

Le diagnostic virologique des maladies associées au virus d'Epstein-Barr

6e Journées d'Hiver de Biologie Hospitalière
La Plagne 2009

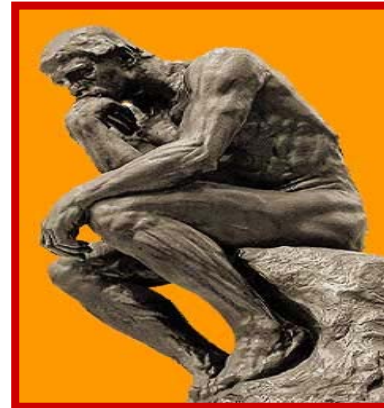
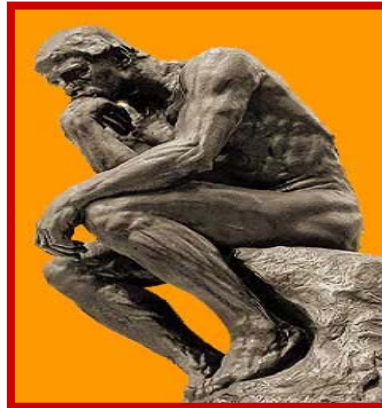
P Morand, M Baccard-Longère, JM Seigneurin
Laboratoire de Virologie CHU Grenoble



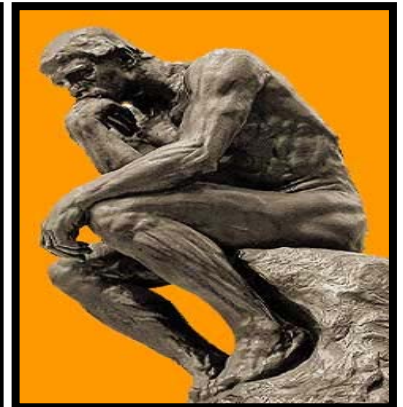
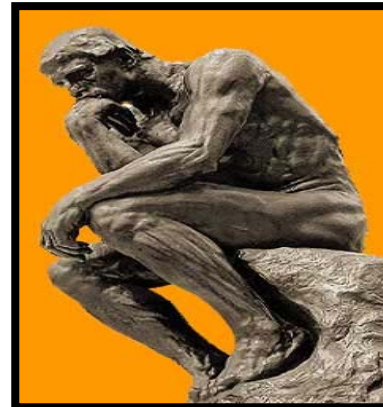
**Facile ...
et
peu discutable**

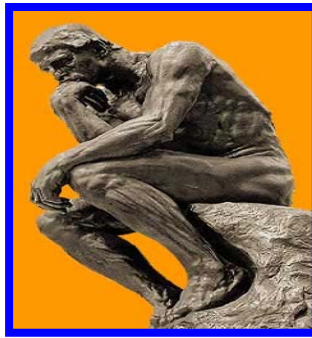


**Difficile...
et
éventuellement
discutable**



**Difficile...
et
surement
discutable**





En présence de symptômes cliniques évocateurs chez l'adulte ou l'adolescent, un MNI-test positif (détection rapide d'anticorps hétérophiles) peut suffire pour confirmer une mononucléose infectieuse.

- 1. Plutôt d'accord**
- 2. Plutôt pas d'accord**
- 3. Ne se prononce pas**

les faux positifs du MNI test sont rares

- Faux positifs :

- essentiellement pb de lecture

- Primo-infection VIH :

 - . 3 cas décrits

 - . 0/132 MNI test positifs chez l'adulte à Boston

 - . contexte épidémiologique/interrogatoire

Vidrih J A Am J Med 2001

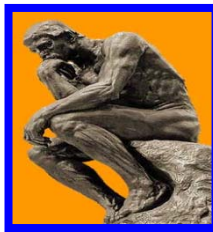
Walenski Rp Clin Inf Dis 2001

- Plus rarement CMV

- Maladies auto-immunes (contexte)

Hurt C Am J Med 2007

- MNI test : IgM = durée 2-3 mois : parfois coïncidence entre une primo-infection EBV passée inaperçue et une autre infection virale en cours



Chez l'immunocompétent, le tableau sérologique suivant :

- . Ig G anti VCA positive**
- . Ig M anti VCA positive**
- . Ig G anti EBNA1 positive**

Peut correspondre à :

- 1. une fin de primo infection à EBV**
- 2. une infection ancienne à EBV avec une réactivation sérologique de l'EBV**
- 3. une infection ancienne à EBV avec un croisement sérologique sur les IgM**
- 4. toutes les réponses sont exactes**

IgM VCA + avec IgG EBNA1 : Tout est Possible !!

43 patients (8-75 ans) avec symptômes compatibles avec MNI
IgG VCA +, IgM VCA + IgG EBNA1+

Avidité des IgG
IMMUNOBLOT IgM EBV

42 %

Fin de primo-infection
à EBV

25 %

Infection ancienne à EBV
avec réaction croisée

23 %

Réactivation
Sérologique à EBV

Nystad TW, J Clin Virol 2007

Rq L'avidité des IgG anti VCA : moins facile et moins rentable que pour le CMV ou la rubéole

IgG VCA IgM VCA IgG EBNA1

-	-	-	→ Absence d'infection
+	-	+	→ Infection ancienne
+	+	-	→ Infection récente

+	+	+
-	+	-
-	-	+
+	-	-

Contexte ?
(age/ terrain / gammaglobulines)
±

Cinétique des anticorps EBV
Immunofluorescence
Avidité IgG VCA ?
PCR sanguine et salivaire EBV
Diagnostic autre virus

Sérologie EBV à Grenoble

- ELISA (3500/an):

IgG anti EBV (mélange Ag) (Enzygnost Dade Behring)

bien corrélé avec IF

titre > 640 taux élevé

IgM anti EBV (Mélange d'Ag)(Enzygnost Dade Behring)

modification de coffret en 2005

plus spécifique mais moins sensible

quelques cas de MNI test + IgM négative

Ig G anti EBNA 1 (recombinant) (BMD, biomedical diagnostic)

si vraie MNI : jamais positif avant deux mois

quelque faux positif faible

- immunoDot EBV IgG (100/an, PMO) (BMD)

- Monospot (150/an) (Meridian bioscience)

- IFI (carcinome indifférencié du Cavum, vérification ELISA)

Sérologies évaluées à Grenoble

- LIAISON (Diasorin) :

- . Evalué en 2003
- . Le plus sensible en IgM mais faux +
- . Nouveau coffret IgM plus spécifique ?

- BIOPLEX 2200(Biorad) :

- . Evalué en 2006
- . praticabilité ++
- . Retard important des IgG anti VCA dans les MNI
(due à l'utilisation isolée de l'Ag de capsidie P18)
- . Quelques Retards en IgM anti VCA sur 1^{er} sérum dans les MNI
rattrapé par Ac hétérophiles ?

- VIDAS

- . Evalué en 2009
- . praticabilité ++
- . Specificité ++ Sensibilité ++

-Autres : mbaccard@chu-grenoble.fr, pmorand@chu-grenoble.fr

Sérologies évaluées à Grenoble

AII DIAG EBV



- **RESULTAT POSITIF** : Présence d'une bande Test grise (même de faible intensité) et d'une bande contrôle mauve. Présence d'anticorps IgM anti ZEBRA en faveur d'une primo-infection ou d'une réactivation à EBV.



- **RESULTAT NEGATIF** : Absence de bande Test grise et présence d'une bande contrôle mauve. Les anticorps anti ZEBRA sont absents ce qui indique une absence de primo-infection à EBV.



- **NON SIGNIFICATIF** : Absence de bande contrôle mauve. Un volume d'échantillon insuffisant ou une mauvaise réalisation du test sont les deux causes les plus fréquentes de résultat non significatif. Répéter le test avec une nouvelle bandelette.



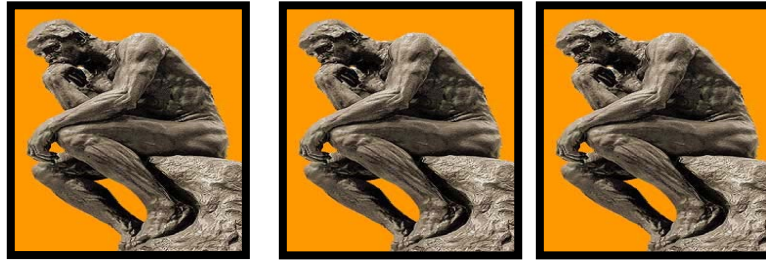
L'interprétation de la sérologie EBV: Difficile mais les résultats s'améliorent !!!

3 contrôles de qualité 2000, 2003, 2006

Détection des Ac hétérophiles, IgM et IgG anti VCA, IgG anti-EBNA

		Réponses exactes (%)		
		2000	2003	2006
MNI test	MNI test +	90.5	96.3	98
	MNI test -	98.8	nd	99.3
Sérologie EBV	Primo-infect. EBV	66	nd	97
	Infect. ancienne EBV	91	nd	97

Afssaps , JM Seigneurin (résultats non publiés)



La fatigue prolongée post MNI (> 6 mois) est très souvent associées avec des anomalies de la sérologie EBV et de la charge virale EBV

- 1. Plutôt d'accord**
- 2. Plutôt pas d'accord**
- 3. Pas d'opinion**

Fatigue prolongée post MNI

- **Fatigue > 6 mois post MNI : 10% des patients**

. **≠ du syndrome de mononucléose chronique**

(Chronic Active EBV Infection (CAEBV))

. **Pathogénie et Prise en charge pas évident :**

. **sérologie virale et charge virale souvent normale**

Cameron B, J infect dis 2006

. **études actuelles sur l'expression des gènes cellulaires**

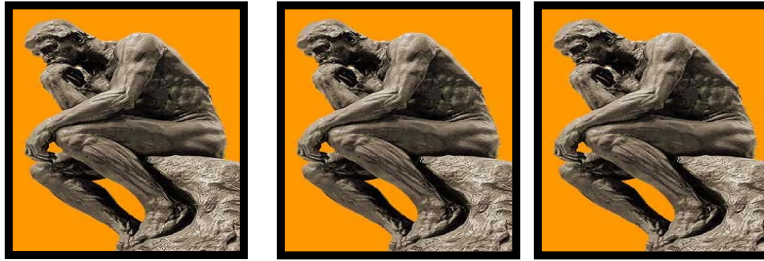
. **fonction mitochondriale altérée? (12 gènes sur 24)**

Vernon S BMC infect dis 2006

. **essais thérapeutiques avec valganciclovir / valacyclovir**

Lerner A, In Vivo 2007

kogelnik J clin Virol 2006



Q 4

Du fait d'une modification de l'épidémiologie de la primo-infection à EBV dans les pays industrialisés, il est probable que le nombre de MNI « graves » augmentent dans ces pays

- 1. Plutôt d'accord**
- 2. Plutôt pas d'accord**
- 3. Pas d'opinion**

Augmentation des MNI Graves ?

- 38 hospitalisations au CHU de Rennes entre 1990 et 2005 pour MNI:

- . Hépatites sévères (12)
- . Syndromes d'activation macrophagique (5)
- . Méningo-encéphalites (3)

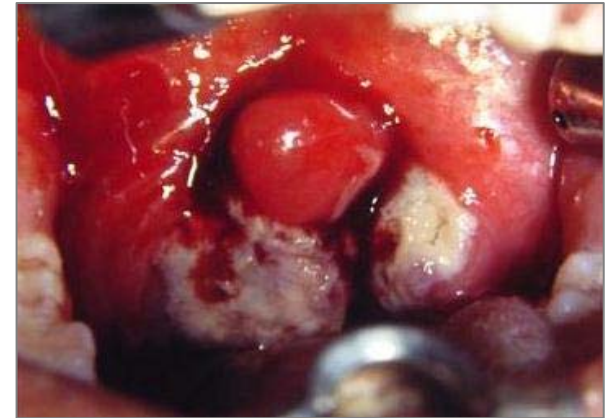
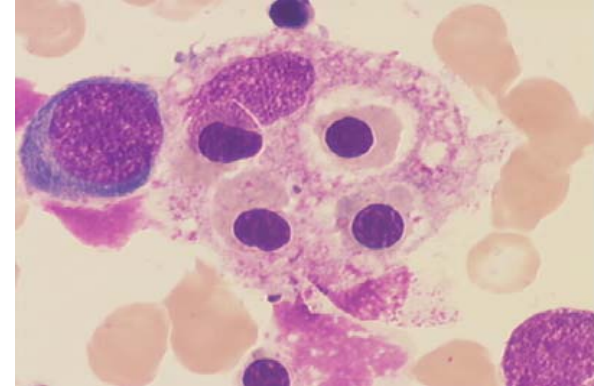
...

. 1990-2001:

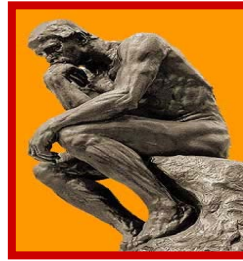
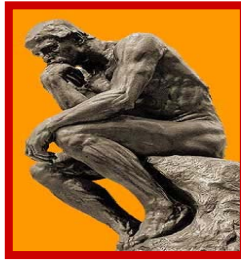
- .17 admissions (1.4 par an)
- .1 transfert en soins intensifs

. 2002-2004:

- .21 admissions
- .8 transferts en soins Intensif**
- .2 décès (17, 20 ans):**



Explications ?
Marqueurs virologiques ?
Traitement ?



Un vaccin anti-gp 350 (glycoprotéine d'enveloppe) actuellement à l'essai (phase II) pourrait prévenir les symptômes de la MNI en empêchant la primo-infection EBV

- 1. Vrai**
- 2. faux**

Table 1. Distribution of cases of infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus infection among vaccine and placebo recipients.

Case, presentation category	ATP population		ITT population	
	Given placebo (n = 90)	Given gp350/AS04 vaccine (n = 86)	Given placebo (n = 91)	Given gp350/AS04 vaccine (n = 90)
Infectious mononucleosis	8	2	9	2 ^a
Definite	8	2	8	2
Probable	0	0	1	0
Asymptomatic infection	9	11	9	11
Total	17	13	18	13

Characteristics of Hodgkin's Lymphoma after Infectious Mononucleosis

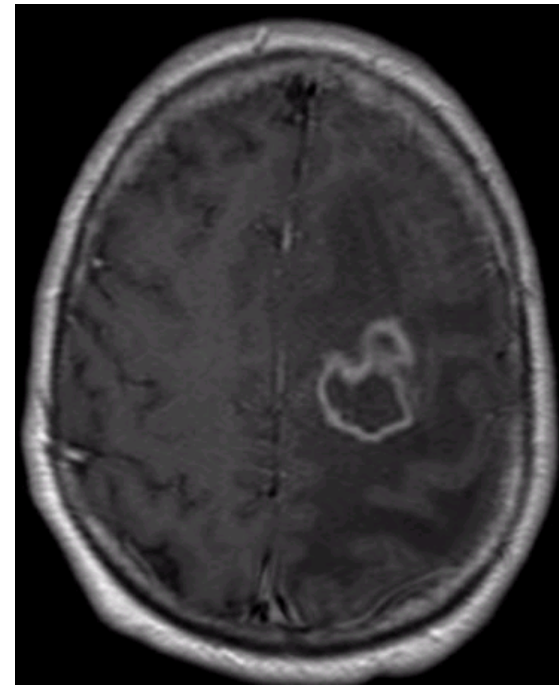
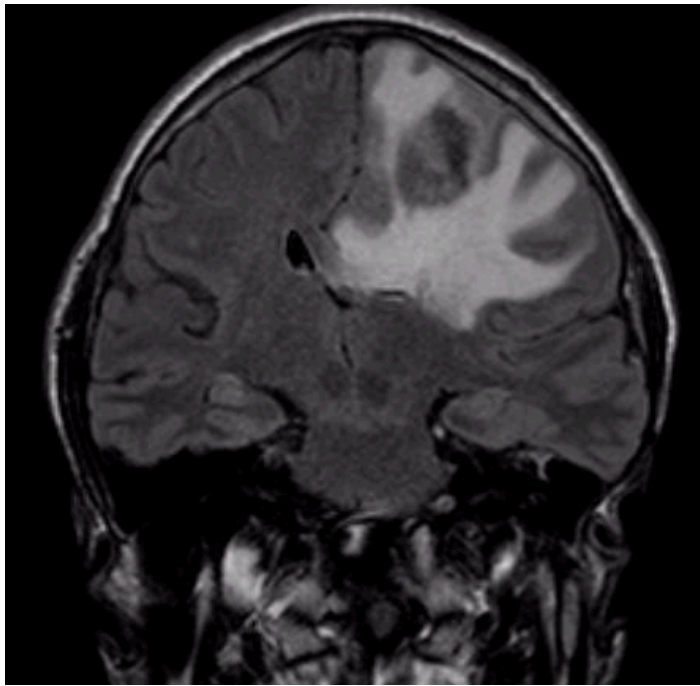
Henrik Hjalgrim, M.D., Johan Askling, M.D., Klaus Rostgaard, M.Sc.,

N Engl J Med 2003

Infectious Mononucleosis and Risk for Multiple Sclerosis: A Meta-analysis

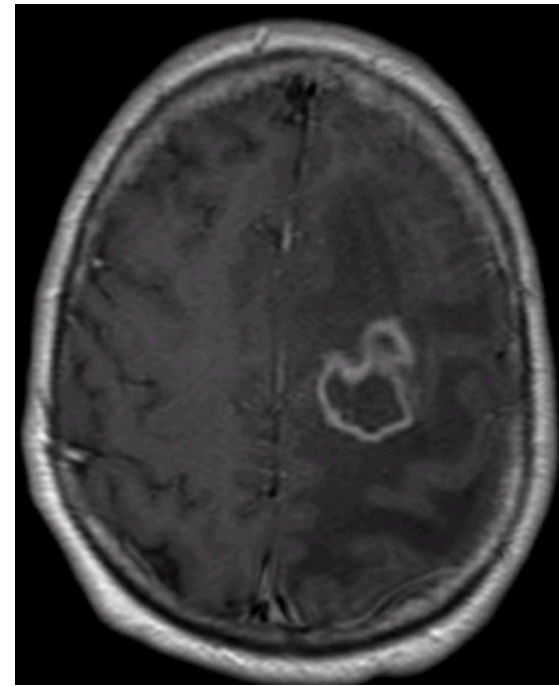
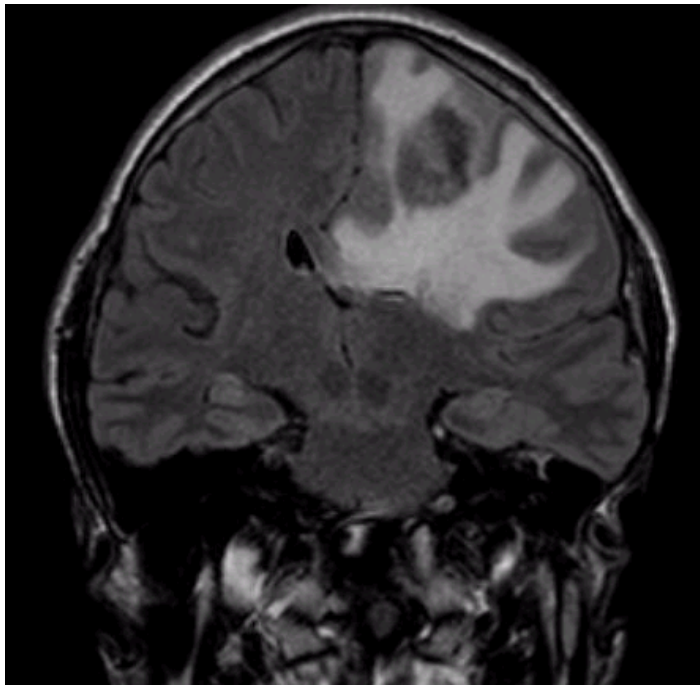
Evan L. Thacker, SM,¹ Fariba Mirzaei, MD, MPH^{1,2} and Alberto Ascherio, MD, DrPH^{1,2}

Ann Neurol 2006



Patient de 40 ans Greffé rénal en 2004
02/ 2008 Hospitalisé en maladie infectieuse pour convulsions
PL impossible
Imagerie lymphome ou abcès fongique ou parasitaire

Diagnostic ?



Patient de 40 ans Greffé rénal en 2004
02/ 2008 Hospitalisé en maladie infectieuse pour convulsions
PL impossible
Imagerie lymphome ou abcès fongique ou parasitaire

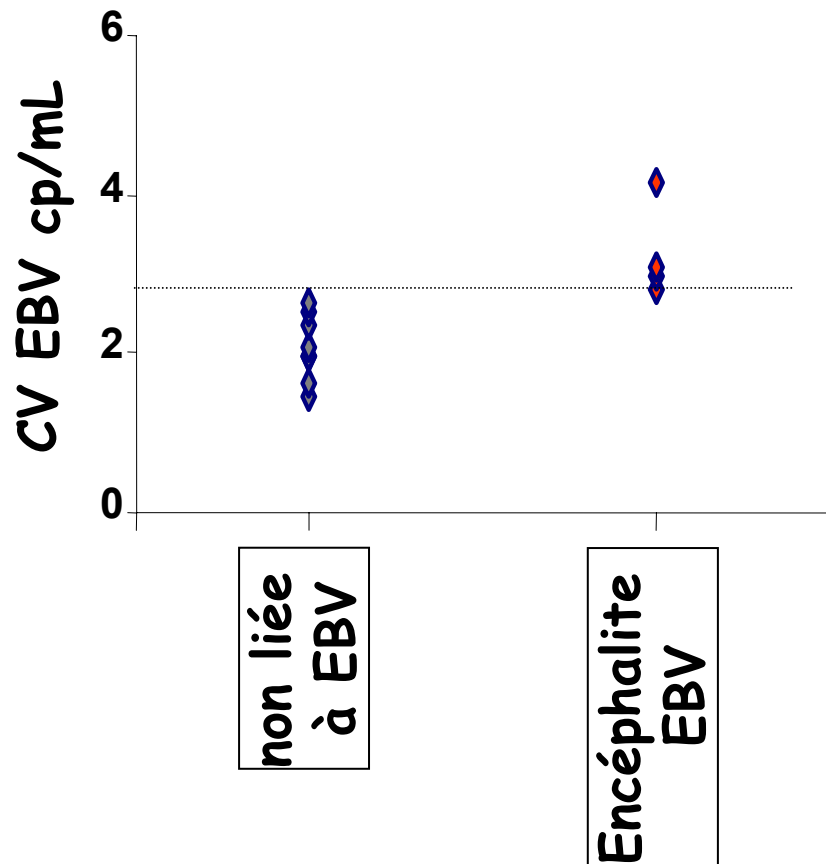
Charge virale sang total : 650 copies/ml

Biopsie cérébrale : anapath petit doute ?

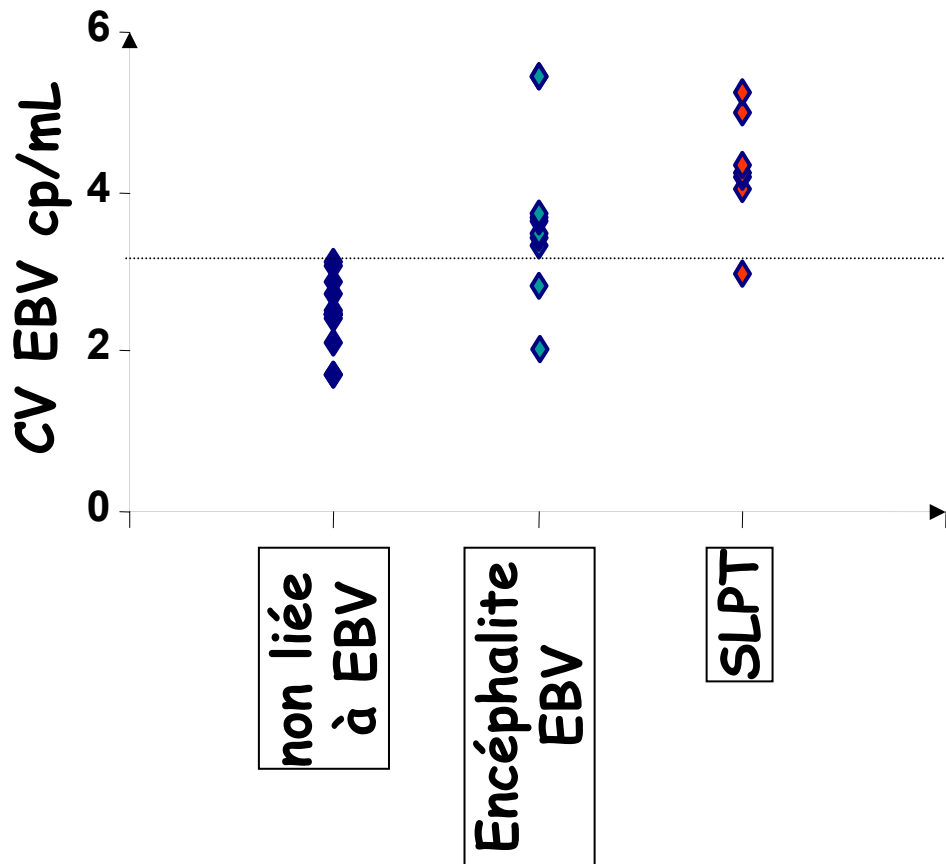
charge virale > 2 millions copies/ ug d'ADN

Charge virale EBV /LCR: quelle interprétation ?

Sujets immunocompétents



Sujets immunodéprimés





En transplantation d'organe solide, le statut EBV D+/R- est considéré comme le facteur de risque le plus important pour le développement d'un Syndrome Lymphoprolifératif post transplantation (SLPT)

- 1. D'accord**
- 2. Pas d'accord**
- 3. Pas d'opinion**

- . **Fréquence des SPLT en greffe d'organe solide dépend du :**
 - . **statut EBV : D+/R- (risque X10 - 80)**
 - . **type d'organe transplanté +++**
 - . **type et surtout intensité immunosuppression +++**
 - . **Autres facteurs**

- . **incidence cumulée à 5 an \cong 1% en greffe de rein de l'adulte**
- . **plus élevée pour autre greffe (poumon > foie)**

- . **Enfant : cancer le plus fréquent**
- . **Adulte : second cancer après les cancers cutanés**
- . **Lymphomes : 30 à 50 fois plus fréquent/ non transplanté**

Slifkin M, Drugs 2004

Preiksaitis Clin Infect dis 2004

Gottschlack Ann Rev Med 2005



En transplantation d'organe solide, en cas de suspicion clinique de SLPT, la mesure de la charge virale dans le sang total est sensible mais peu spécifique.

- 1. D 'accord**
- 2. Pas d 'accord**
- 3. Pas d'opinion**

SPLT avéré et charge virale EBV dans sang total

. 1 série d'enfants avec greffe hépatique (n=30)

- seuil 4000 copies / μ g d'ADN (\cong 40 000 copies/ml sang total)**
- 16 CV CV > 4000 :**

.11 PTLD-

. 5 PTLD+ (16% 5/30)

. Sensibilité 100% spécificité 83%

. VPN 100% VPP 53%

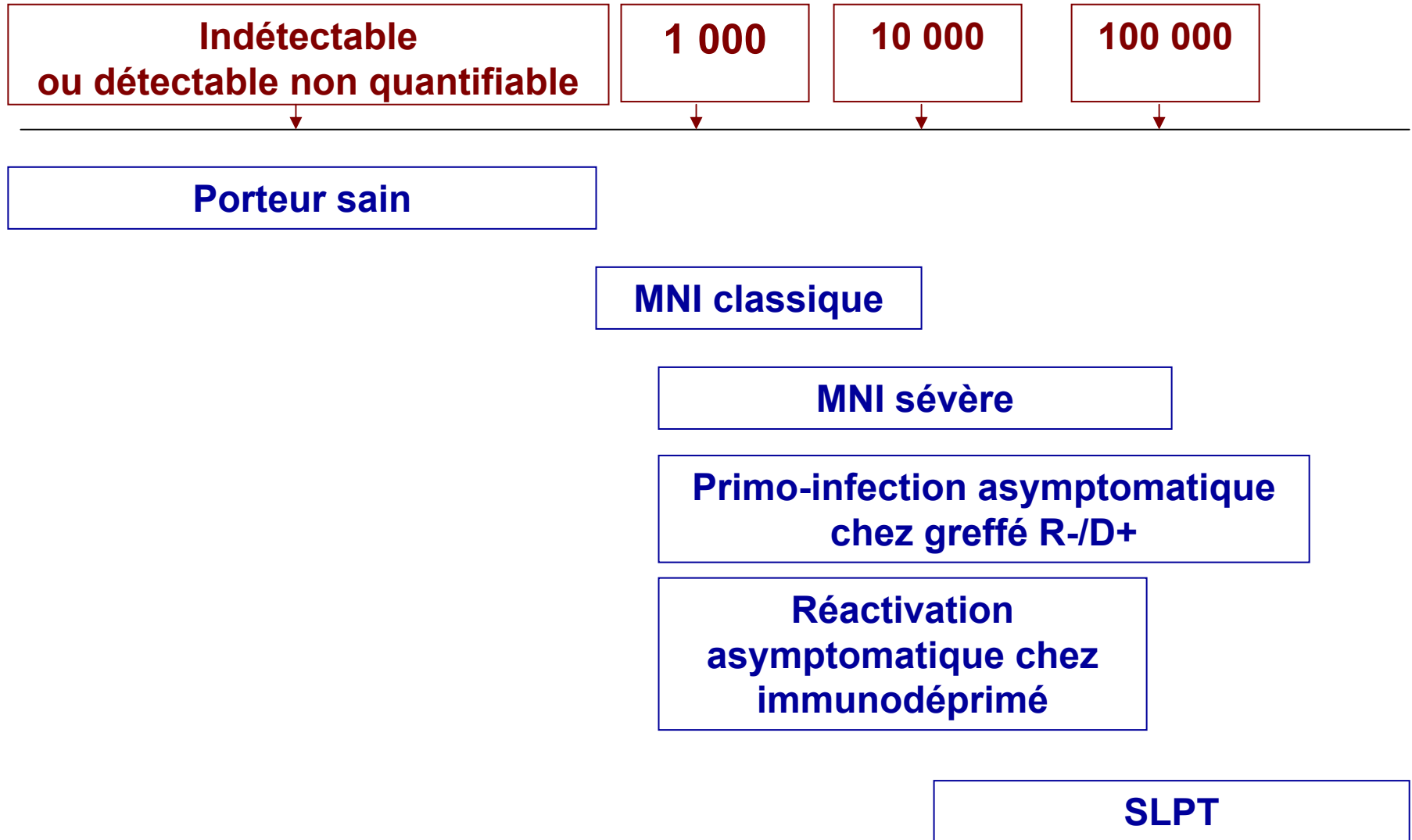
SPLT avéré et charge virale EBV dans sang total

.59 greffes moelle allogéniques (22 enfants et 37 adultes) PCR sang total

Etude	Méthode	Sensibilité	Spécificité	Cut-off
Sang total	Quantitative PCR (copies/ μ g ADN)	87%	91%	100 000

	Prévalence SLPT %	VPP %	VPN %
1 facteur de risque	1.7	14	99
2 facteurs de risque	8	46	99
3 facteurs de risque	22	74	96

CV EBV par PCR en temps réel en copies/ml de sang total



Charge virale EBV et greffe

-Utile si cinétique

à confronter avec facteurs de risque,clinique,imagerie pour décider d'un traitement préemptif ou curatif (si pas de preuve histologique)

- Utile pour « monitorer » l'IS en greffe d'organe solide?**
- Les meilleurs prélèvements ? (sang total ou plasma)**
- Les seuils ?**
- La fréquence des suivis ?**
- A associer « d'urgence » avec marqueurs immunologiques (CTL , Cytokines?)**