

Apport du laboratoire dans le diagnostic des infections neuro-méningées virales

Olfah BAHRI - Hinda TRIKI

Laboratoire de Virologie Clinique

Institut Pasteur de Tunis

20^{ème} Congrès National de la STPI - 23 Avril 2010

Introduction

- **Virus neurotropes**
 - ⇒ Principale cause d'infections du SNC
- **Caractéristiques des infections virales neuro-méningées**
 - Tableaux cliniques non spécifiques
 - Gravité de certaines infections virales
(ex: cas de l'encéphalite herpétique)
 - Contexte épidémique fréquent

- **Entérovirus**

- Echovirus
- Coxsackivirus
- Poliovirus

- **Herpesviridae**

- Virus Herpes Simplex (HSV)
- Cytomégalovirus (CMV)
- Virus de la varicelle - Zona (VZV)
- Virus Epstein - Barr (EBV)
- HHV6

- **Arbovirus**

- **Rétrovirus**

- HIV
- HTLV

- **Virus de la rougeole**

- **Virus des oreillons**

- **Virus respiratoires**

- Virus de la grippe
- Adénovirus

- **Autres causes possibles**

- Virus de la rubéole
- Parvovirus B19
- Virus de la chorioméningite lymphocytaire
- Virus de la rage

Infections virales du SNC

- **Trois tableaux cliniques majeurs**
 - Méningites
 - Encéphalites
 - Myélites
- **Deux types de mécanisme physiopathologique**
 - Mécanisme direct
 - Mécanisme auto-immun

Objectifs du diagnostic virologique

- **Mise en évidence de l'étiologie virale**
 - Prise en charge du patient
 - But épidémiologique
- **Evaluation de la gravité et suivi de l'infection**
 - Suivi sous traitement (ID)
 - Gravité de l'infection associée à la charge virale

Prélèvements

- LCR

- ⇒ Diagnostic de certitude

- Autres prélèvements en fonction du virus en cause et de la physiopathologie

- ⇒ Diagnostic d'orientation

Conditions de transport et de conservation du LCR

- Prélèvement à garder à $+4^{\circ}\text{C}$ pendant 24-48h, sinon congélation à -20°C
- Acheminement **dans de la glace** avec réception directe au laboratoire
- Possibilité d'inhibiteurs de la PCR dans le LCR (ex: cas de prélèvement hémorragique, hyperprotéinorachie, Hyperleucocytose)

Caractéristiques du LCR en cas d'infection virale neuro-méningée

- Aspect: liquide clair
- > 10 cellules/mm³ avec + de 50% de lymphocytes
NB: Formule panachée ou à prédominance polynucléaire possible au tout début d'une infection
- Hyper-protéïnorachie modérée < 1 g/l
- Glycorachie = Normale

Méthodes de diagnostic

1- Diagnostic direct

⇒ recherche du virus ou de l'un de ses constituants

- * Biologie moléculaire⁺⁺⁺
- * Isolement viral sur cellule
- * Détection de l'antigène viral par IF

2- Diagnostic indirect

APPORTS DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

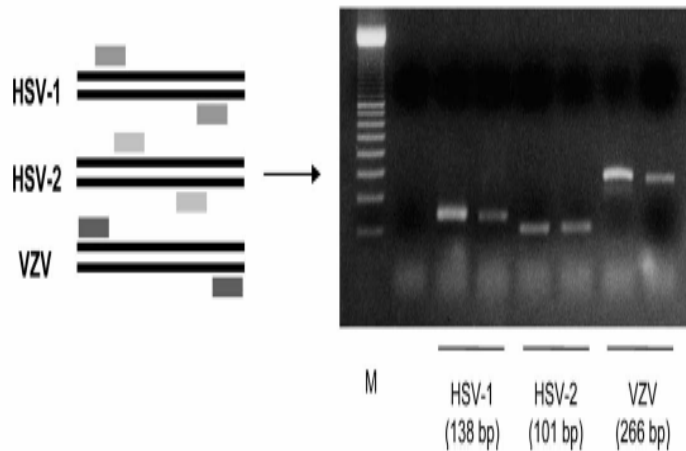
⇒ Diagnostic précoce des infections virales
par mécanisme direct

- PCR positive au cours des 7-10 jours du début

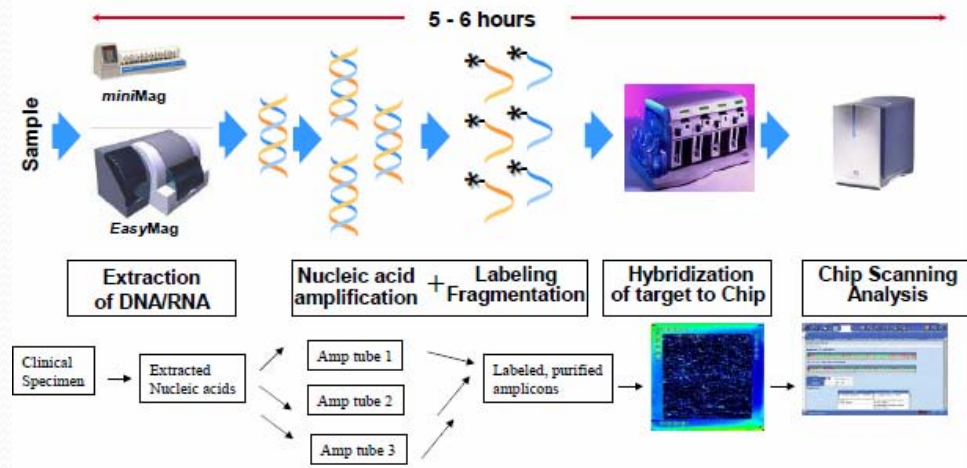
NB: risque de faux négatifs pour PCR HSV durant les 3 premiers jours (*Weil et al. 2002, Clin. Infect. Dis.*)

APPORTS DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

⇒ Diagnostic rapide des infections virales par
mécanisme direct



**PCR
multiplex**



Microarrays

APPORTS DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

⇒ Sensibilité+++ du diagnostic selon l'étiologie

	Sensibilité	Spécificité
HSV	>95%	>95%
CMV	80 – 100% (>60% - NNe)	75 – 95%
EBV	98% (VIH +)	100%
VZV	80 – 95% (ID)	>95%
HHV6	>95%	Faible
Entérovirus	>95%	>95%
JC virus	50 – 75%	98 – 100%
HIV	95 – 100%	Faible
Arbovirus	50 – 60%	Inconnue

APPORTS DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

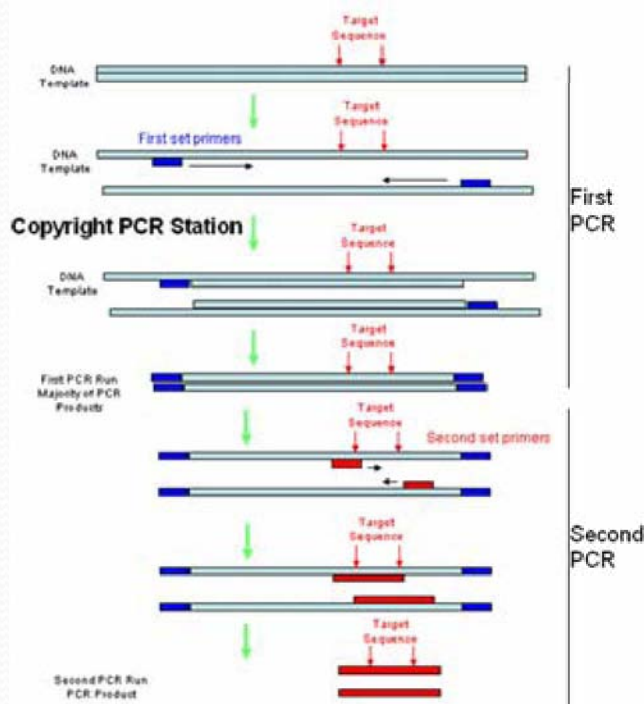
⇒ Sensibilité⁺⁺⁺ du diagnostic selon l'étiologie

- Prélèvement de préférence avant tout antiviral

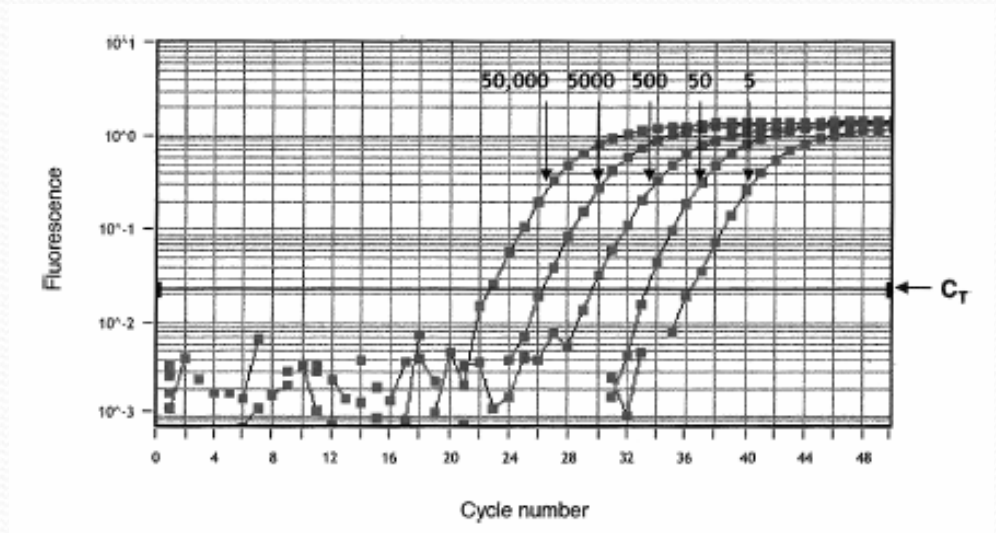
NB: Sensibilité PCR HSV variable en fonction de la durée du traitement: peu modifiée avant J5, ≈ 47% à partir de J7, ≈ 21% après J14 (*Bebiasi et al. 2004, Clin. Microbiol. Rev.*)

APPORTS DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

⇒ Sensibilité+++ du diagnostic selon les techniques utilisées



PCR nichée



PCR en temps réel

APPORTS DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

⇒ Sensibilité⁺⁺⁺ du diagnostic selon les techniques utilisées

Virus	Clinical picture	Virus load in CSF as far as available	
		Range	Mean ^a
HSV-1	42 (78%) acute encephalitis or meningitis 12 (22%) no information	$2.3 \times 10^2 - 1.8 \times 10^6$	6.9×10^4
HSV-2	10 (77%) meningitis or encephalitis 3 (23%) perinatal infection	$3.9 \times 10^3 - 4.9 \times 10^5$ $5.4 \times 10^4 - 9.9 \times 10^9$	5.5×10^4 1.5×10^6
VZV	1 (3%) varicella 28 (97%) zoster associated neurological symptoms	1.0×10^2 $1.0 \times 10^2 - 2.6 \times 10^8$	7.2×10^3
CMV	29 (70%) encephalopathy in immunosuppressed persons 8 (20%) congenital infection 4 (10%) no information	$2.0 \times 10^2 - 1.9 \times 10^6$ $1.8 \times 10^2 - 1.5 \times 10^5$	2.2×10^4 2.6×10^3
EBV	9 (82%) encephalopathy in HIV-infection, no PCNSL 1 (9%) PCNSL in HIV-infection 1 (9%) meningitis, no HIV-infection	$1.0 \times 10^2 - 6.7 \times 10^3$ NQ 1.0×10^2	3.6×10^2
HHV-6	5 (100%) unclear neurological syndromes	$1.0 \times 10^2 - 9.1 \times 10^2$	2.3×10^2

Aberle et al. 2002, J. Clin. Virol.

APPORTS DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

⇒ Intérêt dans l'évaluation de la sévérité et du suivi de l'infection

Table 5: Correlation between HSV-1 DNA level, severity of disease and clinical outcome²⁷

DNA level (copies/ml)	Age (y)	Duration of disease (days) [*]	Duration of aciclovir treatment ^{**} (days)	Patients with lesion detected by CT n (%)	Patients with reduced level of consciousness ^{***} n (%)	Clinical outcome (%)		
						Healthy	Mild/moderate	Severe or death
>100	45.4	6.5	1.2	9 (100)	9 (100)	0	7 (78)	2 (22)
<100	25.2	3.8	1.3	1 (15)	1 (15)	6 (86)	1 (14)	0
<i>P</i> -value	0.0221	0.0624	0.869	0.000874	0.019			

*Number of days that patients were ill prior to obtaining the CSF specimen; **Number of days that the patient had been treated for prior to obtaining the CSF specimen; *** Number of patients with a Glasgow Coma Scale <15. CT, computed tomography; HSV, herpes simplex virus; CSF, cerebrospinal fluid. Reproduced with permission from *J Clin Microbiol* 1998;36:2229-2234.

Isolement viral sur cellules

• Intérêts:

- * Caractérisation virale précise
- * Diagnostic précoce

• Inconvénients:

- * Précocité des prélèvements
- * Conditions de transport et de conservation du prélèvement
- * Sensibilité faible sur LCR /la PCR (< 50%)

(Cas HSV: CC ≈14-24%, IF ≈ 33%)

- * Délai de réponse long pour la culture cellulaire

Détection de l'antigène viral

• Intérêts:

- * Diagnostic précoce et rapide
- * Sensibilité+++ sur biopsie

Diagnostic INDIRECT

1- Dosage de l'interféron α dans le LCR

NB: Témoin d'une infection secondaire à une réplication virale, synthèse précoce et brève (disparition à J6-J10)

2- Mise en évidence des anticorps spécifiques

- Recherche et comparaison d'anticorps dans le LCR et le sang

Synthèse intra-thécale des anticorps:

Ig sériques/Ig LCR < 20

Diagnostic INDIRECT

Intérêts

- **Diagnostic tardif de certaines infections primitives**
(Encéphalite herpétique = Sérologie positive à partir de J15)
- **Diagnostic des encéphalites post infectieuses**
(Sérologie positive au moment des signes neurologiques)
- **Diagnostic des arboviroses**

Encéphalite		Primitive	Post-infectieuse
Sérum à J0	IgM	Inconstants	Présents
	IgG	Titre nul ou faible	Titre élevé
LCR à J0	IgG	Titre nul	Titre élevé
Sérum à J15	IgM	Inconstants	Présents
	IgG	Titre en ↗↗	Titre élevé
LCR à J15	IgG	Synthèse locale	Absents ou en ↓↓

Diagnostic direct

Diagnostic indirect

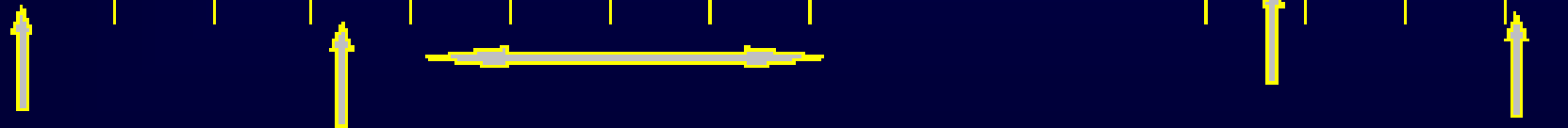
**CNS
signs**

Viremia

IgM antibodies

IgG antibodies

**Viral
RNA**



Onset

Disease
3-7 days

2-4
months

> 1 year

Stratégie diagnostique

Choix des techniques diffère selon:

- **L'étiologie virale suspectée**
- **Le mécanisme physiopathologique**
- **Le délai entre prélèvement et début des signes cliniques**

Diagnostic des infections virales neuro-méningées

- Infection à *Herpesviridae* avec LCR précoce
- Infections à entérovirus
- Infection à rétrovirus
- Encéphalite à inclusions (rougeole)



Diagnostic direct
PCR+++

- Infection à *Herpesviridae* avec LCR tardif
- Suspicion d'une arbovirose
- Méningite ourlienne
- Infection par mécanisme auto-immun

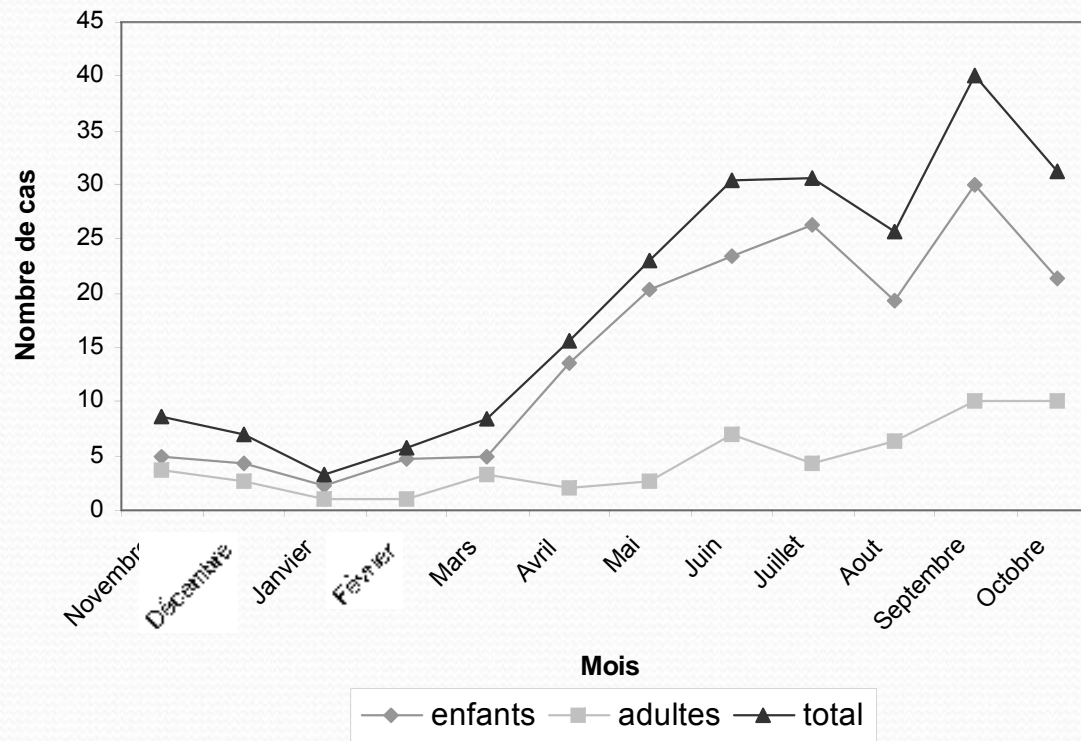


Diagnostic indirect

Diagnostic des MME en Tunisie

Expérience du Laboratoire
de Virologie Clinique - IPT

- Incidence des méningites lymphocytaires = 2.4x plus fréquente que celle des méningites bactériennes
- Recrudescence printanière et estivale



Ben Abdallah et al. 2003, La Tunisie Médicale

DIAGNOSTIC DES MME

Investigation virologique faite
au Laboratoire de Virologie Clinique - IPT

Etiologies virales actuellement ciblées

- 1996: Entérovirus (PCR + isolement)
- 1997: Virus West Nile (Sérologie + PCR)
- 2000: HSV, EBV, CMV (PCR + sérologie)
- 2009: Virus Toscana (Sérologie)

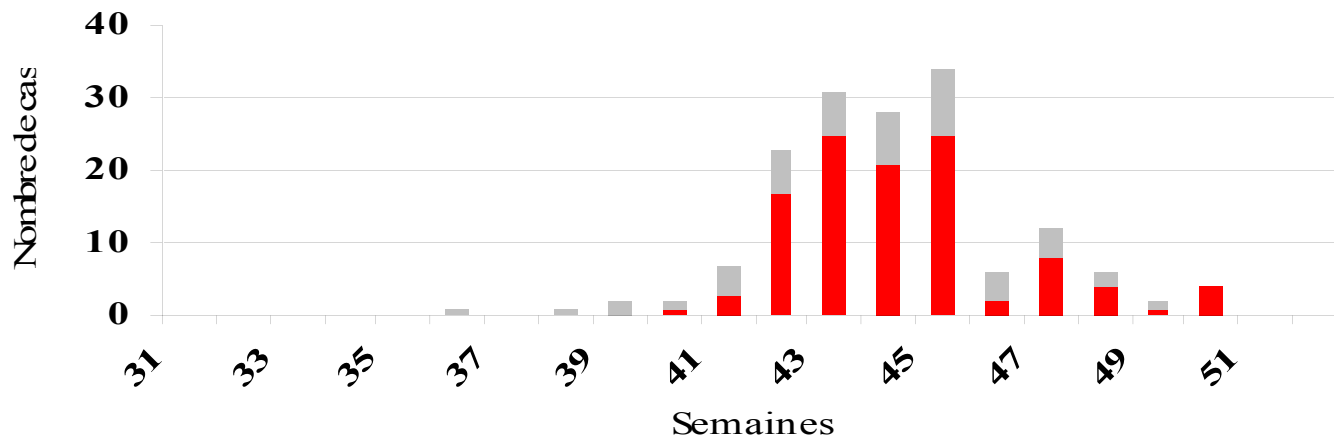
Méningite à entérovirus

- Circulation observée des sérotypes responsables de méningites (CoxB1, CoxB5, ECV1, 6, 9, 11, 13 et 30)
- Pics épidémiques de méningite à CoxB en 1999, 2000 et 2005, ECV 30 en 2003

Virus serotype	Aseptic meningitis	Paralytic cases	Asymptomatic individuals (contact of paralytic cases)	Total
ECV6	2	6	10	18
ECV11	2	5	7	14
ECV30	3	5	6	14
ECV13	1	3	5	9
CBV1	2	1	6	9
CBV5	7	3		10
ECV1	1		3	4
ECV9	1		3	4

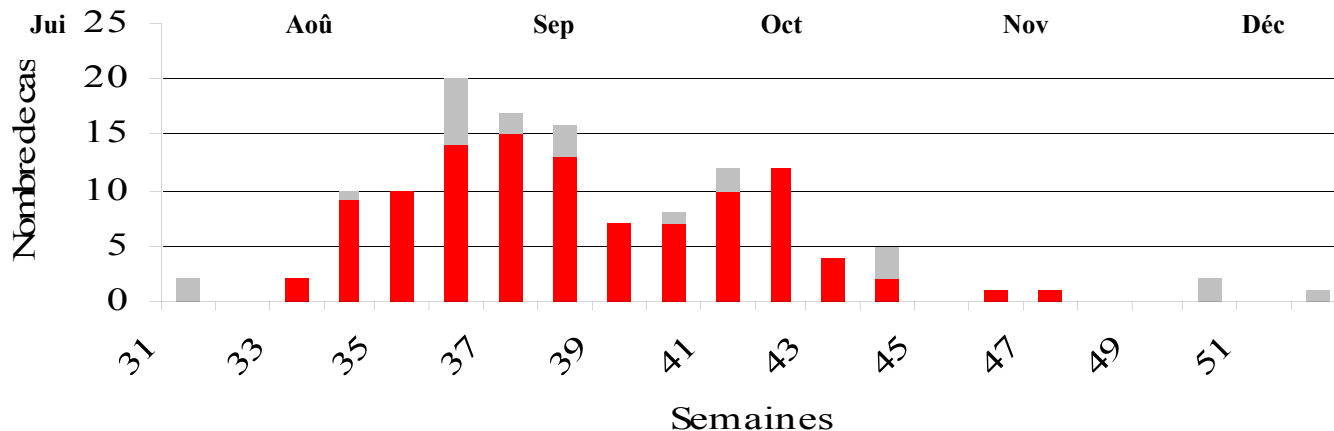
Bahri et al. 2005, J. Med. Microb.

MME due au virus West Nile en Tunisie



1997

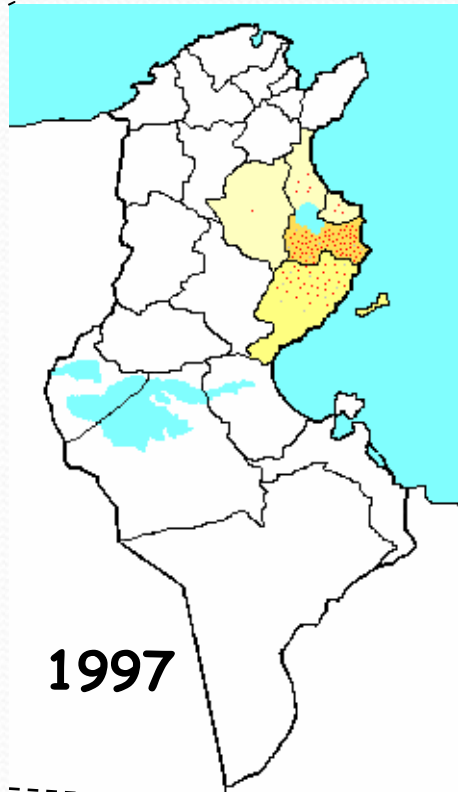
- 173 cas
- 129 prélevés
- 86% positifs

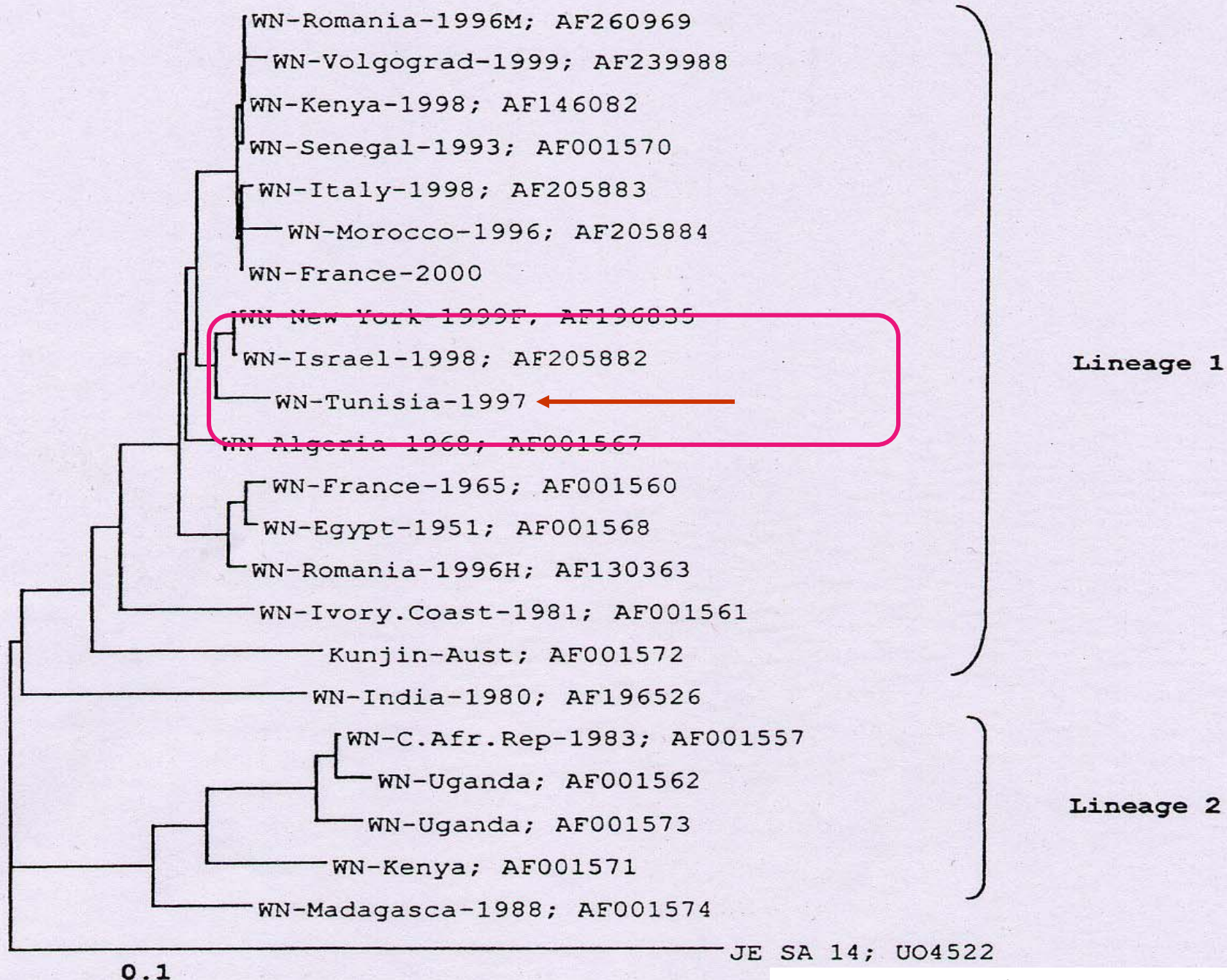


2003

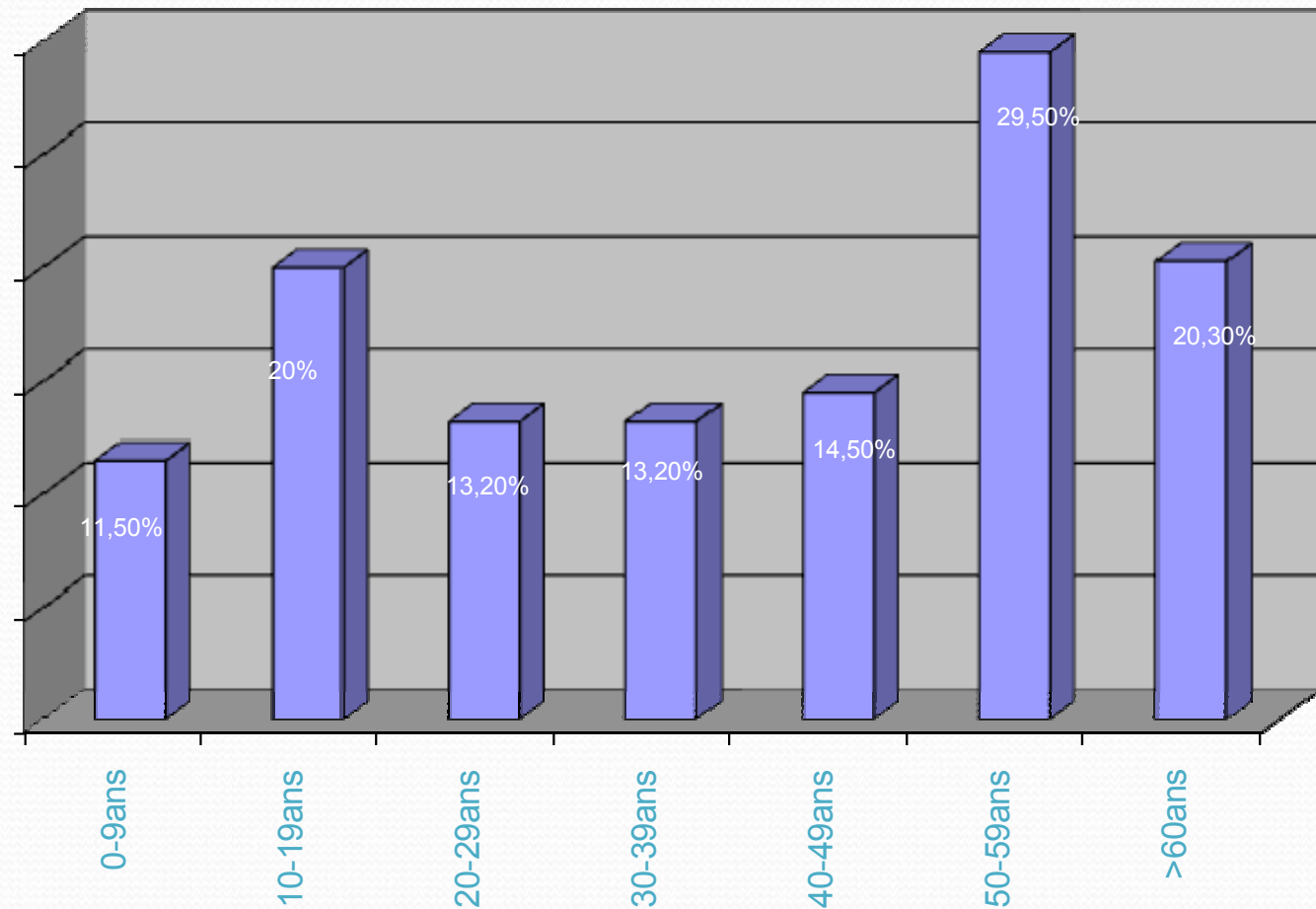
- 233 cas
- 219 prélevés
- 51% positifs
- 30% positifs à EV (Echo30)

MME due au virus West Nile en Tunisie



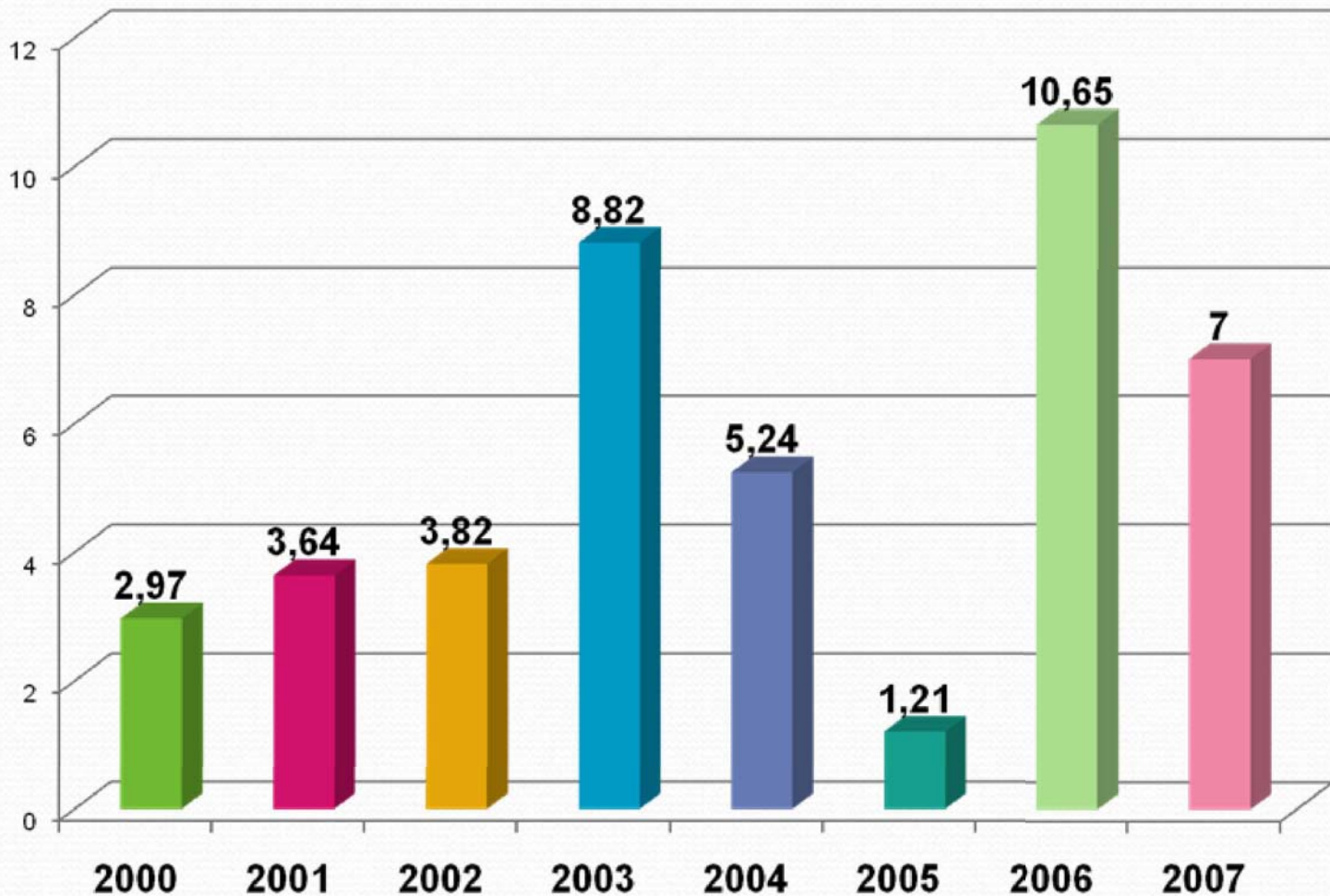


Répartition de la séroprévalence en fonction de l'âge (Mahdia)

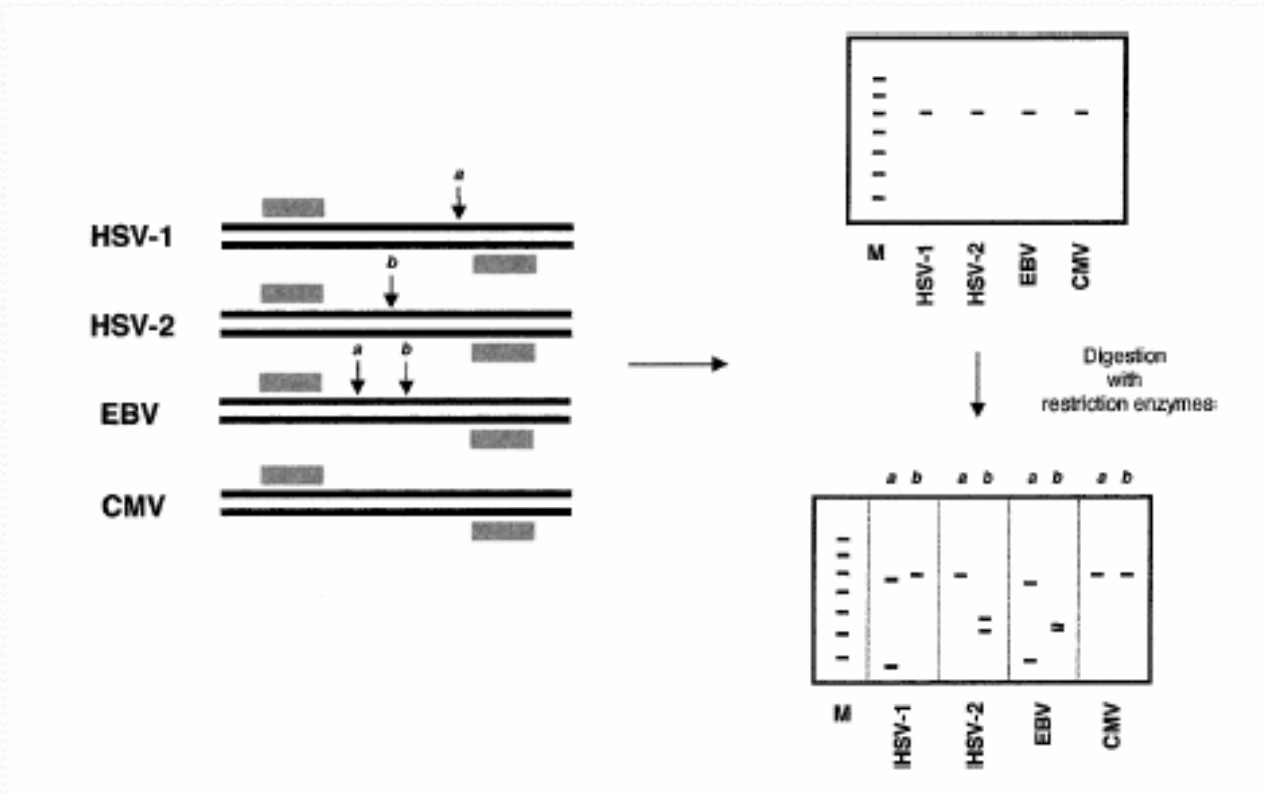


Enquête séro-épidémiologique dans le gouvernorat de Sfax

Répartition de la séroprévalence en fonction de l'année



Infection à *Herpesviridae*



PCR consensus suivie de RFLP

Infection à *Herpesviridae*

- Période étudiée = 2003 – 2009
- Nombre de cas investigués = 1073 cas d'infections du SNC
- Nombre de prélèvements reçus = 1300 dont 848 LCR
- Nombre total de cas positifs = 188 cas (17.5%)
- Nombre de cas positifs à *Herpesviridae* = 17/188 (9%)
- Type d'*Herpesviridae* détectés
 - HSV = 14 cas
 - CMV = 2 cas
 - EBV = 1 cas



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
 www.em-consulte.com



Article original

Rôle du virus Toscana dans les infections neuroméningées en Tunisie

Role of Toscana virus in meningo-encephalitis in Tunisia

O. Bahri ^{a,*}, O. Fazaa ^a, N. Ben Alaya-Bouafif ^b, M. Bouloy ^c, H. Triki ^a, A. Bouattour ^d

Année	Total testé	Infection récente (IgM+)	Infection ancienne (IgM– /IgG+)
2003	48	6	3
2004	21	–	1
2005	72	6	9
2006	23	2	–
2007	60	2	5
2008	37	3	4
2009	54	12	–
Total (%)	315	31 (10 %)	22 (7 %)

Surveillance des MME en Tunisie

Problèmes rencontrés

• **Étiologie inconnue dans la majorité des cas**

- Mauvaises conditions d'acheminement des prélèvements
- Collection tardive des échantillons
- Prélèvements inadéquats
- Renseignements cliniques insuffisants
- Diagnostic étiologique limité à quelques virus neurotropes

Conclusion

- Importance des infections virales du SNC
- Importance du diagnostic virologique
 - ⇒ Meilleure prise en charge
 - ⇒ Meilleure connaissance de la situation épidémiologique dans le pays
- Intérêt d'une surveillance élargie et attentive
- Importance de conditions adéquates du prélèvement + intérêt des renseignements cliniques