

Le diagnostic virologique des infections respiratoires aiguës



Le diagnostic virologique des infections respiratoires aiguës

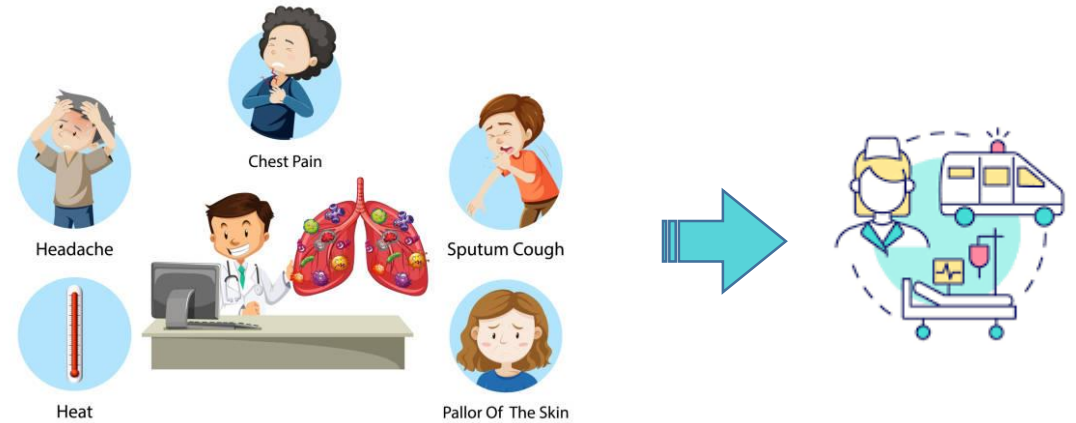
- EST-CE UTILE ?
- LES METHODES DIAGNOSTIQUES
- SURVEILLANCE VIROLOGIQUE (2^{ème} ligne)

EST-CE UTILE ?



Infections respiratoires
virales

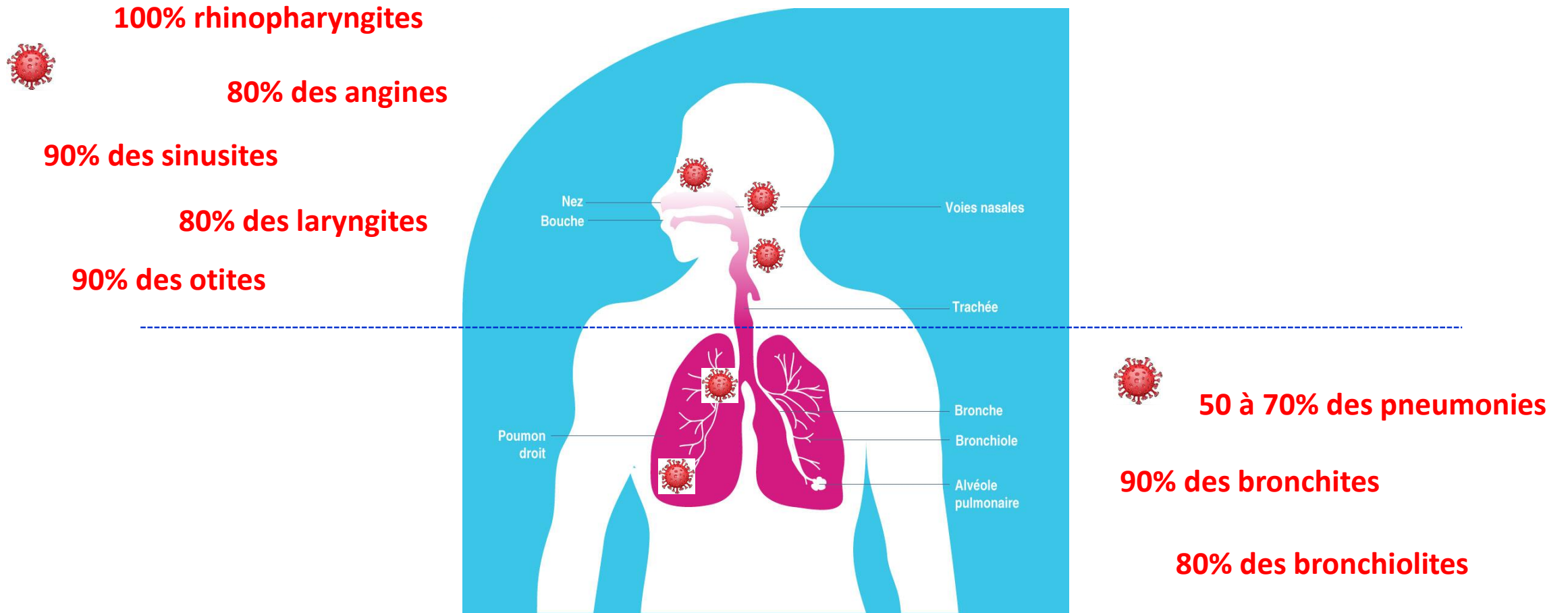
BENIGNES



Infections respiratoires
bactériennes

SEVERES

ANTIBIOTIQUES



Les virus dans les infections respiratoires hautes et basses

100% rhinopharyngites



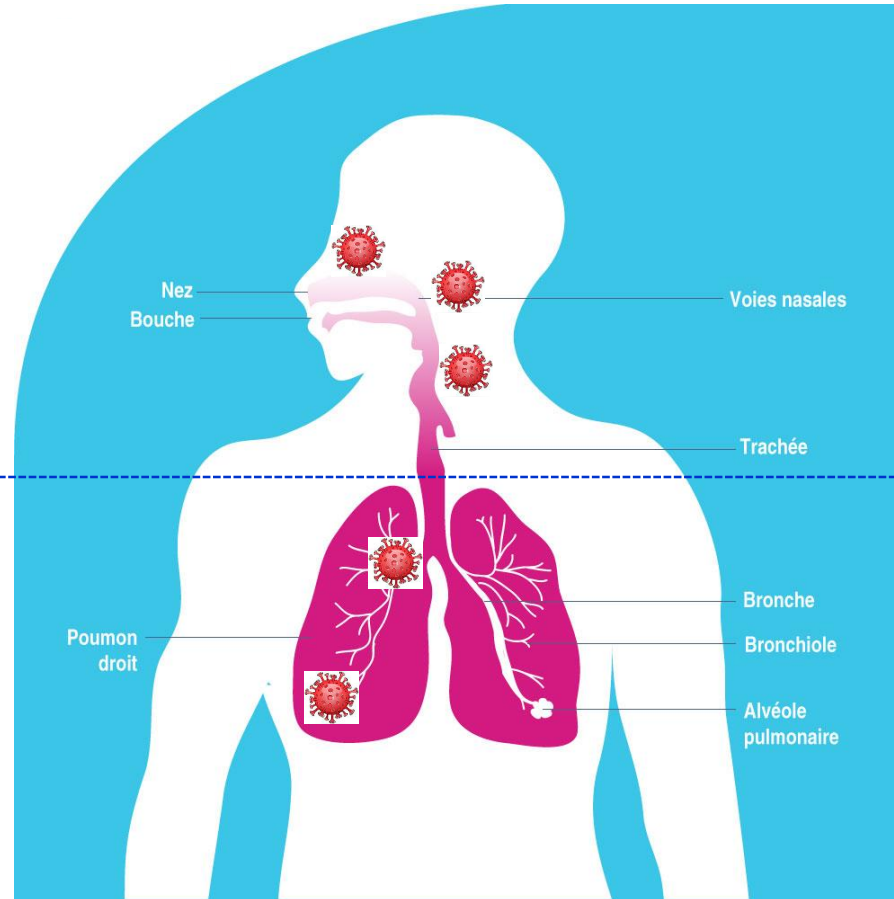
80% des angines

90% des sinusites

80% des laryngites

90% des otites

Infections virales mal/pas documentées :



50 à 70% des pneumonies

90% des bronchites

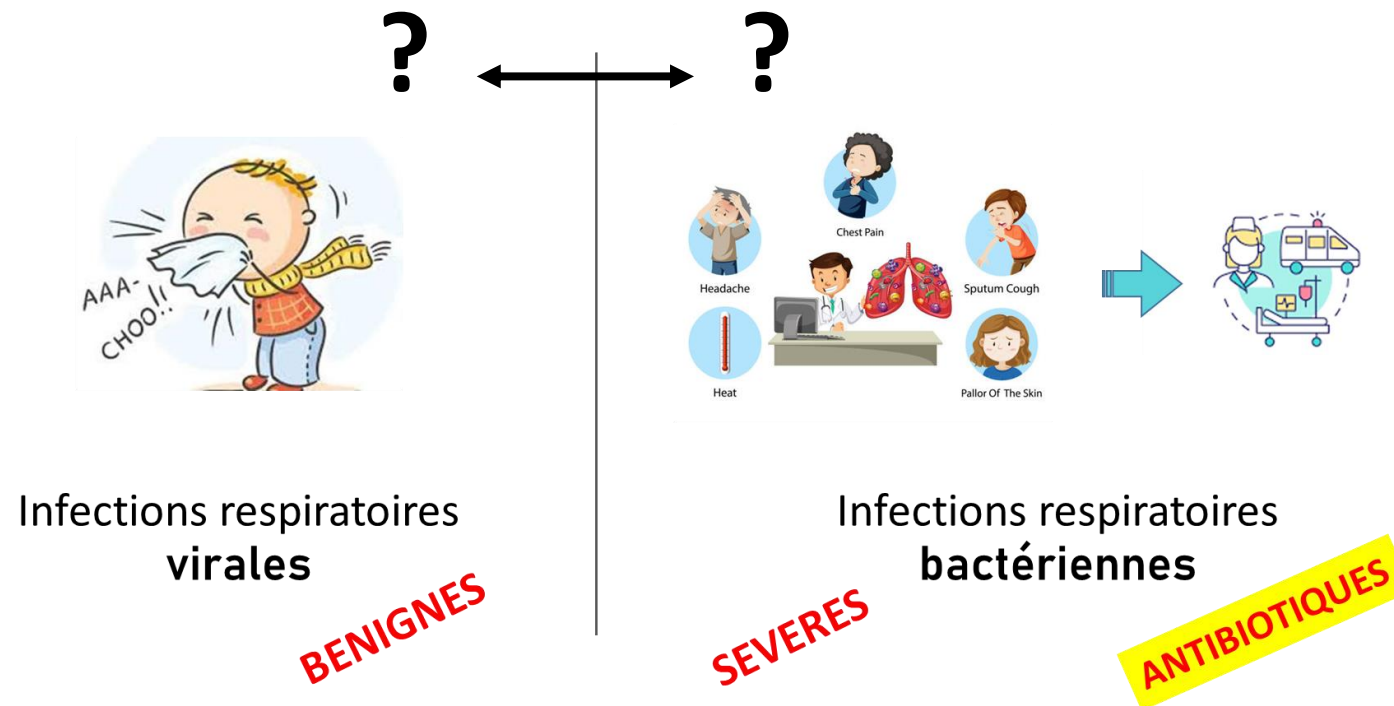
80% des bronchiolites

Les virus dans les infections respiratoires hautes et basses

C'EST UTILE / NECESSAIRE POUR :

1- Eviter l'utilisation abusive des antibiotiques

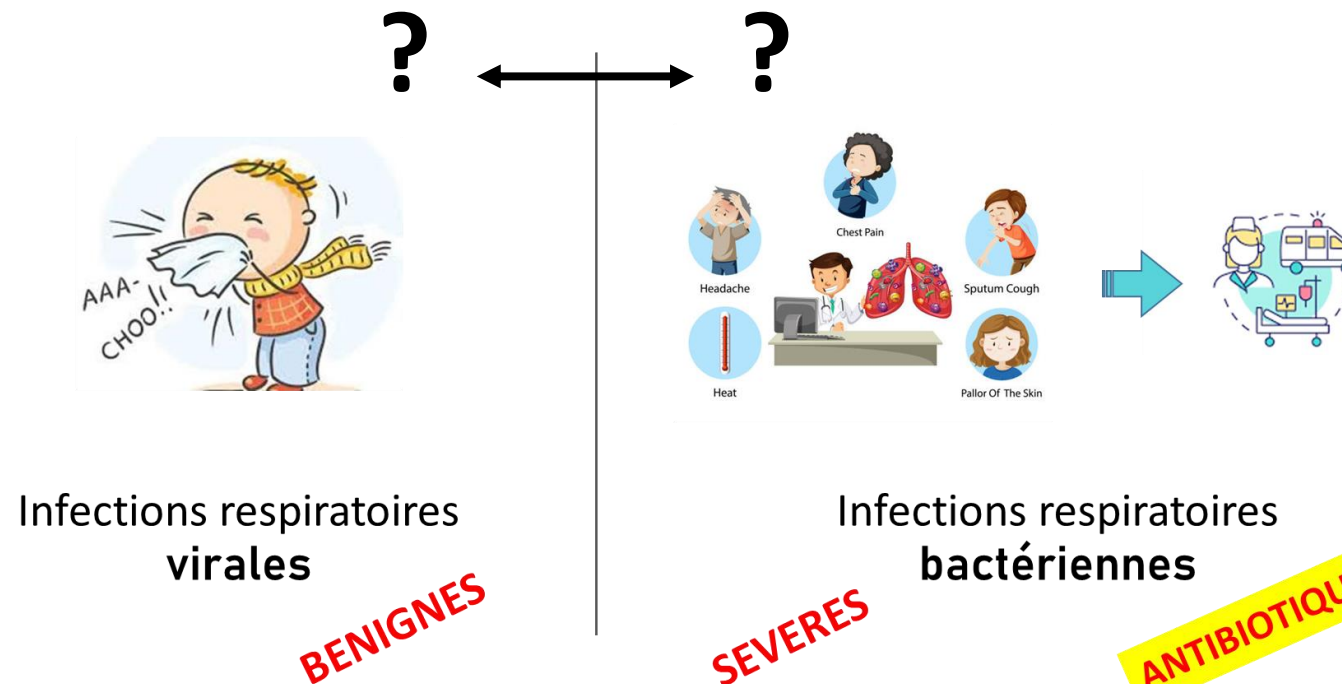
Lutter contre l'antibio-résistance (pour les patients - - > environnement)



C'EST UTILE / NECESSAIRE POUR :

1- Eviter l'utilisation abusive des antibiotiques

Lutter contre l'antibio-résistance (pour les patients - - > environnement)



Prescription antibiotiques :
guidée par l'état clinique

Etudes montrent que
diminution de la prescription si
et seulement si :

- Procédure écrite
- Résultat viro rapide

ANTIBIOTIQUES

C'EST UTILE / NECESSAIRE POUR :

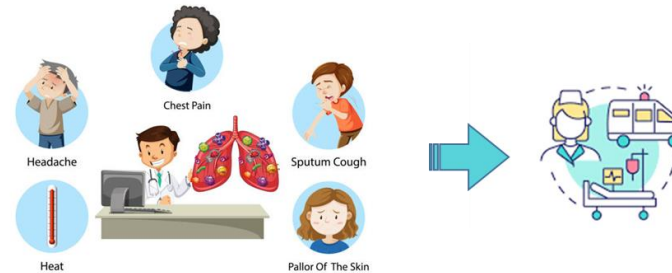
1- Eviter l'utilisation abusive des antibiotiques

Lutter contre l'antibio-résistance (pour les patients - - > environnement)



Infections respiratoires
virales

BENIGNES

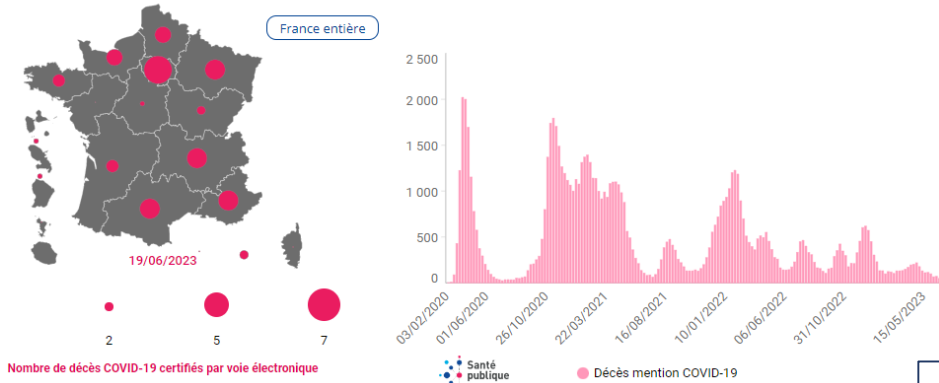


Infections respiratoires
bactériennes

SEVERES

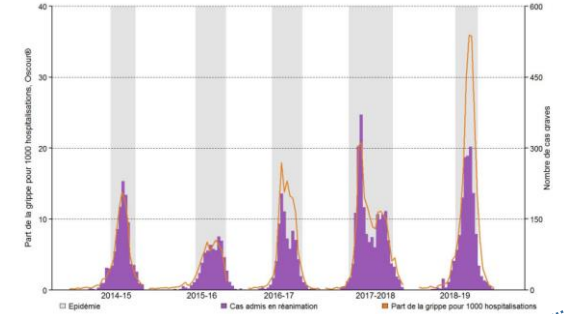
ANTIBIOTIQUES

Covid-19 : 167 664 décès au 30/06/2023



Impact **grippe saisonnière** en santé publique (données de surveillance en France métropolitaine 2011-2022) :

En moyenne, par épidémie : >1 million de consultations en médecine de ville (pour 8 à 10 millions personnes touchées), **>20 000 hospitalisations** et environ **9 000 [5000-15000] décès** liés à la grippe, concentrés sur une durée moyenne de dix semaines d'épidémie, et avec des variations importantes d'une année à l'autre et selon l'âge



Bronchiolite à VRS

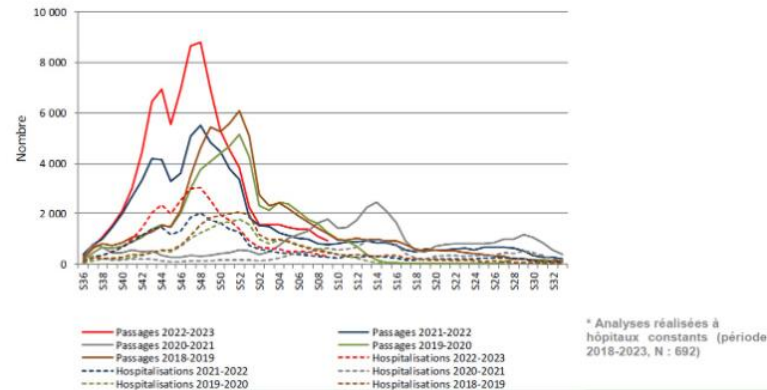
30% des enfants < 2 ans sont touchés chaque année

Les chiffres clés à retenir de la saison 2022-2023 :

- 73 262 passages aux urgences (OSCOUR®) pour bronchiolite
- 26 104 hospitalisations après passage aux urgences pour bronchiolite (OSCOUR®)
- 10 801 actes SOS Médecins pour bronchiolite



Figure - Passages et hospitalisations suite aux passages aux urgences pour bronchiolite en France hexagonale, enfants de moins de 2 ans, 2018-2023



C'EST UTILE / NECESSAIRE POUR :

1- Eviter l'utilisation abusive des antibiotiques

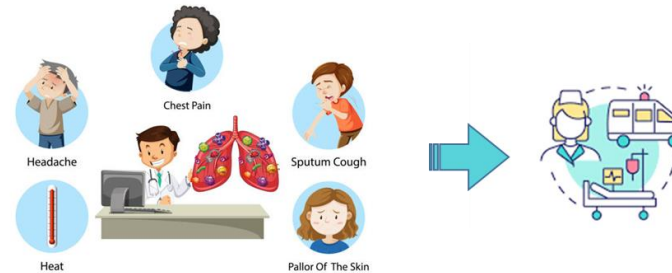
Lutter contre l'antibio-résistance (pour les patients - - > environnement)



Infections respiratoires
virales

BENIGNES

LA REPOSE N'EST PAS BINAIRE



Infections respiratoires
bactériennes

SEVERES

ANTIBIOTIQUES



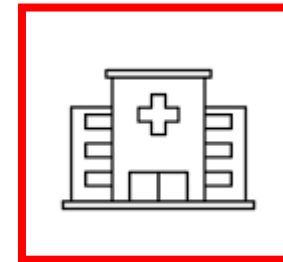
C'EST UTILE / NECESSAIRE POUR :

2- Certaines populations (> 65 ans, femmes enceintes, maladie respiratoire, maladies chroniques, obésité sévère, personnes immunodéprimées) à risque de forme sévère



BENIGNES 

Dg : Arguments cliniques
et épidémiologiques



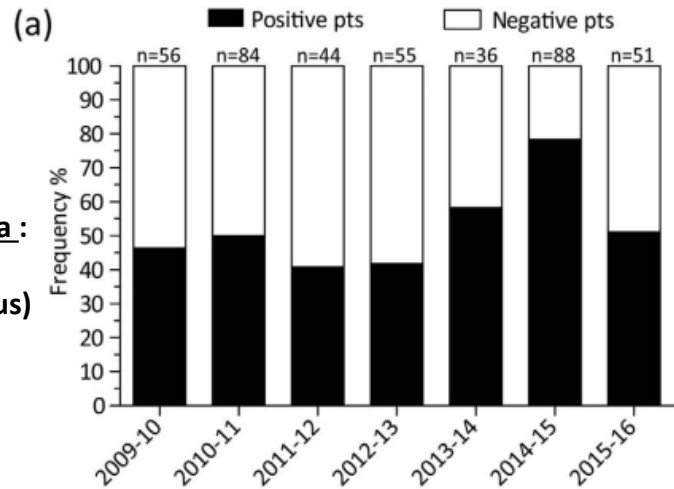
SEVERES 



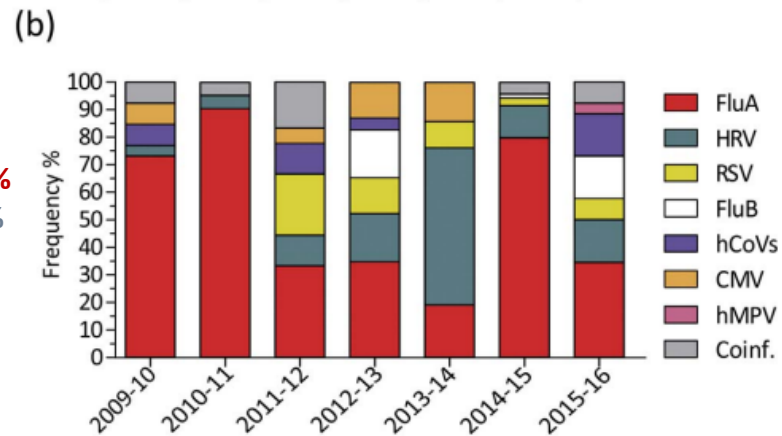
PAC sévères admises en réanimation

Frequency of respiratory viruses among patients admitted to 26 Intensive Care Units in seven consecutive winter-spring seasons (2009–2016) in Northern Italy

PAC admis en réa :
55% virus
(95% : 1 seul virus)



Influenza A : 62%
Rhinovirus : 15%
VRS : 6%



Inf. sévère :
SDRA, ventilation
mécanique,
ECMO, décès

Severe community-acquired pneumonia:
Characteristics and prognostic factors in
ventilated and non-ventilated patients

> 3700 PAC, 664 sévères (18%)
Étiologie microbienne : 51% cas

Table 4. Microbial etiology of the study population.

Pathogen	No IMV n = 510	IMV n = 154	p-value
Patients with defined etiology	245 (48)	91 (59)	0-016
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	135 (55)	51 (56)	0-98
with bacteremia	52 (10)	18 (12)	0-76
<i>Legionella pneumophila</i>	23 (9)	2 (2)	0-046
Respiratory viruses	34 (14)	19 (21)	0-16
Atypical bacteria	17 (7)	3 (3)	0-32
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	6 (2)	1 (1)	0-73
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6 (2)	2 (2)	0-79
<i>Coxiella burnetii</i>	6 (2)	0 (0)	0-30
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 (5)	8 (9)	0-27
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18 (7)	7 (8)	0-90
<i>Haemophilus influenzae</i>	8 (3)	8 (9)	0-068
<i>Escherichia coli</i>	10 (4)	3 (3)	0-99
Other <i>Streptococcus</i> species	3 (1)	2 (2)	0-88
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3 (1)	0 (0)	0-68
<i>Moraxella catarrhalis</i>	3 (1)	1 (1)	0-64
Other microorganisms	13 (5)	8 (9)	---
Polymicrobial	35 (14)	22 (24)	0-047

Results are given as n (%). Percentages calculated on non-missing data. The percentages of pathogens are related to the number of patients with etiologic diagnosis in each group, except for bacteremia due to *Streptococcus pneumoniae*, which is calculated related to the total number of patients in each group. IMV = invasive mechanical ventilation.

Fig. 1. (a) Seasonal distribution of virus-positive and virus-negative episodes of CAP in ICU-admitted patients. The total number of CAP episodes analyzed yearly are reported above each column. (b) Seasonal distribution of respiratory virus detection.

C'EST UTILE / NECESSAIRE POUR :

3- Prise en charge de ces patients à risque de forme sévère

→ diagnostic de certitude

→ antiviraux spécifiques →

→ +/- épargne d'antibiotiques

SARS-CoV-2 : [nirmatrelvir / ritonavir - Paxlovid®](#) en curatif

Grippe : [oseltamivir - Tamiflu®](#) (HAS 2020 : SMR insuffisant, recommandé uniquement en préventif en cas de pandémie grippale)

VRS : [ribavirine](#) (*infections sévères immunodéprimés*) en curatif

--> mesures de prévention de la transmission
optimisation du parcours de soins

EHPAD - hôpital



*Diagnostic chez le personnel
(diagnostic de certitude)*

→ ++Respect mesures prévention

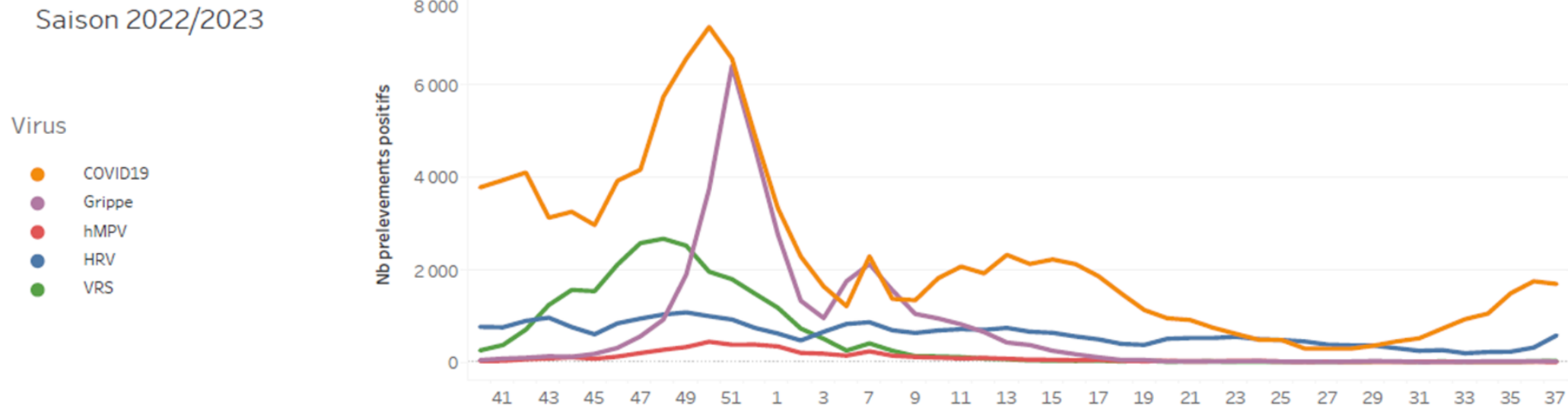
C'EST UTILE / NECESSAIRE POUR :

4- Améliorer nos connaissances sur les viroses respiratoires, leur impact, leur prise en charge, les populations les plus à risque, le risque lié aux co-infections (Bact/Virus; Virus/Virus)

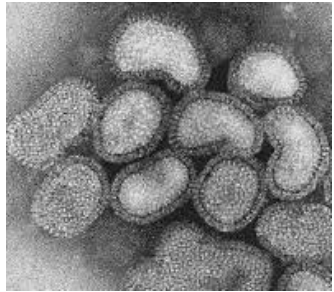
CNR
Virus
respiratoires



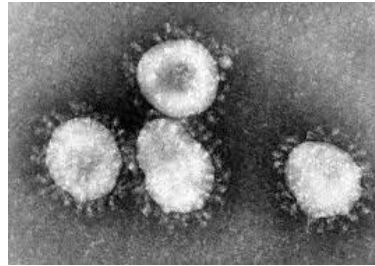
Réseau RENAL (Saison 2022/2023)
Comparaison entre virus



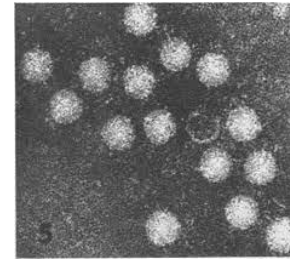
Certains virus respiratoires ⇒ Incidence plus faible, profils de circulation différents



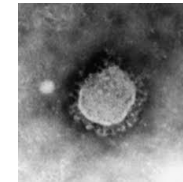
Virus influenza A
Virus influenza B



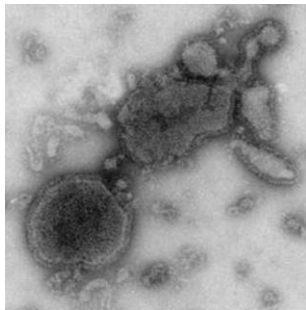
SARS-CoV-2



rhinovirus



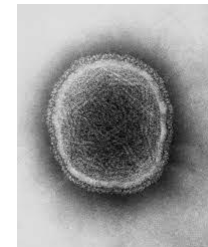
coronavirus
(229E et NL63, OC43 et HKU1)



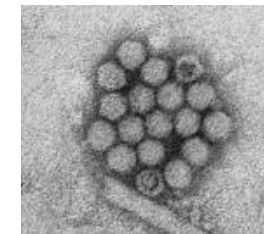
VRS



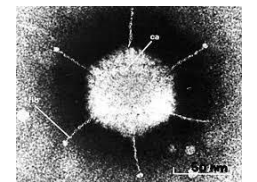
métapneumovirus



para-influenzae 1-4



bocavirus



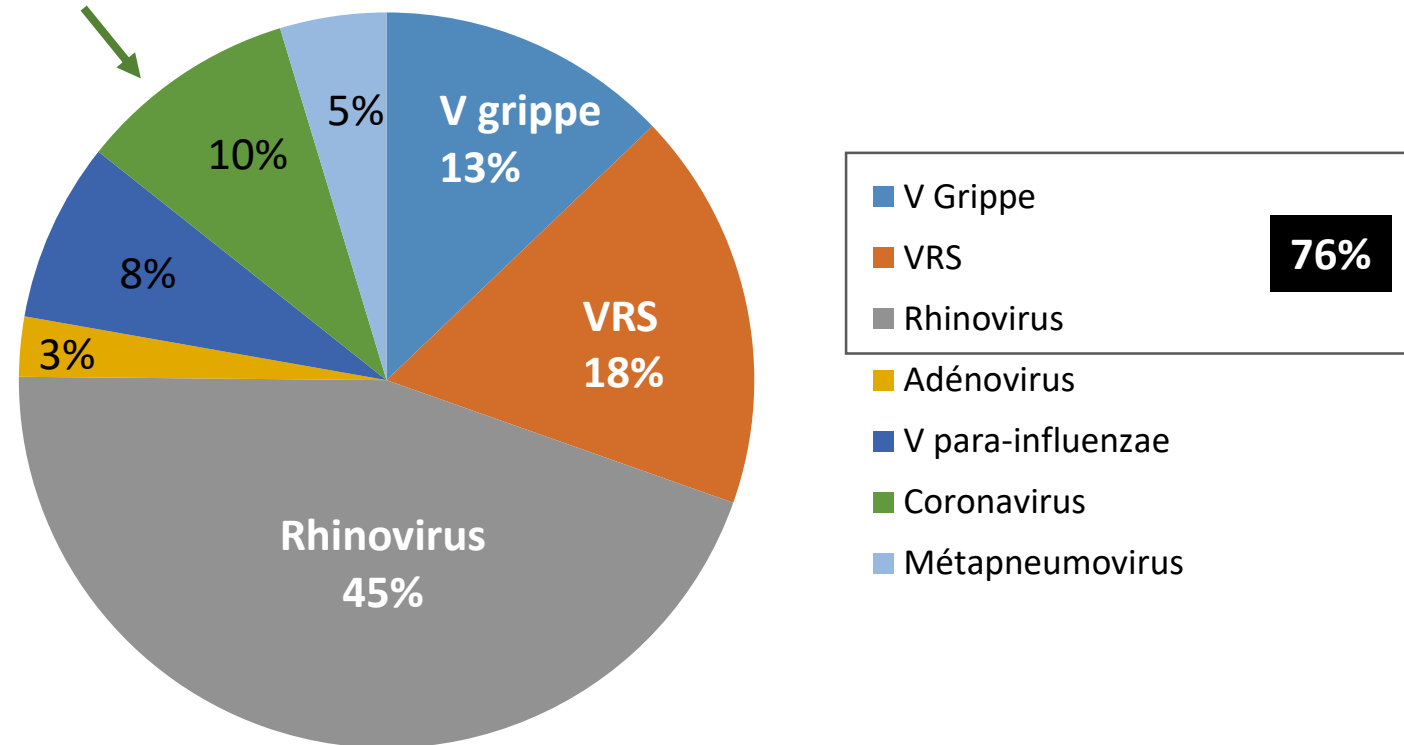
adénovirus

*Les moins connus, ...ou ceux qu'on
croit connaître et qu'on néglige
Sous-diagnostic → sous-estimation pouvoir pathogène*

*Les « grands »
virus respiratoires*

Virus respiratoires détectés par le Laboratoire de Virologie du CHU en 2017 ... ou une autre année avant 2019 (enfants et adultes)

Coronavirus 'classiques'

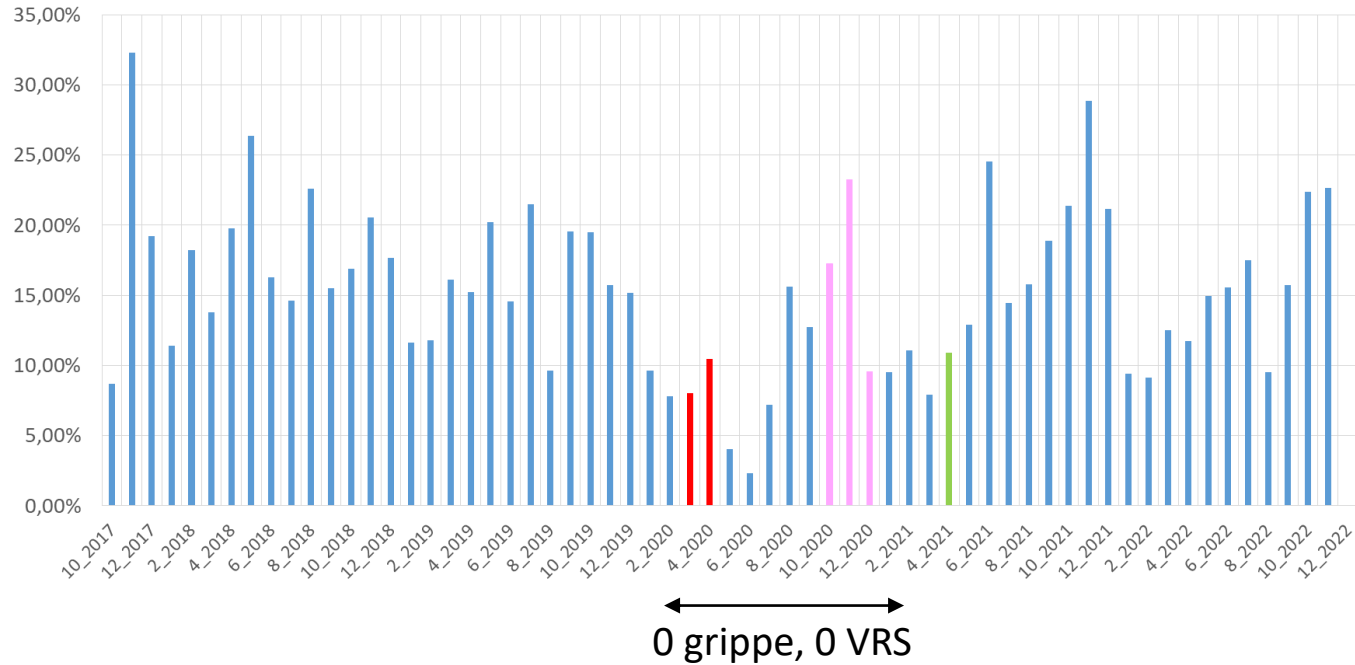


LES RHINOVIRUS

% de prélèvements positifs en rhinovirus, 2017-2022
En couleur ⇔ périodes de confinement



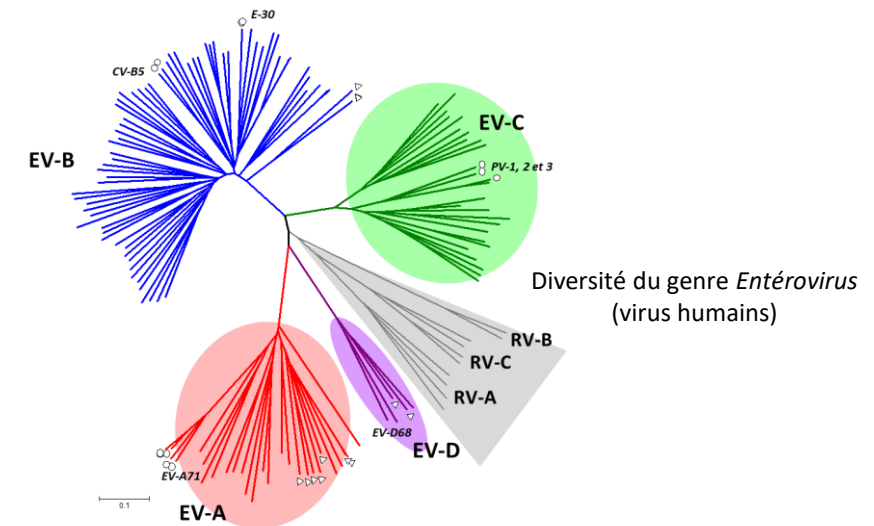
Pourcentage de RV positif_Population Générale



Impact santé publique (nombre de consultations, hospitalisations)
et socio-économique (arrêts de travail) +++
→ recherche très active d'antiviraux

Infections à RV : agents du « rhume », mais aussi

- Responsables de 20% des bronchiolites
- Association entre bronchiolite virale et asthme chez l'enfant 3-6 ans : RV (OR 10) >> VRS (OR 2,6)
- Infections virales → Exacerbation asthme et BPCO : RV dans 2/3 cas
- Pneumopathies sévères enfants et adultes (seuls ou en co-infection) → besoins études cliniques



167 types différents répartis en 3 espèces **A, B, C**
Sévérité associée à certains types/espèces?

LE METAPNEUMOVIRUS

Proche du VRS (famille Pneumoviridae), saisonnalité hiver/printemps

Clinical Features of Human Metapneumovirus-Associated Community-acquired Pneumonia Hospitalizations

2358 enfants et 2320 adultes hospitalisés pour pneumopathie



- Fréquence : 12,6% hMPV enfants, dont 42% en co-infection
3,8% hMPV adultes, dont 24% en co-infection
- Présentation clinique similaire bactéries/VRS/grippe/RV/autres virus/bactéries atypiques
- Infections hMPV + seul :

enfants : sévérité bactéries > hMPV > autres étiologies (dont VRS) ;

75% O₂ requérants vs 50-64% autres étiologies (bactérienne comprise)

adultes : sévérité bactéries > VRS > hMPV

49% O₂ requérants vs 66% étiologie bactérienne

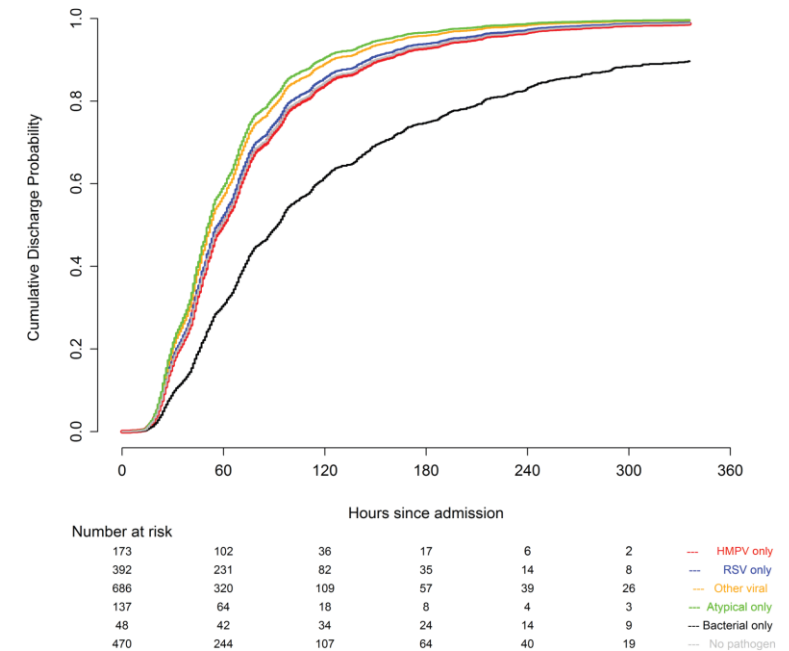


Figure 3. Proportional hazards regression of time to hospital discharge in children (hours). Covariates include sex, age, race, year, study site, insurance status, chest X-ray pattern, antibiotics prior to admission, duration of symptoms prior to admission, influenza and pneumococcal vaccination status, household smoke exposure, presence of an underlying comorbidity, and presence of empyema. Abbreviations: HMPV, human metapneumovirus; RSV, respiratory syncytial virus.

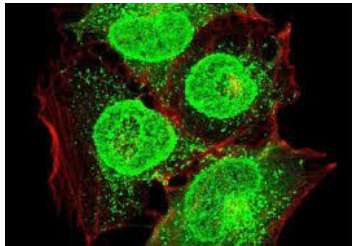
LES METHODES DIAGNOSTIQUES

Diagnostic direct uniquement - -> pas de sérologie !

LES METHODES DIAGNOSTIQUES

En plein essor depuis 2009 (grippe A[H1N1]v2009)

Immunofluorescence



Méthodes

+ rapides
+ sensibles

Tests antigéniques



TROD \cong 10-30 min.



Réalisation laborieuse
Lecture délicate

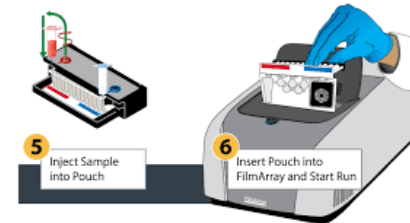
Tests de biologie moléculaire (PCR)



Tests automatisés



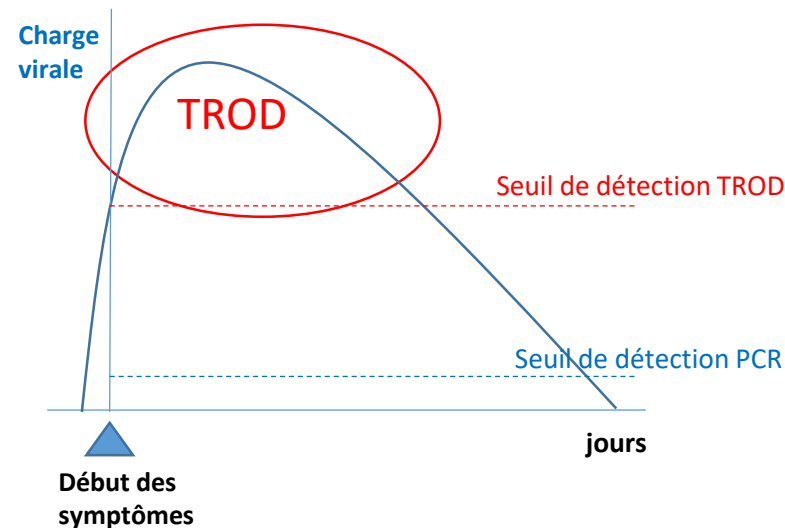
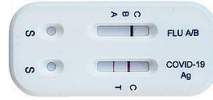
Tests unitaires
rapides



Panel syndromique
(PCR multiplex)

LES TESTS ANTIGENIQUES (TROD)

- Tests simplex (grippe, SARS-CoV-2) ou combinés
- Lecture subjective, ou avec un lecteur automatisé -> amélioration sensibilité
- Comme la PCR : La sensibilité peut être affectée par la variabilité virale (ex. grippe : influenza B moins bien détecté)
- Par rapport aux tests PCR :
 - faux positifs (2% annoncés, souvent 5% en pratique)
 - faux négatifs = moins sensibles



LES TESTS ANTIGENIQUES (TROD)



Rapport HAS – juin 2023 - Intérêt des tests rapides d'orientation diagnostique (TROD) antigéniques COVID/grippe et COVID/grippe/VRS en ville

- Rappels : - pour la recherche du SARS-CoV-2, sensibilité minimale requise OMS et HAS = 80%, dans le cadre d'une étude prospective (tests commercialisés SARS-CoV-2 : 48%-90%)
 - biais dans bcp d'études : sélection des échantillons en fonction de la charge virale ...
- Duplex Covid/grippe : pas d'étude prospective publiée
 - publications grippe A/B seule : sensibilité de l'ordre de 55% en moyenne (60-65% enfant, 35-40% adulte)
- Triplex Covid/grippe/VRS : pas d'étude publiée
 - publications VRS : sensibilité globale de 65 à 75% (autour de 75% enfant, 20% adulte = 2 études seulement)
 - données commerciales : sensibilité entre 99 et 100% pour le VRS et entre 87 et 100% pour tests triplex !!!
 - sélection sur la charge virale ??? population pédiatrique mal identifiée



LES TESTS ANTIGENIQUES (TROD)



Rapport HAS – juin 2023 - Intérêt des tests rapides d'orientation diagnostique (TROD) antigéniques COVID/grippe et COVID/grippe/VRS en ville

- Rappels : - pour la recherche du SARS-CoV-2, sensibilité minimale requise OMS et HAS = 80%, dans le cadre d'une étude prospective (tests commercialisés SARS-CoV-2 : 48%-90%)
 - biais dans bcp d'études : sélection des échantillons en fonction de la charge virale ...
- Duplex Covid/grippe : pas d'étude prospective
 - publications grippe A/B seule : sensibilité de l'ordre de 60-65% enfant, 35-40% adulte
- Triplex Covid/grippe/VRS : pas d'étude publiée
 - publications VRS : sensibilité globale de 65 à 75% (autour de 75% enfant, 20% adulte = 2 études seulement)
 - données commerciales : sensibilité entre 99 et 100% pour le VRS et entre 87 et 100% pour tests triplex !!!
 - population pédiatrique ???



TROD : Un RESULTAT NEGATIF NE DOIT PAS EXCLURE LE DIAGNOSTIC

LES TESTS ANTIGENIQUES (TROD)



Rapport HAS – juin 2023 - Intérêt des tests rapides d'orientation diagnostique (TROD) antigéniques COVID/grippe et COVID/grippe/VRS en ville

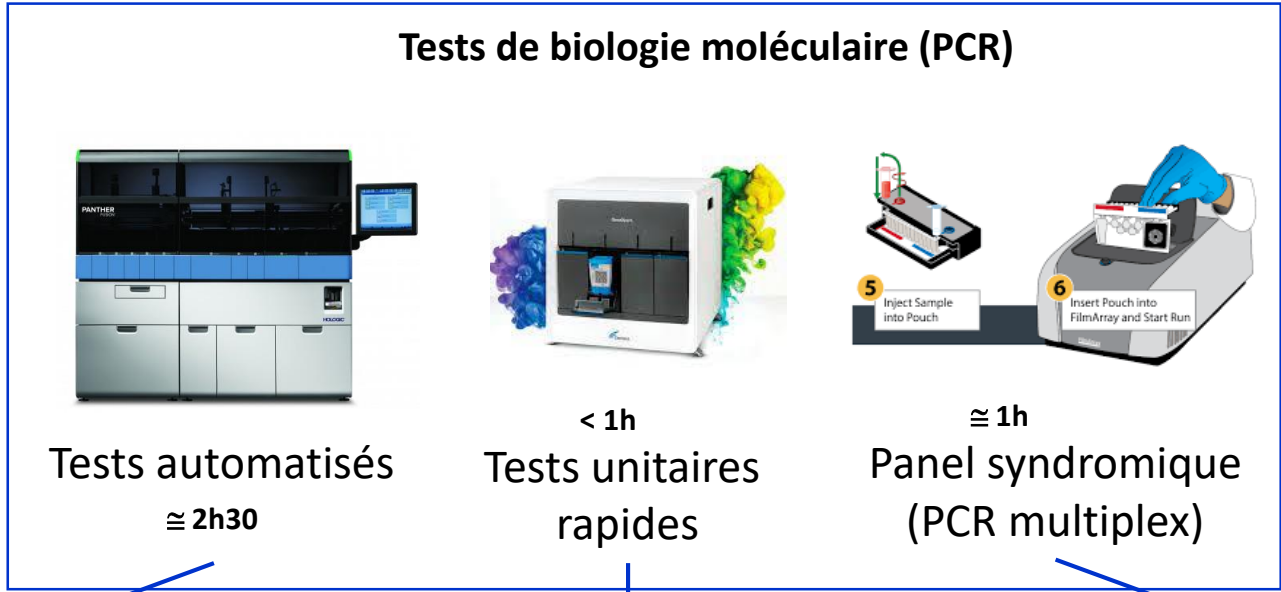
INTERET MEDICAL DE RECOURIR AUX TROD EN CONTEXTE DE VILLE (CABINET MEDICAL) EN PERIODE HIVERNALE

- 1) La recherche antigénique rapide combinée des virus grippaux et/ou du VRS en réalisation conjointe avec celle du SARS-CoV-2 par des TROD ou celle du TROD VRS seule **ne** présentent **pas** à l'heure actuelle, **à l'échelon individuel**, d'intérêt médical démontré dans le diagnostic des infections respiratoires aiguës en ville.
- 2) En revanche, la HAS conclut que, sous certaines conditions (cf. infra), la recherche rapide antigénique de ces virus par un TROD grippe/COVID ou grippe/COVID/VRS **peut** présenter un intérêt médical **à l'échelon populationnel** (impact de santé publique) qui justifierait une prise en charge par la collectivité du fait d'un bénéfice potentiel pour le système de santé, les soignants et les parents/patients en période hivernale
 - Les TROD utilisés doivent présenter des performances diagnostiques cliniques suffisantes, c'est-à-dire répondre aux exigences minimales posées par la HAS pour les TROD COVID-19. ...//....
 - L'impact populationnel de ces TROD doit aussi être conforté. À cette fin, un recueil prospectif comparatif de données d'utilité clinique en vie réelle devrait être mis en œuvre afin de :
 - ✓ mesurer l'impact de l'utilisation de ces tests sur le taux de prescription d'antibiotiques d'une part, et sur le taux de reconsultations en cabinet ou aux urgences d'autre part. Ce recueil de données pourrait reposer sur l'implication volontaire de régions/territoires tests,
 - ✓ permettre de définir la ou l(es) indication(s) pour laquelle/lesquelles ces TROD présenteraient une utilité s'ils en démontrent une (âge, tableau clinique, temporalité...).

LES TESTS MOLECULAIRES (PCR)

€ - - - - - → € € €

1 série PCR/jour
Extraction ADN/ARN
Amplification
(4 à 6h, pour chaque virus)



Automatisation
Volume de tests ↗

grippe A-B/VRS
SARS-CoV-2
SARS-CoV-2/grippe A-B/VRS

Rapidité
Simplicité

Biologie délocalisée
(services des Urgences)
24h/24

> 20 pathogènes détectés
Virus, bactéries, fongis

Immunodéprimés, réa

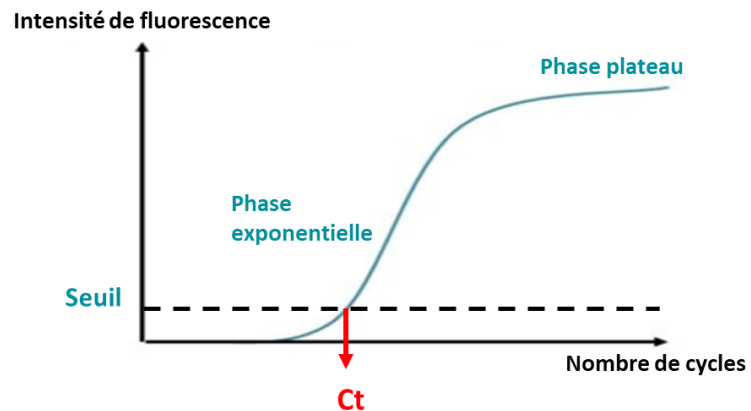
- PCR virus respiratoires = PCR qualitatives (POS/NEG)
- Développement à venir de tests pour mesurer une charge virale ?

→ *Mieux comprendre la physiopathologie : Lien avec sévérité? Rôle co-infections?*

→ *Covid-19 : PCR positive : « oui, ... mais comment? Très positive? »*
Estimation de l'infectiosité
'Equivalent' d'une charge virale

Sortie/transfert
des patients

RCP Anticorps
monoclonaux



= Cycle seuil (Threshold cycle)
inversement proportionnel à la quantité
d'ADN amplifié et à la charge virale initiale

Saison 2023-24 : Résultat avec mention de la valeur de Ct

Ct = permet une estimation semi-quantitative de la charge virale

→ Attention à l'interprétation :

- plus le Ct est élevé, plus la charge virale est faible
 - valeurs de Ct dépendantes du test PCR réalisé
- difficile de définir un « seuil » pour l'infectiosité



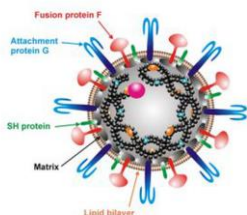
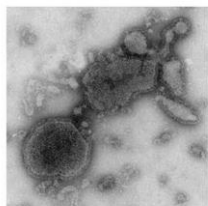
LA SURVEILLANCE VIROLOGIQUE (2^{ème} ligne)

1- Culture cellulaire :

- indispensable pour l'étude des caractères phénotypiques d'une souche donnée, d'un variant
- souvent indispensable pour les études sérologiques (séroneutralisation = technique de référence)

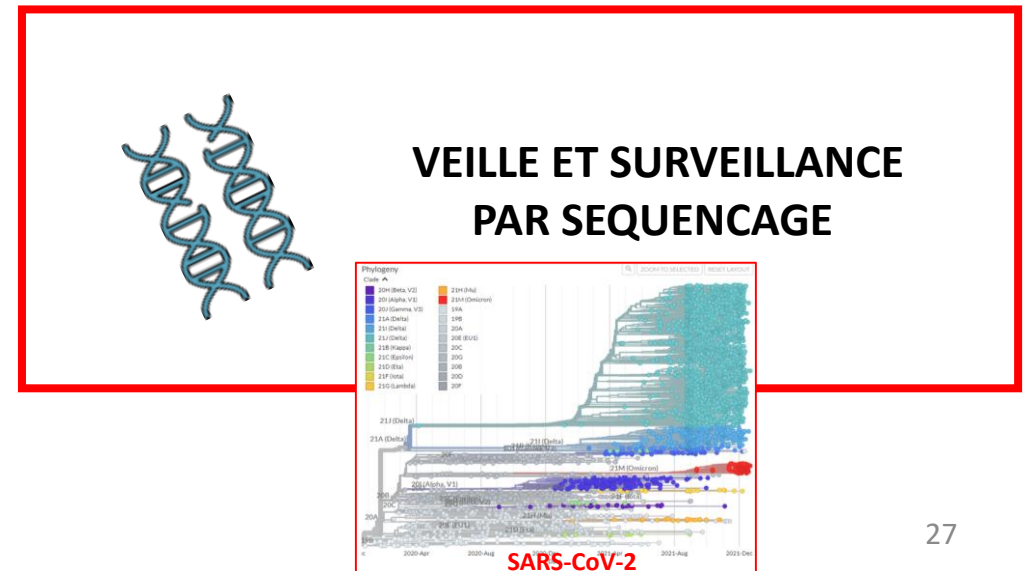
2- Un virus, ça évolue...

- Impact sur le diagnostic
- Impact sur les souches à inclure dans un vaccin
- Impact sur la résistance aux traitements (antiviraux, ou anticorps comme Beyfortus®)



VRS A
VRS B

Emergence de résistances *in vitro*



*Le 20 décembre un homme âgé de 45 ans se présente aux urgences avec une fièvre aiguë à 39,5°C, une toux sévère, une dyspnée progressive et une grande fatigue depuis 3 jours. Il travaille dans le secteur de la transformation de la viande de volaille. À l'examen clinique, le patient est en détresse respiratoire et sa saturation en oxygène est de 90%. Devant son état clinique le patient est hospitalisé.
Quelles sont les propositions exactes ?*



1. Le contexte clinique très évocateur permet de poser le diagnostic de grippe
2. Le TROD grippe fait aux urgences revient négatif ce qui permet d'exclure l'infection grippale
3. Le contexte nécessite l'envoi du prélèvement au CNR pour recherche de grippe aviaire
4. Une RT-PCR positive en grippe B permet d'exclure un cas de grippe aviaire
5. Un traitement antiviral par oseltamivir peut être mis en place chez ce patient



Société Française
de Microbiologie

GRIPPE

REMICS 14/09/23

Dr Alexandre GAYMARD
CNR des virus des infections respiratoires
Laboratoire de Virologie, Institut des Agents Infectieux
Hospices Civils de Lyon
Virologie et Pathologie Humaine (VirPath)
CIRI UCBL1 ENS INSERM U1111 CNRS

Webinaire REMIC'S du jeudi 14 septembre 2023

Le 20 décembre un homme âgé de 45 ans se présente aux urgences avec une fièvre aiguë à 39,5°C, une toux sévère, une dyspnée progressive et une grande fatigue depuis 3 jours. Il travaille dans le secteur de la transformation de la viande de volaille. À l'examen clinique, le patient est en détresse respiratoire avec une fréquence respiratoire de 30/min, une fréquence cardiaque de 110 bpm et sa saturation en oxygène est de 90%. Devant son état clinique le patient est hospitalisé. Quelles sont les propositions exactes ?



- 1. Le contexte clinique très évocateur permet de poser le diagnostic de grippe**
- 2. Le TROD grippe fait au urgence revient négatif ce qui permet d'exclure l'infection grippale**
- 3. Le contexte nécessite l'envoi du prélèvement au CNR pour recherche de grippe aviaire**
- 4. Une RT-PCR positive en grippe B permet d'exclure un cas de grippe aviaire**
- 5. Un traitement antiviral par oseltamivir peut être mis en place chez ce patient**

