

25/04/2012

Centre National de référence des entérovirus et parechovirus – Laboratoire associé
 Pr Hélène Peigue-Lafeuille
 Laboratoire de Virologie
 CHU Clermont-Ferrand
 Centre de biologie, 5^{ème} étage
 58, rue Montalembert
 63003 Clermont-Ferrand cedex



Téléphone : 04 73 754 850 (secrétariat)
 04 73 754 854 (biologistes)
 Fax : 04 73 754 851

GENOTYPAGE DES ENTEROVIRUS

Le génotypage des entérovirus peut être réalisé à partir des échantillons biologiques suivants:

- Liquide céphalo-rachidien (LCR), Gorge, Plasma prélevé sur EDTA, Biopsies, Prélèvements cutanéomuqueux, Prélèvements oculaires, Selles, Liquides d'épanchement, Liquide amniotique, Prélèvements foetaux
- extraits d'acides nucléiques ayant servi au diagnostic moléculaire
- surnageants de culture virale

Réalisation technique : Le génotypage est réalisé en première intention sur la séquence 1D codant la protéine de capsid VP1. Plusieurs techniques peuvent être réalisées au CNR et peuvent vous être communiquées si vous le souhaitez.

1- Modalités de prélèvement et échantillons souhaités en fonction des tableaux cliniques

1-1- Infections neuro-méningées (méningites et encéphalites):

- extrait* d'ARN du LCR (quantité minimale 15 µl) ayant servi à faire le diagnostic d'infection à entérovirus

*Préciser lors du premier envoi la méthode d'extraction et le volume de la prise d'essai et celui de l'élution

- LCR dans la mesure du possible (quantité souhaitée : 220 µl)
- Echantillons conseillés en cas de détection génomique négative dans le LCR* :
 - extrait d'ARN d'un prélèvement de gorge (quantité minimale 15 µl)
 - dans la mesure du possible un aliquot de 500 µl du prélèvement de gorge initial (Matériel conseillé pour les prélèvements de gorge : Ecouvillons déchargés dans un milieu de transport universel pour virus)

* Le virus peut ne pas être retrouvé au niveau du LCR (cas des entérovirus 71 par exemple). C'est pourquoi nous recommandons pour tout tableau de méningite ou de méningo-encéphalite avec test moléculaire négatif de réaliser en parallèle du LCR un prélèvement de

gorge sur lequel nous effectuons de manière systématique une recherche du génome des entérovirus.

1-2- Manifestations cutanéomuqueuses type syndrome pied-main-bouche ou herpangine

- Prélèvements conseillés : Prélèvement de gorge*, de bouche* (si présence d'ulcérations buccales) et/ou de vésicules
 - *Matériel conseillé pour ces prélèvements : Ecouvillons déchargés dans un milieu de transport universel pour virus
- Echantillons biologiques souhaités pour le génotypage
- Extrait* d'ARN du prélèvement (quantité minimale 15 µl) ayant servi à faire le diagnostic de l'infection à entérovirus
 - * Préciser lors du premier envoi la méthode d'extraction et le volume de la prise d'essai et celui de l'élution
- dans la mesure du possible, un aliquot de 500 µl du milieu de transport du (des) prélèvement (s).

1-3 Infections respiratoires graves à Rhinovirus/Enterovirus (SDRA syndrome de détresse respiratoire aiguë)

- Echantillons biologiques souhaités pour le génotypage :
- Extrait* d'ARN du prélèvement (quantité minimale 15 µl) ayant servi à faire le diagnostic de l'infection à entérovirus
 - * Préciser lors du premier envoi la méthode d'extraction et le volume de la prise d'essai et celui de l'élution
- dans la mesure du possible, un aliquot de 500 µl de prélèvement initial (LBA, liquide d'aspiration naso-pharyngée) ou de milieu de transport de l'écouvillonnage naso-pharyngé.
- Réalisation technique du génotypage :
Le génotypage des Rhinovirus sera réalisé dans un premier temps (séquençage de la région VP4-VP2). En cas de résultat négatif, le génotypage des Entérovirus sera réalisé dans un second temps.

1-4 Infections néonatales à Entérovirus

- Echantillons souhaités pour le génotypage :
- Extrait* d'ARN (quantité minimale 15 µl) des prélèvements pour lesquels la recherche du génome des entérovirus a été positive (LCR, sang (plasma sur tube EDTA), gorge, selles, liquide d'épanchement).
 - * Préciser lors du premier envoi la méthode d'extraction et le volume de la prise d'essai et celui de l'élution

- dans la mesure du possible, un aliquot des prélèvements de départ (LCR, sang et liquide d'épanchement : 220 µl, autres prélèvements : un aliquot de 500 µl du milieu de transport).

1-5 Myocardites/Péricardites à entérovirus

- Prélèvements conseillés : prélèvement de gorge (Ecouvillons déchargés dans un milieu de transport universel pour virus), de sang (plasma sur tube EDTA) de selles voire de liquide d'épanchement pour les péricardites
- Echantillons souhaités pour le génotypage :
 - Extrait* d'ARN des prélèvements pour lesquels la recherche du génome des entérovirus a été positive (gorge, sang (plasma sur tube EDTA), selles, liquide d'épanchement, biopsie).

* Préciser lors du premier envoi la méthode d'extraction et le volume de la prise d'essai et celui de l'élution

- dans la mesure du possible, un aliquot de 500 µl des prélèvements de départ.

2 - Modalités de transport

Les prélèvements initiaux et/ou les extraits d'ARN devront être acheminés à -20°C. Ils devront, idéalement avoir été congelés le plus rapidement possible après leur arrivée au laboratoire.

Chaque prélèvement devra obligatoirement être accompagné de la fiche de renseignements cliniques (ci-jointe).

Remarque : Aucun budget n'étant prévu pour le transport des prélèvements au CNR, vous pouvez utiliser les transporteurs habituels de votre hôpital.

3 - Rythmicité des envois

Lors d'une épidémie, il serait souhaitable de nous envoyer les prélèvements 1 fois par semaine.

Les envois pourront se faire une fois par mois ou par trimestre (selon le nombre) pour les cas sporadiques d'infections sans critère de gravité.

Merci de nous appeler pour tout génotypage urgent.

4 – Délai d'obtention des résultats

Le typage du virus peut être réalisé dans un délai de 5 jours ouvrables à réception des prélèvements.

Diagnostic des infections à parechovirus

Ces cinq dernières années, de nombreuses études ont mis en évidence l'implication des parechovirus, en particulier le parechovirus type 3 dans les méningites des nourrissons et dans les sepsis du nouveau-né.

Dans ces tableaux cliniques particuliers, il peut donc être intéressant de rechercher le génome des parechovirus dans le LCR et/ou le sang, en particulier lorsque la recherche du génome des entérovirus est négative.

- Prélèvements souhaités pour le diagnostic:
 - LCR (aliquot de 220 µl)
 - et/ou plasma (500 µl prélevé sur tube EDTA)

*pour que nous puissions réaliser une extraction des acides nucléiques en incluant le contrôle interne spécifique à la trousse de diagnostic moléculaire parechovirus utilisée par notre laboratoire.

- Modalités de transport : -20°C
- Délai de rendu : 2 jours ouvrables à réception

En cas de positivité du test diagnostic moléculaire, un génotypage des parechovirus sera réalisé.

TABLEAU RECAPITULATIF DES MODALITES DE PRELEVEMENTS ET DE TRANSPORT POUR LE GENOTYPAGE DES ENTEROVIRUS ET/OU RHINOVIRUS

Centre National de référence des entérovirus et parechovirus – Laboratoire associé
Pr Hélène Peigue-Lafeuille
Laboratoire de Virologie
CHU Clermont-Ferrand
58, rue Montalembert
63003 Clermont-Ferrand cedex



Téléphone : 04 73 754 850 (secrétariat)
Fax : 04 73 754 851

TOUTE DEMANDE DE GENOTYPAGE DOIT ETRE ACCOMPAGNEE DE LA FICHE DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

	Infections neuro-méningées à entérovirus	Syndrome pied-main-bouche Herpangine	Infections néonatales à entérovirus	Infections respiratoires graves à entérovirus/rhinovirus	Infections cardiaques à entérovirus
Prélèvements recommandés pour le diagnostic	Liquide céphalo-rachidien		Liquide céphalo-rachidien		
	et <ul style="list-style-type: none"> • Prélèvement de gorge et/ou • Prélèvement de sang (plasma sur tube EDTA) pour les jeunes enfants • Prélèvement de selles (méningo-encéphalites) 	<ul style="list-style-type: none"> • Prélèvement de vésicules (pas toujours évident) et/ou • Prélèvement de gorge et/ou • Prélèvement des ulcérations buccales 	et <ul style="list-style-type: none"> • Prélèvement de sang (plasma sur tube EDTA) et/ou • Prélèvement de gorge • Prélèvement de selles • Liquide d'épanchement 	<ul style="list-style-type: none"> • Prélèvement naso-pharyngé • Aspiration nasopharyngée • Lavage broncho-alvéolaire (LBA) 	<ul style="list-style-type: none"> • Prélèvement de gorge • Prélèvement de selles • Prélèvement de sang (plasma sur tube EDTA) pour les jeunes enfants • Liquide d'épanchement • Biopsie
Prélèvements souhaités pour le génotypage	<ul style="list-style-type: none"> • Extraits d'ARN ayant servi à faire le diagnostic • 220 µl de LCR, plasma (correspondant aux extraits envoyés) si possible • 500 µl du milieu de transport pour le prélèvement de gorge • Echantillon de selles 	<ul style="list-style-type: none"> • Extraits d'ARN ayant servi à faire le diagnostic • 500 µl du milieu de transport pour le prélèvement de gorge, de vésicules ou de bouche 	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait d'ARN ayant servi à faire le diagnostic • 220 µl de LCR, plasma, liquide d'épanchement (correspondant aux extraits envoyés) si possible • 500 µl du milieu de transport pour le prélèvement de gorge 	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait d'ARN ayant servi à faire le diagnostic • 500 µl de LBA si possible • 500 µl du milieu de transport pour le prélèvement de nez ou l'aspiration naso-pharyngée 	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait d'ARN ayant servi à faire le diagnostic • 500 µl du milieu de transport pour le prélèvement de gorge • 220 µl de liquide d'épanchement si possible • Echantillon de selles ou de biopsie
Modalités de transport	<ul style="list-style-type: none"> • Extraits d'ARN : -20°C. Merci de préciser lors du premier envoi la méthode d'extraction utilisée ainsi que le volume de la prise d'essai et celui de l'éluion. • Prélèvements initiaux (autres que les prélèvements de selles) et surnageants de culture : -20°C • Prélèvements de selles : 4°C 				