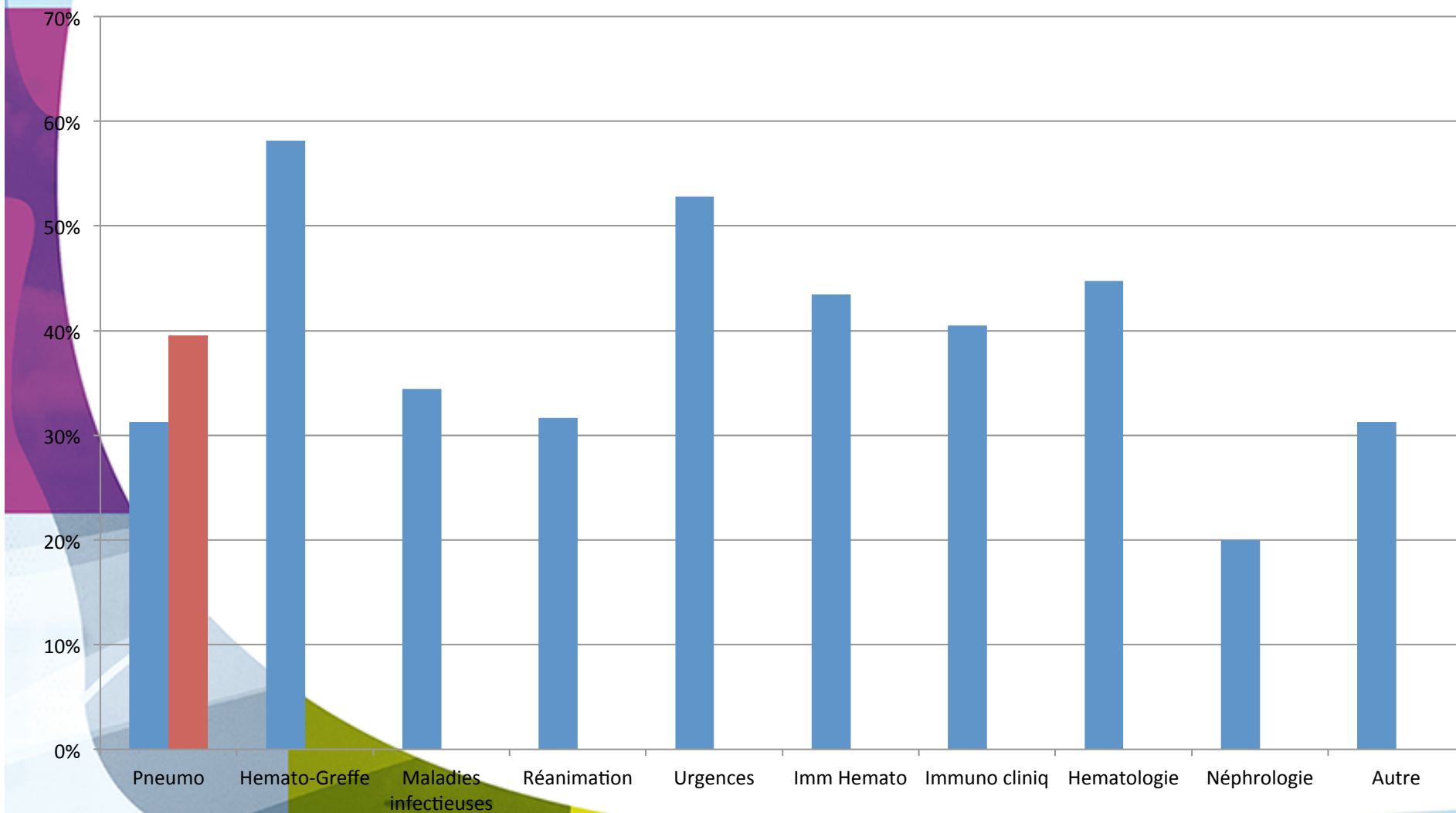
- Aspi NP
- LBA
- Ecouvillon
- Aspi bronch
- Autre



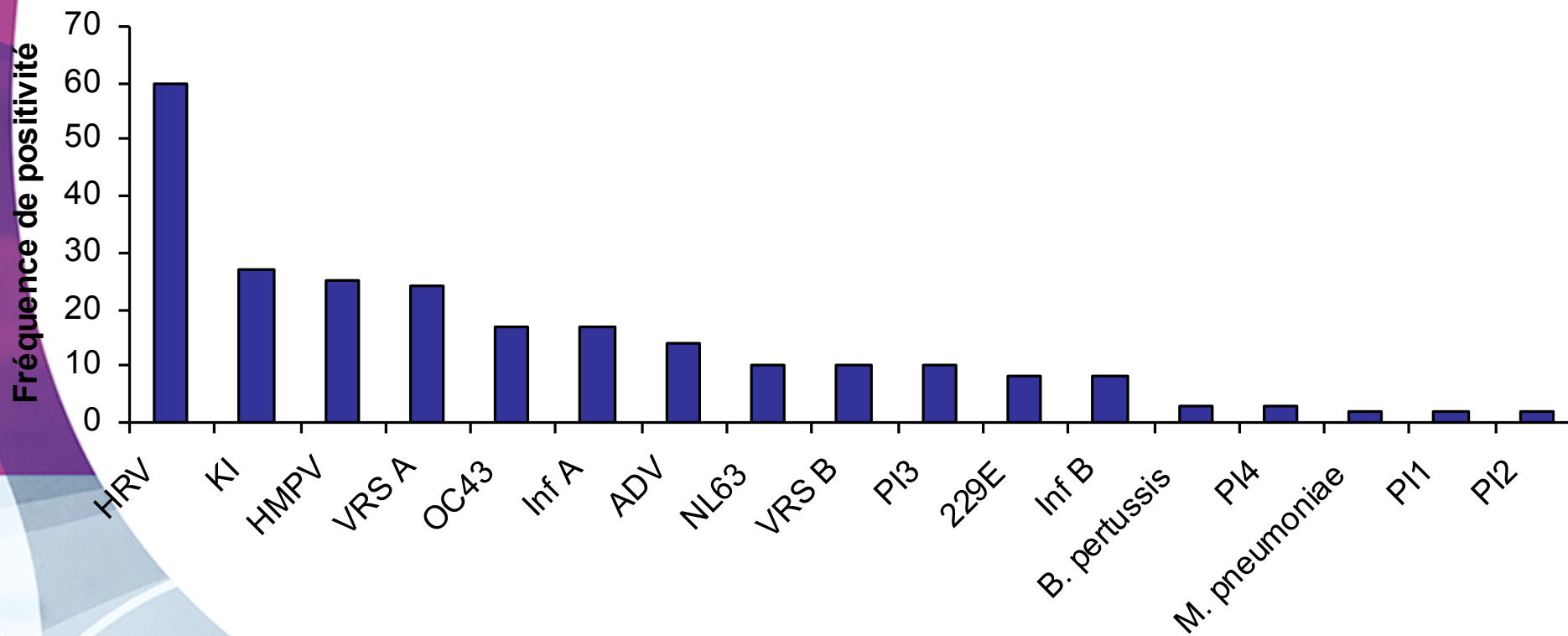
Fréquence positifs /service



Fréquence positifs /service



Adultes immunodéprimés

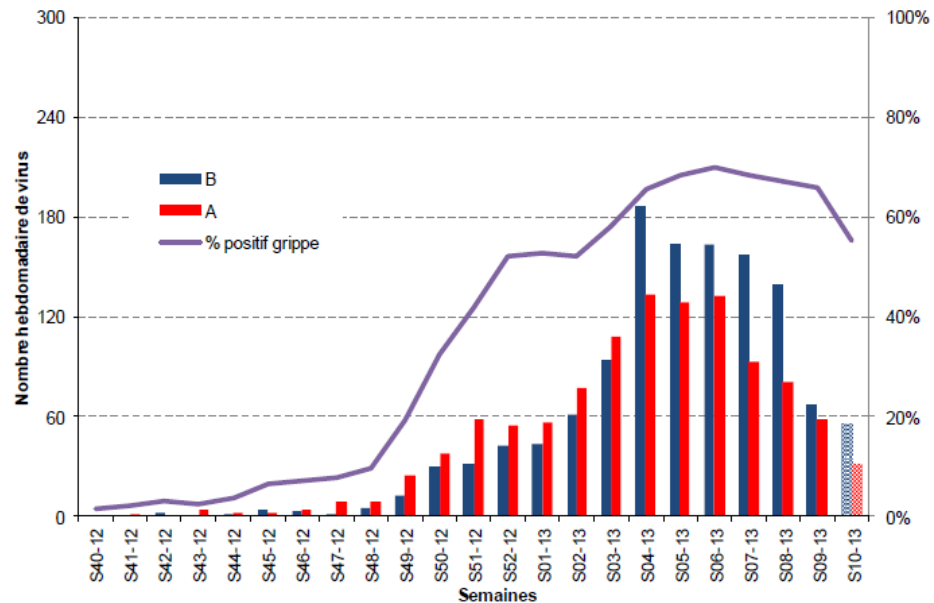




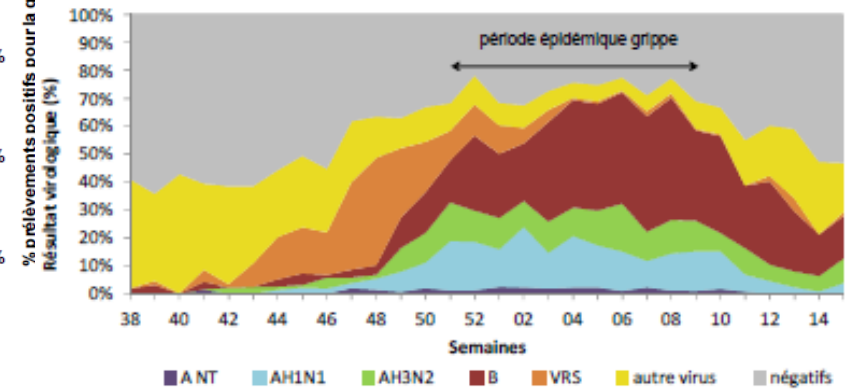
2012

- 01/01 – 31/05
- 1066 demandes
 - 966 SLS (91%)
 - 757 Aspi NP bronch trachéale – 87 LBA - écouvillons
 - 42% échantillons +
- M Pneumoniae 25+ (2,6%) → 20 patients
- Influenza 128 (13.3%)

2013



Graphique 2. Part hebdomadaire des différents virus respiratoires
Fréquence (en %) des virus respiratoires, saison 2012-2013
Sources : Réseau des GROG, CNR des virus influenzae
et laboratoires vigies GROG



- Epidémie de grippe saisonnière prolongée et intense mais sans signe de gravité particulière
- Les 2 types de virus grippaux A et B ont circulé de façon épidémique et concomitant

Le prélèvement est-il toujours bien fait?

- Qualification du prélèvement
- PCR albumine
 - Quantification gène cellulaire permettant de vérifier la qualité du prélèvement
- Indispensable pour l'aspiration-nasopharyngée et l'écouvillon endonasal
- Non fait pour les LBA
- **Seuil : 4 log copies/ml**
- Si albumine <4 log copies/ml
 - « ininterprétable , prélèvement trop pauvre en cellules »

Qualité des prélèvements

Quantification gène cellulaire depuis le 01/02

Urgences – maladies infectieuses

| | Aspi log copies/ml | Ecouvillon log copies/ml |
|------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Moyenne | 5,91 | 5,91 |
| Médiane | 5,06 | 5,06 |
| Mini | 0,00 | 0,00 |
| Maxi | 7,10 | 6,62 |
| Frequence indétectable | 3,0% | 0,6% |
| Fréquence < 4 log | 23,5% | 16,7% |
| n | 230 | 156 |

Pneumologie

| | Aspi log copies/ml | Ecouvillon log copies/ml |
|------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Moyenne | 6,01 | 5,89 |
| Médiane | 5,51 | 5,52 |
| Mini | 2,69 | 0,00 |
| Maxi | 6,91 | 5,48 |
| Frequence indétectable | 0,0% | 7,1% |
| Fréquence < 4 log | 8,1% | 16,7% |
| n | 111 | 14 |

Positif

Alb < 4 log n=54
Alb > 4 log n=176

35,2%

58,5%



Conclusions

- **Pourquoi?**
 - Diagnostic infections respiratoires
- **Comment?**
 - Viser le nasopharynx, importance d'un prélèvement avec des cellules
 - Détection moléculaire multiplex (Smartfinder, Idaho) et test rapide grippe
- **Le prélèvement est il toujours bien fait?**
 - Qualification du prélèvement : PCR albumine

The background is a complex abstract composition of various shades of blue, green, and yellow. It features overlapping geometric shapes, including rectangles and curved lines, some with textured patterns like halftone dots. The colors transition from deep blues on the left to bright greens and yellows on the right. A large white rectangular area is centered in the middle, serving as a backdrop for the text.

MERCI DE VOTRE
ATTENTION