

TUNISIE

HAMMAMET

du 28 sept.
au 30 2017

www.aframed2017.org



2^e édition

AFRAMED
VIH / HÉPATITES



CHARGES VIRALES HIV/HBV/HCV (Tunisie)

Pr Imène FODHA

Laboratoire de Microbiologie
Pr HU en Microbiologie / PhD
CHU Sahloul, Sousse (Tunisie)



Introduction : la biologie moléculaire en virologie

- Au sein de la microbiologie, les laboratoires de virologie ont été les premiers à utiliser la biologie moléculaire pour le diagnostic (limites du diagnostic sérologique, délai de résultat de la culture cellulaire, ...).
- Actuellement, indispensable non seulement pour le diagnostic, mais aussi pour le suivi des infections chroniques.



Introduction : charges virales

- La charge virale (CV) représente la quantité de virus présente dans l'organisme
- CV évaluée par la quantification de l'ADN/ARN viral dans le plasma
- Elle reflète l'intensité de la multiplication du virus
- Pour les virus responsables d'infections persistantes (HIV/HBV/HCV) :
 - Augmentation de la CV corrélée à l'aggravation de la maladie
 - Efficacité du traitement antiviral associée à une chute de la CV



Applications de la quantification des charges virales HIV/HBV/HCV en Tunisie



Intérêt diagnostique : HIV

- Confirmation/infirmer de l'infection devant une sérologie positive ou douteuse, en attendant résultat du Western-blot
- Diagnostic de l'infection chez le nouveau-né de mère VIH+ (absence de système de détection qualitative d'ARN-VIH)
- Diagnostic précoce des primo-infections (AES, rapports à risque...) : 1^{er} marqueur plasmatique à se positiver



Intérêt diagnostique : HBV

- Détection des hépatites B occultes notamment chez les patients ayant un profil sérologique d'« Ac anti-HBc isolés »
- Diagnostic de l'infection chez le nouveau-né de mère AgHBs+



Intérêt diagnostique : HCV

- Diagnostic précoce des primo-infections (AES, patients hémodialysés...) : 1^{er} marqueur plasmatique à se positiver
- Différenciation entre infections chroniques et hépatites C résolutive (cicatrice sérologique) ou sérologies faussement positives en HCV
- Détection des hépatites C occultes chez les patients présentant un contexte clinico-biologique évocateur et une sérologie C négative (patients hémodialysés, cirrhotiques...)



Suivi des porteurs chroniques non traités

- Evaluation de l'infectiosité, du risque de transmission (femmes enceintes,...) : HIV, HBV, HCV
- Intérêt prédictif (pronostic, évolution +/- péjorative de la maladie) : suivi régulier préconisé
 - ✓ HBV :
 - Si transaminases normales et CV précédente <2000 UI/ml : 1 CV annuelle pour vérifier que ADN reste <2000 UI/ml
 - Tous les 3-6 mois dans les autres cas
 - ✓ HIV : tous les 3-4 mois



Suivi des porteurs chroniques non traités

- Décision de mise sous traitement
 - HIV : patients asymptomatiques dont CD4 compris entre 350-500/mm³ et CV > **100.000 copies/ml**
 - HBV : CV > **2000 UI/ml** (ou 20.000 UI/ml selon activité des transaminases et degré de fibrose)



Suivi thérapeutique/post-thérapeutique

Prédiction et suivi de l'efficacité thérapeutique

HIV (Recommandations STI)

- CV pré-thérapeutique
- M1 : la CVP doit baisser d'au moins 2 log₁₀ copies/ml.
- M3 : la CVP doit être inférieure à 400 copies/ml.
- M6 : la CVP doit être indétectable.
- Une fois que la CV est indétectable, faire une CV tous les 6 mois (2 à 4 fois par an)

Suivi thérapeutique/post-thérapeutique

Prédiction et suivi de l'efficacité thérapeutique

HBV (Recommandations EASL 2017)

Clinical Practice Guidelines



EASL | JOURNAL OF HEPATOLOGY

- Patients traités par PegINF α :
 - ✓ M6 (CV doit être < 2000 UI/ml)
 - ✓ Fin TTT (CV doit être < 2000 UI/ml)
 - ✓ 12 mois après fin TTT (RVS si CV < 2000 UI/ml)
- Patients traités par antiviraux (lamivudine, entécavir, ténofovir):
 - ✓ M3 (CV doit être indétectable)
 - ✓ M12
 - ✓ Tous les ans

EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection^{†*}

European Association for the Study of the Liver^{*}

Suivi thérapeutique/post-thérapeutique

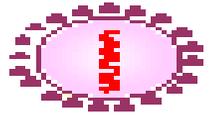
Prédiction et suivi de l'efficacité thérapeutique

HCV (Consensus tunisien, 2015):

- CV pré-thérapeutique
- S4 : s'assurer de la bonne observance et de l'efficacité du TTT
- Fin du TTT (différencier patients en échappement/en rechute)
- 12 semaines après fin TTT (RVS si indétectable)
- 24 semaines après fin TTT (éradication de l'infection si indétectable)



Techniques d'amplification moléculaire en virologie



Amplification de la cible

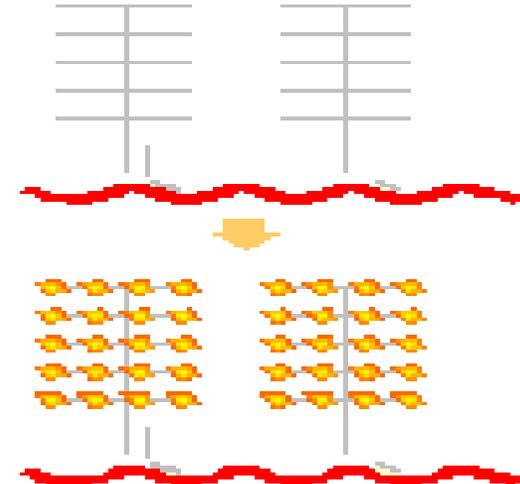
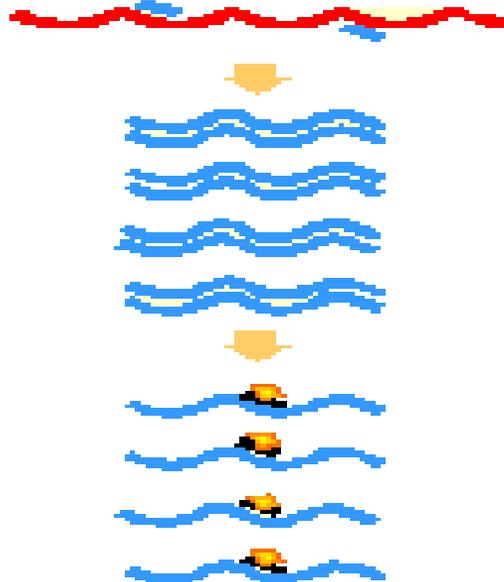
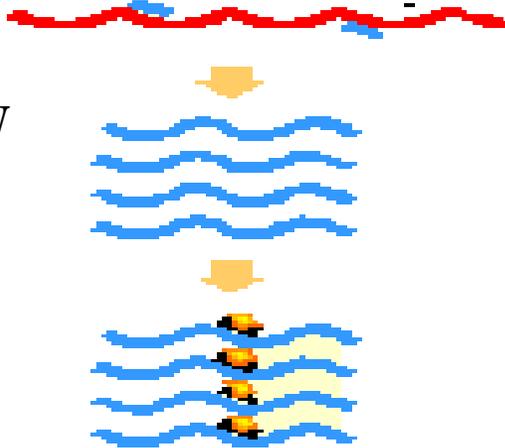
Amplification du signal

Transcription d'ARN

Synthèse d'ADN

ARN

ADN



TMA (Transcription Mediated Amplification).

NASBA (Nucleic Acid Sequenced Based Amplification)

PCR (temps réel)+++

ADN branché

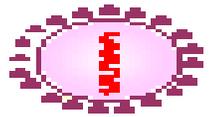
Principaux CHU tunisiens réalisant des CV HIV/HBV/HCV

Hôpital	Service	HIV	HBV	HCV
Charles Nicolle (Tunis)	Laboratoire de Microbiologie	X		
	Laboratoire d'Immunologie		X	X
Hôpital Militaire (Tunis)	Laboratoire de Microbiologie		X	X
Institut Pasteur (Tunis)	Laboratoire de Virologie		X	X
Aziza Othmena (Tunis)	Laboratoire de Microbiologie			X
Sahloul (Sousse)	Laboratoire de Microbiologie	X	X	X
Farhat Hached (Sousse)	Laboratoire de Microbiologie			X
Fattouma Bourguiba (Monastir)	Laboratoire de Microbiologie	X	X	X
Hedi Chaker (Sfax)	Laboratoire de Microbiologie	X	X	X

Automates utilisés

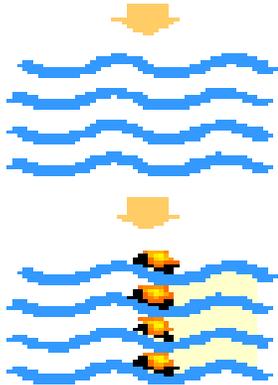
Hôpital	HIV	HBV	HCV
Charles Nicolle (Tunis)	Ampliprep/Cobas Taqman (Roche) M-2000 (ABBOTT) ou Easy-Q (Qiagen)		
			Sacace TM (Biomax)
Hôpital Militaire (Tunis)		Ampliprep/CobasTaqman (Roche)	
Institut Pasteur (Tunis)		Ampliprep/Cobas Taqman (Roche)	
Aziza Othmena (Tunis)			Sacace TM (Biomax)
Sahloul (Sousse)	Ampliprep/CobasTaqman (Roche)		
Farhat Hached (Sousse)			(Biogène)
Fattouma Bourguiba (Monastir)	Rotor Gene (Qiagen)		
Hedi Chaker (Sfax)	Cobas Taqman (Roche)		

Techniques d'amplification moléculaire



Amplification de la cible

ARN



ADN

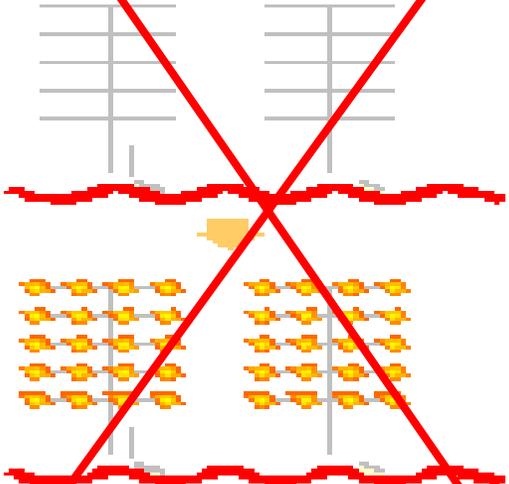


TMA (Transcription Mediated Amplification).

NASBA (Nucleic Acid Sequenced Based Amplification)

PCR (temps réel)+++

Amplification du signal



ADN branché

PCR en temps réel, système standardisé fermé



Ampliprep/Cobas Taqman (Roche)



ABBOTT M2000

PCR en temps réel, systèmes ouverts

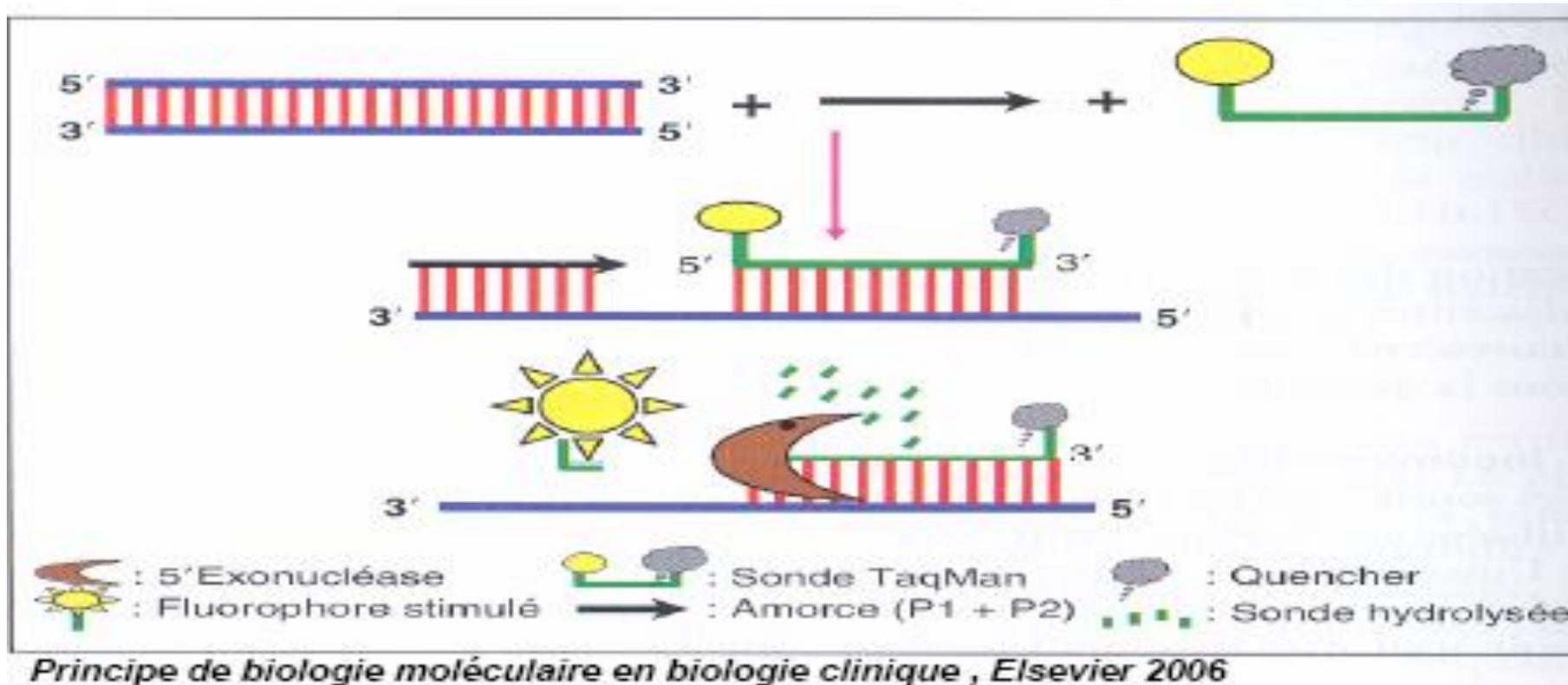
Rotor-Gene (Qiagen)



SACACE™ HCV / HBV / HIV REAL-TM
(Biomax)



PCR en temps réel : détection moléculaire par sonde d'hydrolyse TaqMan



Sonde doublement marquée par un fluorochrome (reporter) et un bloqueur (quencher). La proximité de ces deux molécules inhibe l'émission de la fluorescence. L'activité 5'-3' exonucléasique de la polymérase dégrade la sonde et libère le fluorochrome qui pourra émettre une fluorescence.

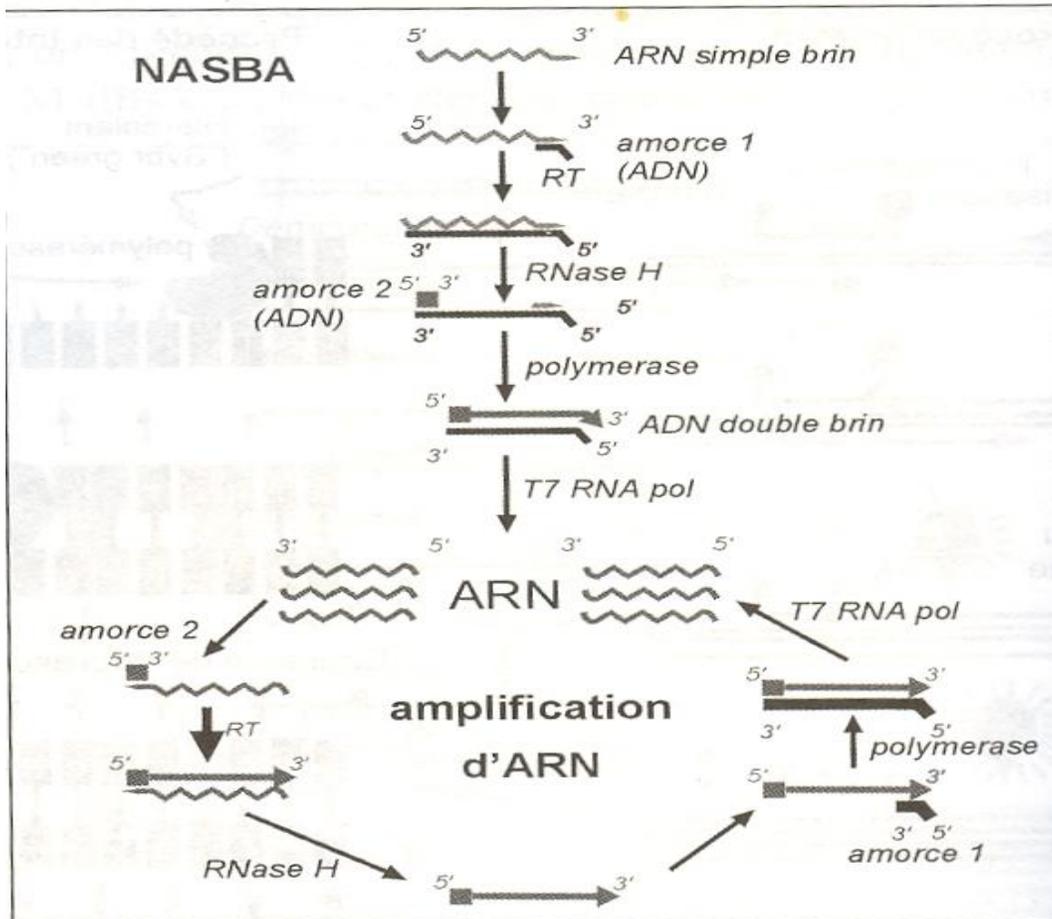
Caractéristiques techniques Ampliprep/Cobas Taqman (Roche)

	HIV 2.0	HCV 2.0	HBV 2.0
Prélèvement	Plasma		
Prise d'essai (µl)	1000	650	650
Limite de détection	13 cp/ml	14 UI/ml	10 UI/ml
Limites de linéarité	20 – 10 000 000 cp/ml	43 – 69 000 000 UI/ml	20- 170 000 000 UI/ml

NASBA : Easy-Q (Qiagen)

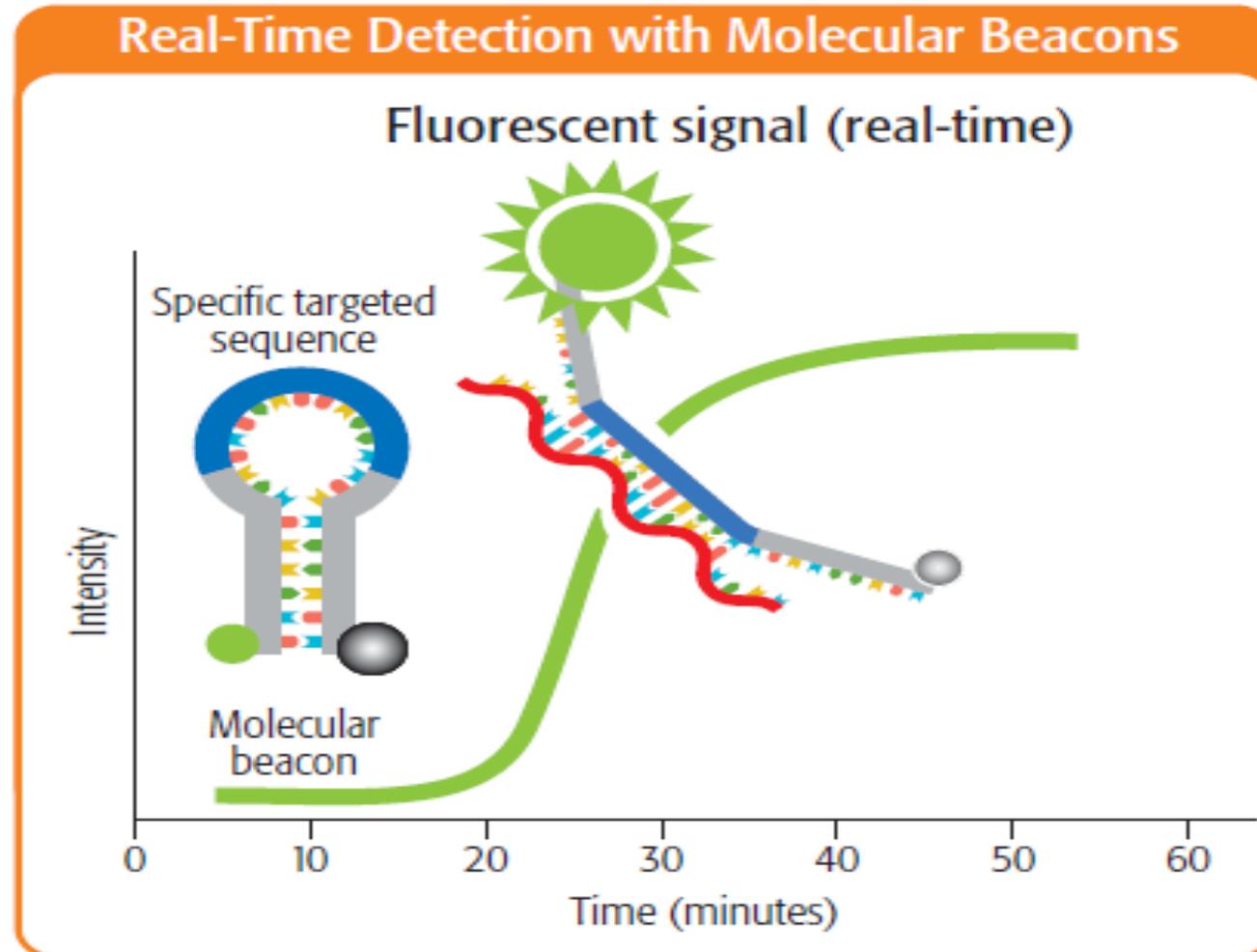


NASBA



Amplification à **température constante**. L'ARN est rétrotranscrit en ADN simple brin. Durant la dégradation de l'ARN par la RNase, le brin d'ADN complémentaire est synthétisé. Cet ADN double brin sera transcrit par la **polymérase du Phage T7**.

NASBA : détection moléculaire par sonde Beacon (tige boucle)



Merci pour votre
attention

TUNISIE

HAMMAMET

du 28 sept.
au 30 2017

www.aframed2017.org

2^e édition

AFRAMED
VIH / HÉPATITES

