

# DIAGNOSTIC DES INFECTIONS VIRALES CHEZ LE SUJET VIH(+)

**Dr O. BAHRI**

Laboratoire de Microbiologie – Biochimie  
Hôpital Aziza Othmana

# INTRODUCTION

## ■ Infection à VIH

- ⇒ État d'immunodépression cellulaire
- ⇒ Terrain favorable pour les infections

## ■ Fréquence<sup>+++</sup> des infections virales

- ☛ Plusieurs étiologies possibles
- ☛ Tableaux cliniques variables

## ■ Risque élevé de mortalité et morbidité en l'absence de prise en charge

## ☛ Importance

- d'un diagnostic rapide et sensible
- d'un suivi régulier de l'efficacité thérapeutique

Infection à VIH



Déplétion lymphocytaire (T/CD4+)



- Bactéries
- Champignons
- Parasites
- **Virus<sup>+++</sup>**

Mécanisme physiopathologique le plus fréquent

⇒ **Réactivation de virus latents**

# VIRUS RESPONSABLES

## **-Herpetoviridae**

- CMV
- HSV
- VZV
- EBV
- HHV8

## **- Polyomavirus (JC virus)**

## **Virus des hépatites**

- VHB
- VHC

## **- Autres virus impliqués**

- Virus respiratoires,
- HPV
- Adénovirus ....

# HERPETOVIRIDAE



**$\alpha$  Herpétovirinae**

**$\beta$  Herpétovirinae**

**$\gamma$  Herpétovirinae**

- HSV1
- HSV2
- VZV

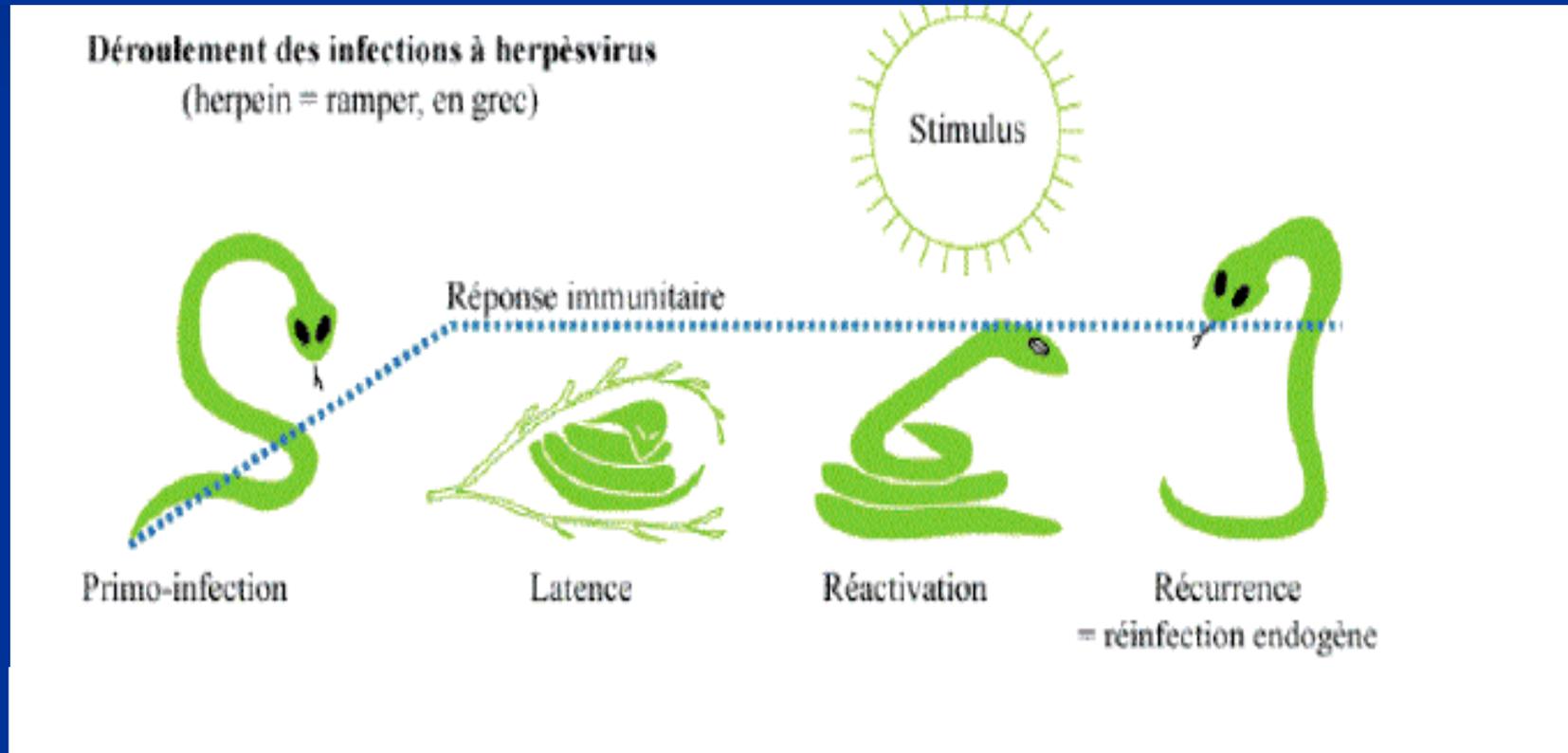
- CMV
- HHV6
- HHV7

- EBV
- HHV8

# HERPETOVIRIDAE

## Physiopathologie:

- 1- Primo-infection
- 2- Latence
- 3- Réactivations ou Ré-infections



**Immunodépression cellulaire ⇒ Réactivations fréquentes**

# CYTOMEGALOVIRUS

- **Agent infectieux majeur**
- **Trois modes d'infection**
  - Primo-infection
  - **Réactivation<sup>+++</sup>** de virus latent
  - Ré-infection par une nouvelle souche
- **Stade avancé d'immunodépression**
  - ✎ **<50-100 L CD4+/mm<sup>3</sup>**

# CYTOMEGALOVIRUS

## ■ Types d'atteintes

- ☛ Manifestations cliniques liées à la réplication du CMV
- ☛ Sévérité de l'infection variable en fonction du mode d'infection

## ■ Tableaux cliniques divers

- ☛ Atteinte oculaire: rétinite avec risque de cécité
- ☛ Atteinte neurologique: neuropathie périphérique, encéphalite, myélite
- ☛ Atteintes digestives: ulcérations (colon +++, œsophage...)
- ☛ Autres tableaux possibles: syndrome fébrile, pneumonie interstitielle, hépatite

# HERPES SIMPLEX VIRUS

## ■ Réactivation fréquente du HSV

- Risque augmente de façon inversement proportionnelle au taux de CD4 (16% si < 50cel/ml, 5% si > 50cel/ml)

## ■ Sérotype le plus incriminé = HSV1<sup>+++</sup>

## ■ Tableaux cliniques observés:

- Fièvre isolée
- Lésions cutanéomuqueuses extensives et prolongées
- Formes digestives
- Formes disséminées

# VIRUS DE LA VARICELLE-ZONA (VZV)

- **Déficit de l'immunité cellulaire** ⇒ **Formes sévères de l'infection**
- **Sujets à risque**
  - ☛ **Sujets VIH+**
  - ☛ **Hémopathie (Lymphome+++)**
  - ☛ **Greffés d'organe (action des immunosuppresseurs)**
- **Caractéristiques des infections à VZV**
  - ☛ **Aspect atypique**
  - ☛ **Risque de complications viscérales**
  - ☛ **Risque de surinfection**

# EBV

- Fréquence plus élevée des lymphomes B
- Association fréquente à l'EBV (40% des cas)
- Association variable selon le type histologique
- Risque de développer un LNH = 60 à 100 fois plus élevé en cas de VIH+

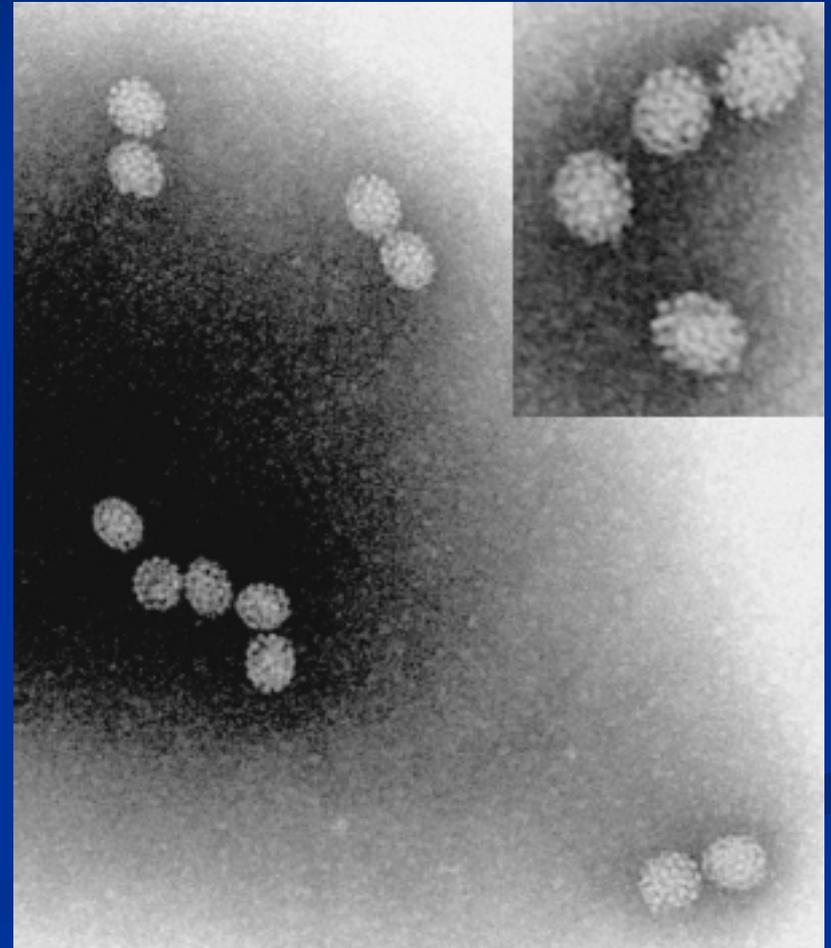
# HHV8

- Association à la forme multicentrique de la maladie de Castleman

# POLYOMAVIRUS

## ■ Classification

- Famille =  
*Polyomaviridae*
- Genre = Polyomavirus
- Types viraux =  
**Virus JC**  
**Virus BK**



# POLYOMAVIRUS

## ■ Physiopathologie

- Primo-infection dans l'enfance
- Latence virale

(Rein et lymphocyte B)

- Réactivations possibles

■ **Clinique:** - **Atteintes neurologiques** (JC virus): LEMP

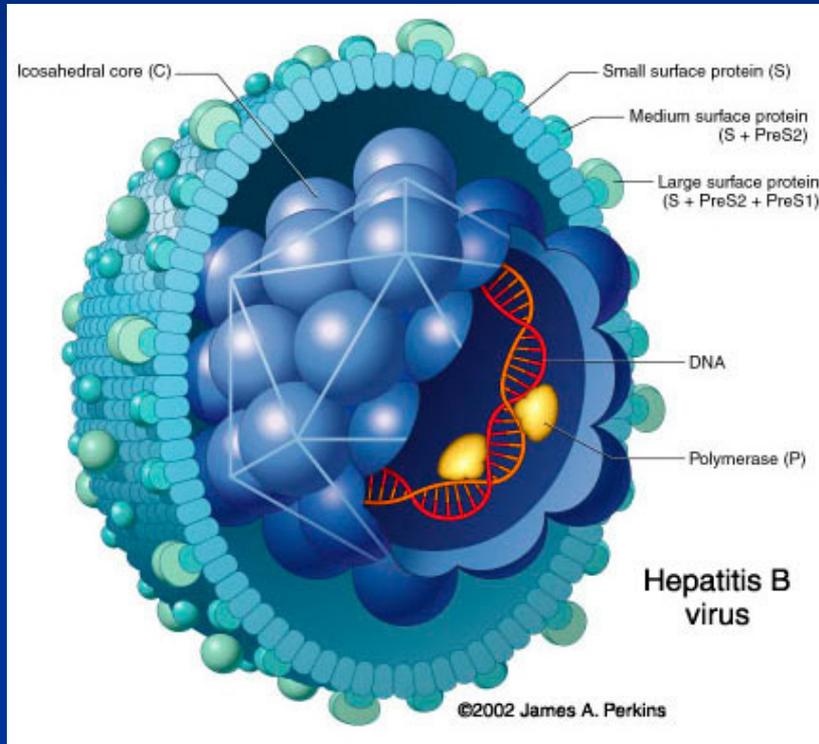
- **Atteintes rénales** (BK virus):

Cystites hémorragiques

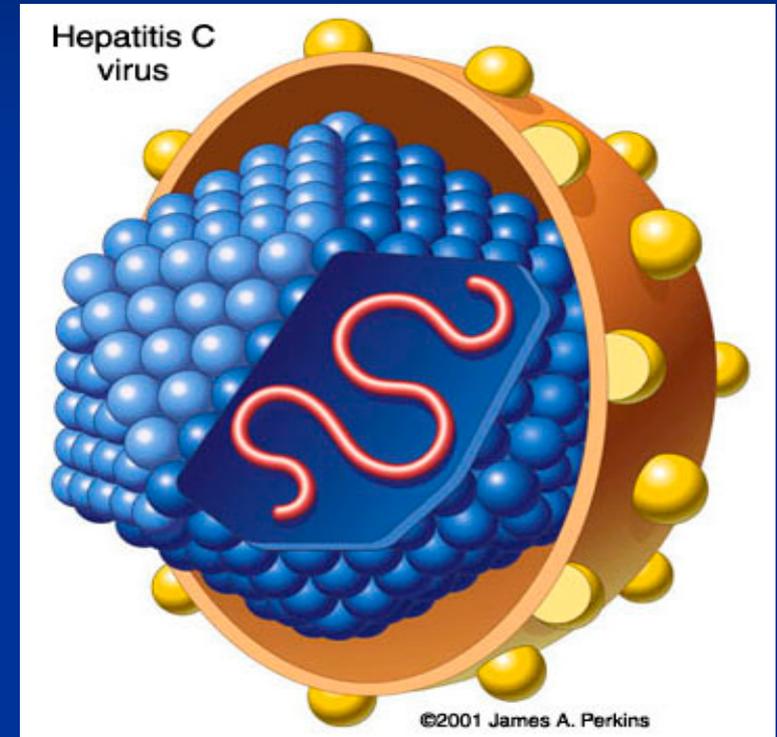
Sténoses urétérales

Néphropathies tubulo-interstitielle

# VIRUS DES HEPATITES B ET C



**VHB**



**VHC**

# VIRUS DES HEPATITES B ET C

- **Risque élevé chez les patients HIV+:**
  - Réactivation du VHB (10 – 60% des cas)
  - Reprise de la réplication du VHC chez des sujets présentant une hépatite chronique
- **Tableaux cliniques observés (réactivation du VHB)**
  - Forme cliniquement asymptomatique (ALAT élevées)
  - Forme ictérique
  - Hépatite fulminante dans 25% des cas
    - ⇒ Mortalité dans 40% des cas
- **Risque de réactivation chez des sujets:**
  - Sujets AgHBs+
  - Profil anti-HBc isolés
  - Profil hépatite B guérie (réactivation de virus latent?)

# AUTRES VIRUS RESPONSABLES

- **Virus respiratoires**
- **EBV**
- **Adénovirus**
- **Papillomavirus**
  - Particularités des infections:
    - ☛ Lésions profuses
    - ☛ Résistance aux antiviraux
    - ☛ Association de formes cliniques

# DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE

# DIAGNOSTIC

## ■ Diagnostic DIRECT+++

- ☛ Détection du génome viral par PCR
- ☛ Détection des antigènes viraux par IF ou ELISA
- ☛ Isolement viral sur cellules

## ■ Prélèvements réalisés et techniques utilisées en fonction:

- ☛ Des signes cliniques observés
- ☛ Virus suspecté

# DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION A CMV

## ■ Dans quels prélèvements ?

- Sang +++
- LBA, LCR, biopsies, humeur vitrée
- Urine sans intérêt

## ■ Par quelles méthodes ?

- Isolement en culture cellulaire
  - Culture longue
  - Culture rapide
- Recherche directe : antigénémie pp65
- Diagnostic moléculaire+++ : PCR en temps réel quantitative

# Isolement viral sur cellules

- Sur cellules embryonnaires humaines MRC5
- Sang total hépariné, LBA, biopsies
- Délai court avant mise en culture : décroissance rapide de la sensibilité avec le temps.
- Milieu de transport obligatoire sauf pour le sang
- Délai parfois très long avant le premier ECP
- Culture longue, récupération des souches
- Culture rapide centrifugée,
- Utilisation d'anticorps monoclonaux anti-protéines précoces (anti-E13) à 48-72 h de culture

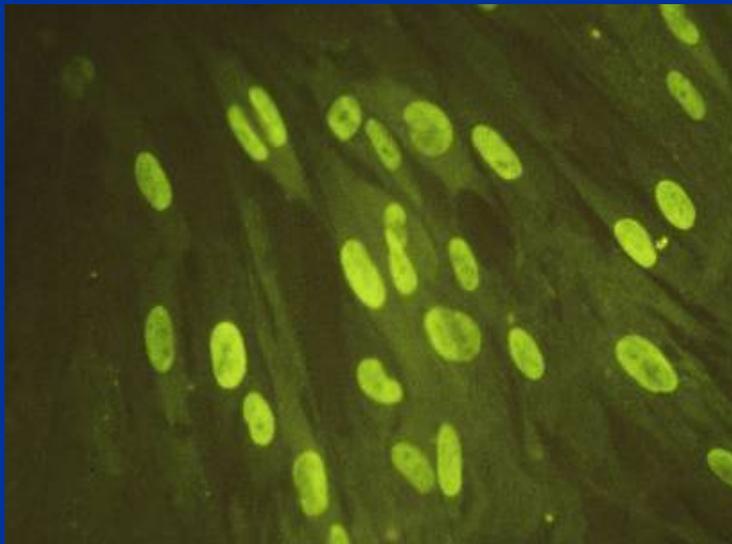


**Isolement du virus  
effet cytopathique  
sur cellules MRC-5  
(état frais)**



**Coloration au  
Giemsa  
Inclusions  
cytoplasmiques et  
nucléaires**

# Culture rapide

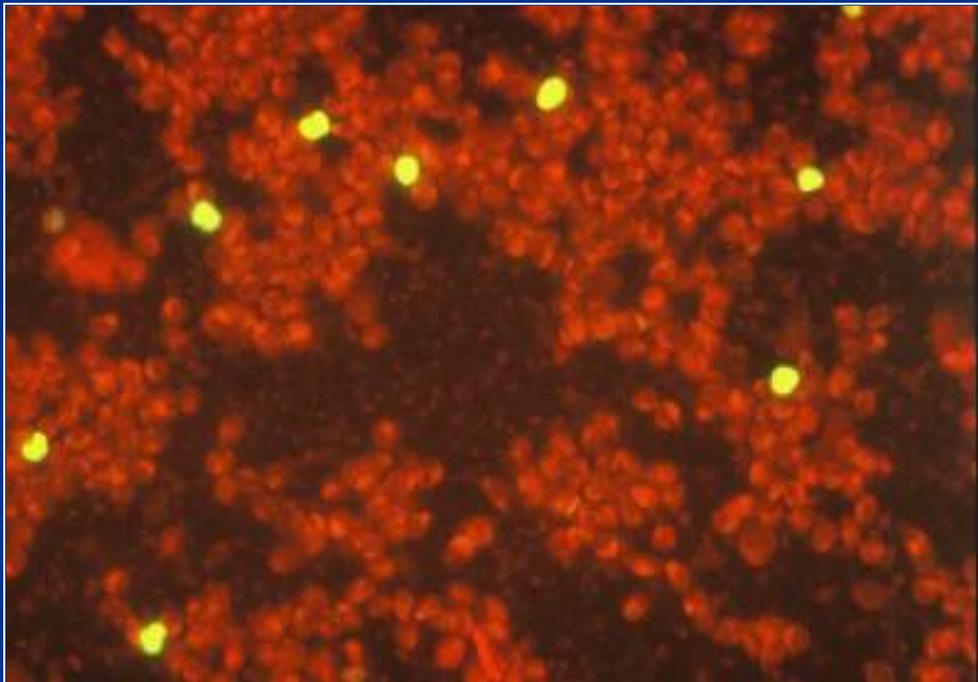


- Inoculation à des FEH
- Centrifugation de l'inoculum sur les cellules => adsorption
- Incubation 24 à 48 h
- Révélation par IP ou IF des EIA
- Avantages
  - Rapidité
  - Quantification relative,
  - sensibilité
- Inconvénient
  - pas de souche isolée

# Détection d'antigène

## Antigénémie pp65

- $2 \times 10^5$  leucocytes en spot (cytocentrifugation)
- IF révélant ag nucléaire pp65



### Avantages :

- Rapidité, Simplicité
- Sensibilité, Quantification

### • Inconvénient :

- Manipulation longue
- Lecture, délai entre prélèvement et manipulation < 3 h
- Risque de faux négatifs en cas de neutropénie

# Détection d'antigène

## Antigènes de cellules diverses

- LBA, apposition sur lame de tissus...
- IF révélant IEA ou LA



- Avantages : rapidité, simplicité
- Inconvénient : sensibilité faible

# Diagnostic moléculaire

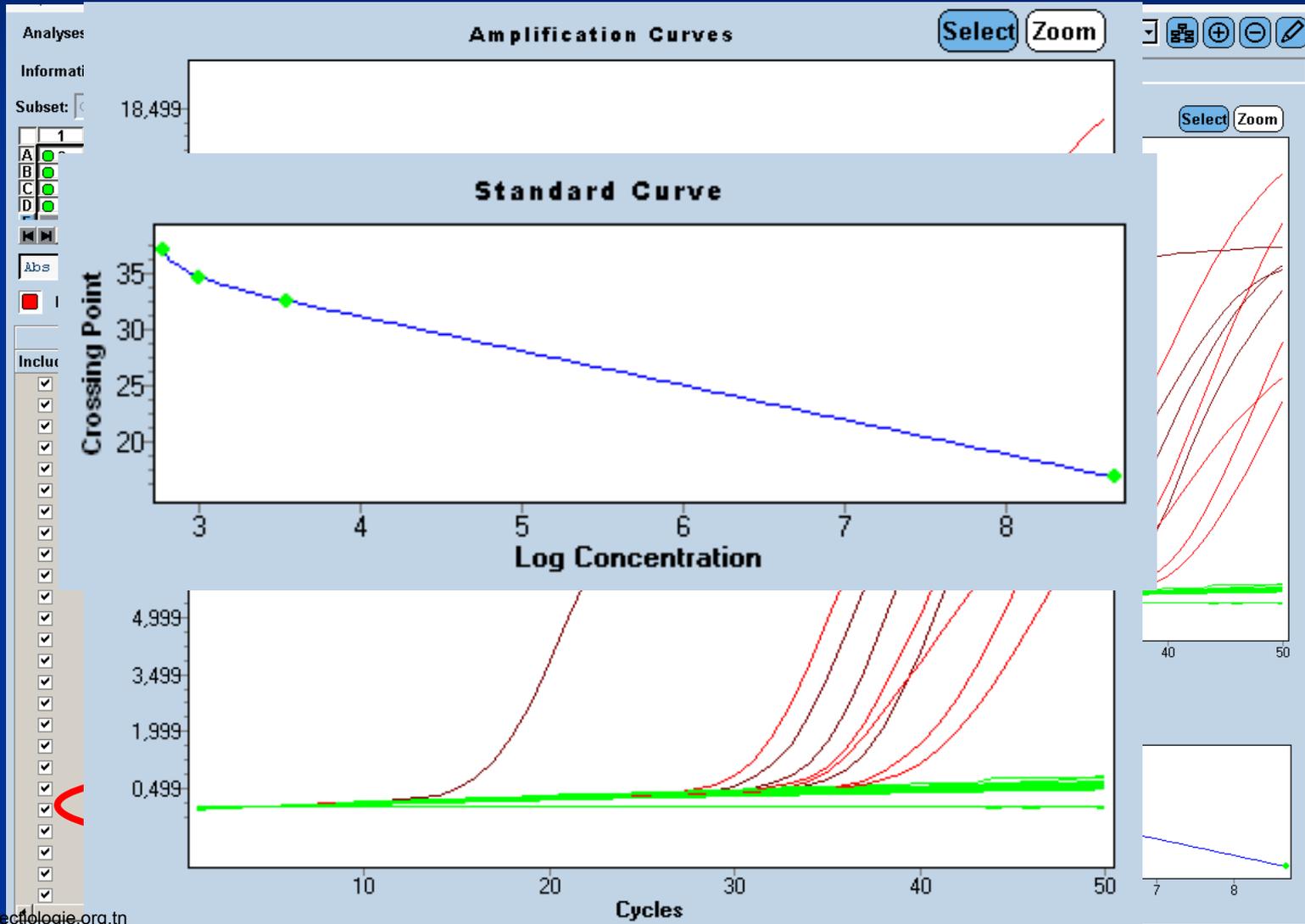
## ■ PCR temps réel

- Amorces spécifiques
- Gamme de standards externes
- Quantification avec large domaine de mesure
- Sensibilité : quelques copies d'ADN viral
- Reproductibilité

## ■ Tout type de prélèvements

- Sang total EDTA
- LBA, LCR, biopsies
- Moins de contraintes pré-analytiques

# Diagnostic moléculaire



# Diagnostic moléculaire

## ■ Modalités d'utilisation

- PCR temps réel quantitative sur sang total EDTA +++
- Bilan de surveillance systématique
- Diagnostic d'épisode infectieux selon la présentation clinique : sur biopsie, sur LCR, sur LBA
- Suivi cinétique sous traitement
  - Efficacité thérapeutique
  - Echappement

# **Diagnostic de l'infection à CMV au cours du sida**

**Chercher une dissémination sanguine**

## **Rétinite**

**diagnostic clinique + viro**

## **Tube digestif**

**clinique et aspect endoscopique**

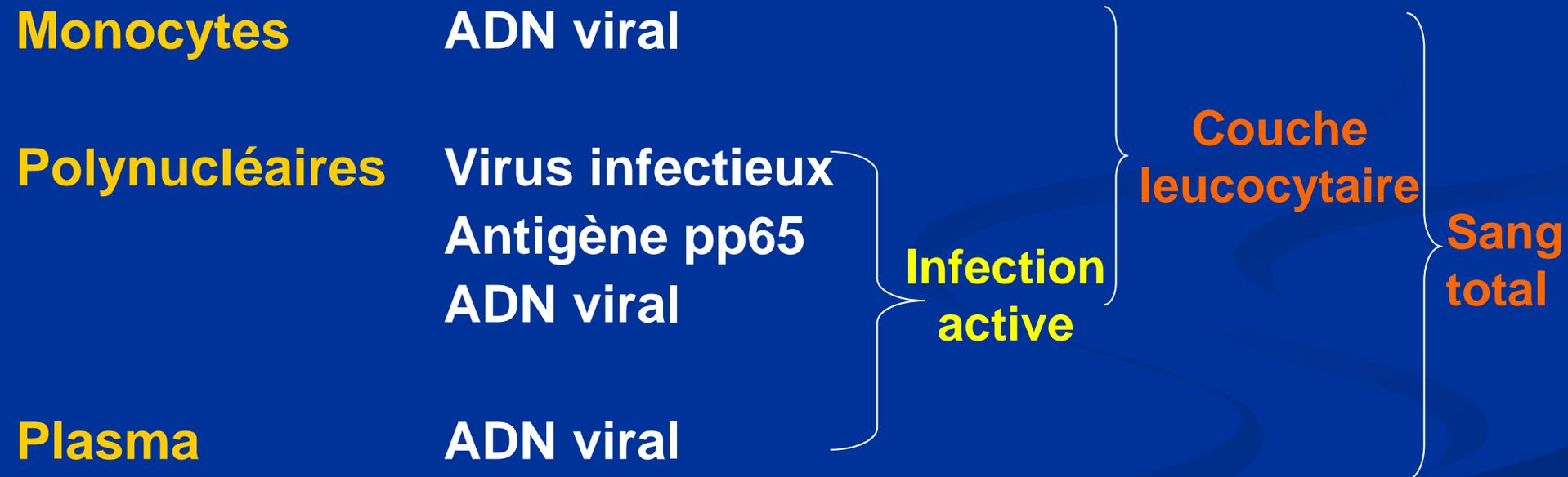
**biopsies digestives étagées : anapath et viro**

## **SNC**

**diagnostic virologique**

# Diagnostic d'une infection à CMV

## Mise en évidence d'une dissémination sanguine



# Diagnostic d'une infection à CMV

## Localisations de la maladie à CMV

Organe	Prélèvement	Technique	Clinique	Anapath
Colon	Biopsies	Cult/PCR	++	+++
Foie	Biopsie*	Cult/PCR	+++	
Œil	HA et/ou vitré *	PCR	++++	-
Poumon	Biopsie *	Cult/PCR	++	+++
	LBA	Cult/PCR		-
SNC	Biopsie cérébrale*	Cult/PCR	++	+++
	LCR	PCR		-

\* exceptionnellement pratiqué

# Surveillance virologique de l'infection à CMV

- ☞ Facteurs virologiques de risque de maladie à CMV
  - ☞ ADNmie plasmatique
  - ☞ Agmie pp65 > 10cellules+/2.10<sup>5</sup> cellules
  - ☞ Augmentation de la charge leucocytaire de 0.5log

## Evaluation du pronostic

- Si ADN > 10<sup>3</sup> copies dans LCR
  - ☞ Association à des formes sévères d'atteinte du

# DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION A HSV

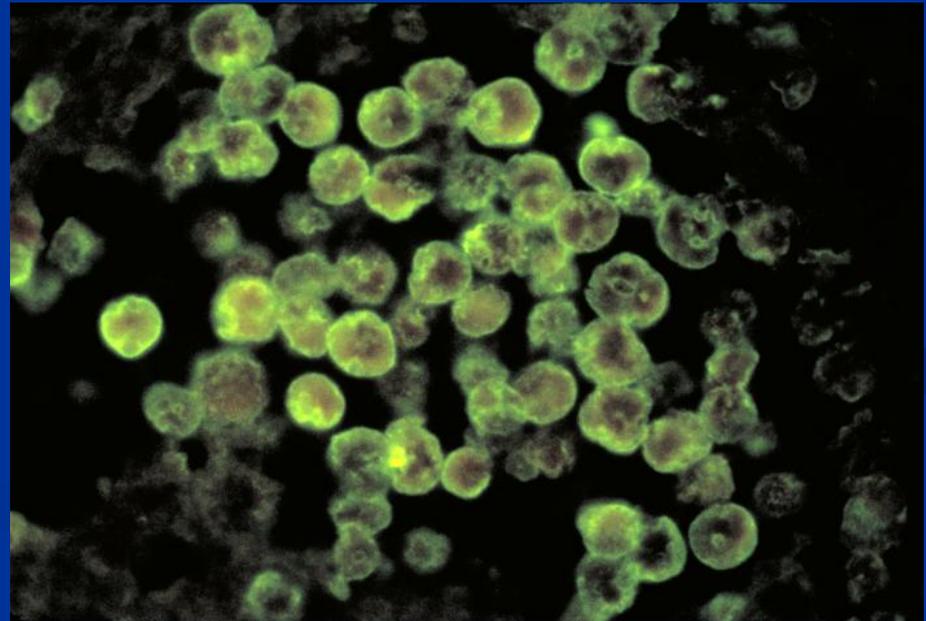
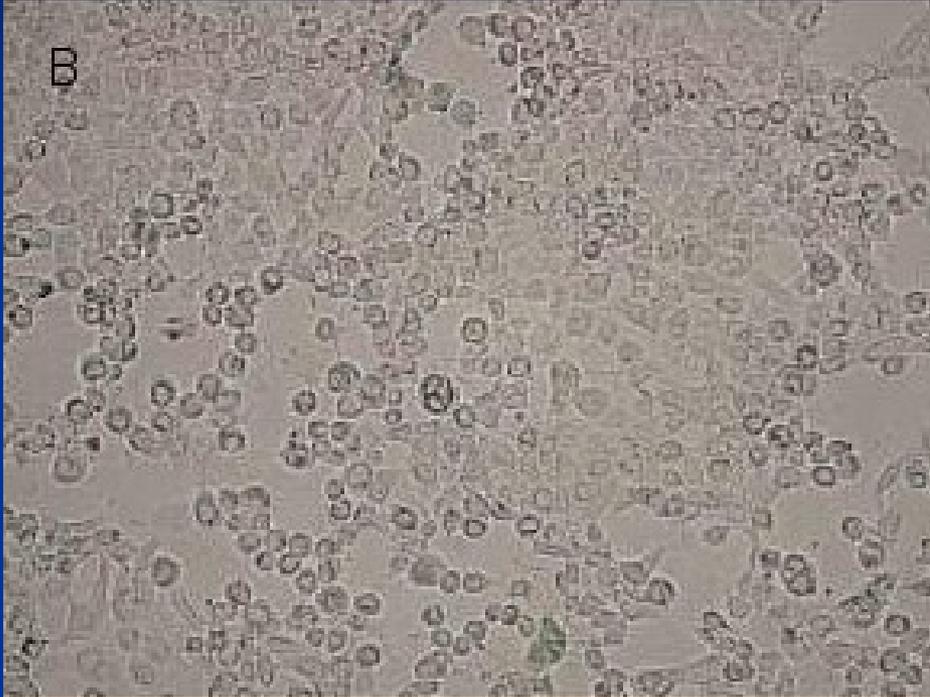
## ■ Dans quels prélèvements ?

- Ecouvillonnages de lésions, LCR, biopsies
- LBA
- Sang
- Milieu de transport obligatoire

## ■ Par quelles méthodes ?

- Recherche directe sur frottis : rapide et sensible sur lésions cutanées ou muqueuses
- Isolement en culture cellulaire
  - Culture longue : < 1 semaine :
    - Permet l'étude des résistances aux antiviraux
  - Culture rapide avec monoclonaux : 1-2 jours
- Diagnostic moléculaire : PCR en temps réel +++
  - **Obligatoire sur LCR**

# Isolement du HSV sur cellules et détection de l'antigène



# DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION A VZV, EBV, HHV8

# Virus Varicelle Zona (VZV)

## ■ Dans quels prélèvements ?

- Ecouvillonnages de lésions, LCR, biopsies
- LBA
- Sang
- Milieu de transport obligatoire

# Virus Varicelle Zona (VZV)

## ■ Par quelles méthodes ?

- Recherche directe sur frottis : rapide et sensible sur lésions cutanées ou muqueuses
- Isolement en culture cellulaire
  - Culture longue : < 4 semaines
  - Culture rapide avec monoclonaux : 2-7 jours
- Diagnostic moléculaire : PCR en temps réel +++
  - Obligatoire sur LCR

# Virus Epstein Barr (EBV)

## ■ Dans quels prélèvements ?

- Sang +++, biopsies
- LCR

## ■ Par quelles méthodes ?

- Pas de culture possible
- Diagnostic moléculaire : PCR en temps réel+++
  - Quantification obligatoire
  - Cinétique +++ ( $CV > 10^3$  copies/ml → prédictive d'une réactivation ou d'une lymphoprolifération)

# Herpes Virus Humain 8 (HHV8)

## ■ Dans quels prélèvements ?

- Sang +++
- Biopsies (ganglions pathologiques)

## ■ Par quelles méthodes ?

- Sang ➔ Diagnostic moléculaire: PCR+++
  - Intérêt du dosage de la virémie
- Biopsies ➔ Détection protéines de latence dans les immunoblastes des centres germinatifs

# DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION A POLYOMAVIRUS

# Polyomavirus JCV

## ■ Quels prélèvements ?

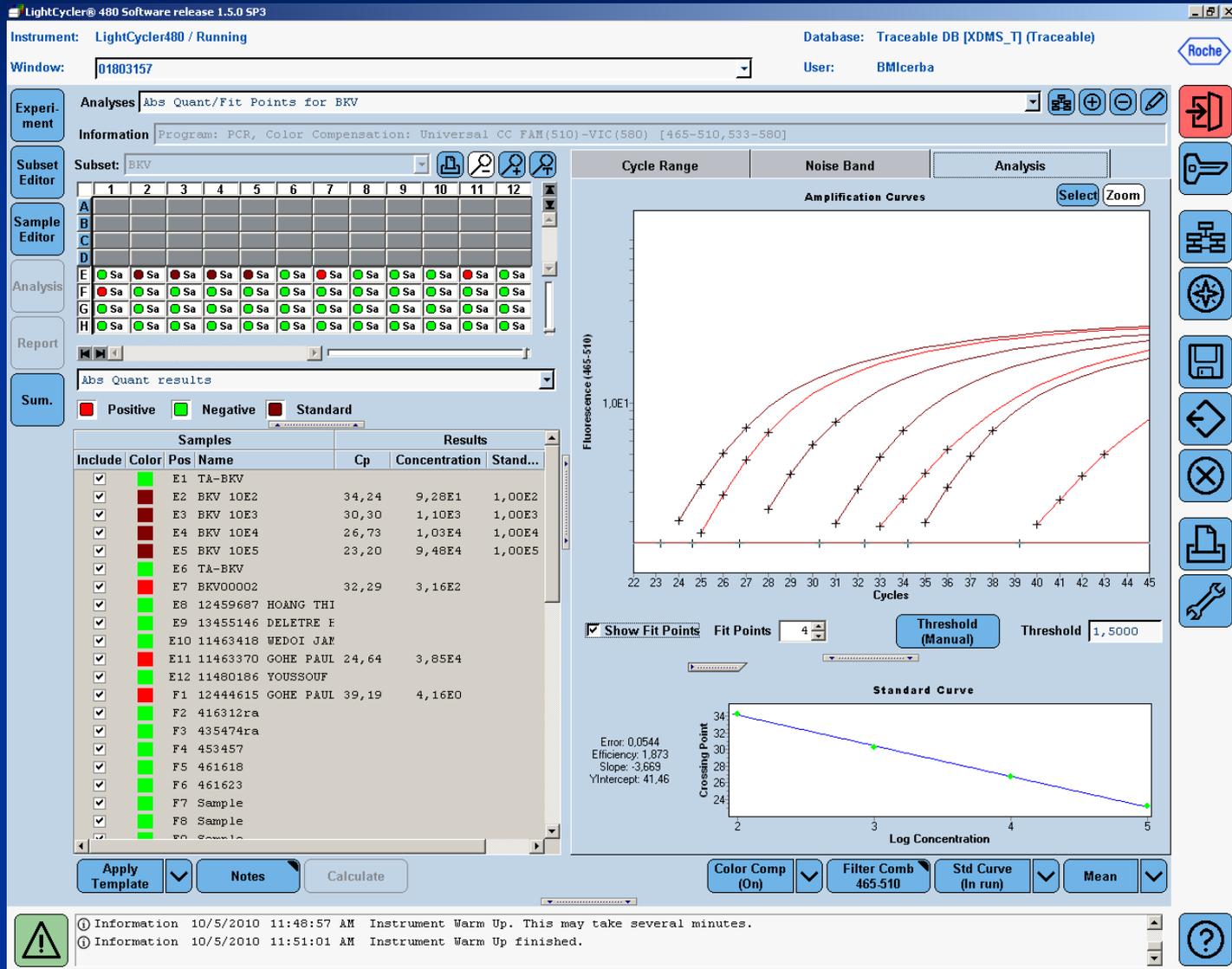
- Leuco-encéphalite multifocale progressive (LEMP) ☞ LCR +++
- Excrétion urinaire fréquente chez l'immunocompétent ☞ Urine seule peu contributive
- Prédicativité de la positivité sanguine ?

# Polyomavirus JCV

## ■ Par quelles méthodes ?

- Diagnostic moléculaire : **PCR en temps réel+++**
  - LCR, Sang EDTA, plasma,
  - Quantification +++

# Polyomavirus JCV : quantification de l'ADN



# DIAGNOSTIC DES AUTRES INFECTIONS VIRALES

- Prélèvement orienté par la symptomatologie
- Importance d'un prélèvement rapide et bien conservé
- Diagnostic direct<sup>+++</sup>
  - Culture orientée
  - Détection des antigènes viraux
- **Intérêt du diagnostic moléculaire dans tous les cas**
  - Apport de la PCR multiplex en cas de plusieurs étiologies virales pour un même tableau clinique

# CAS PARTICULIER DES HEPATITES VIRALES B ET C

## ■ Hépatite Virale B

- Réactivation d'infections chroniques connues
- Réactivation d'infection ancienne considérée comme guérie
  - Avant état d'immunodépression
    - Ac anti-HBc présents , éventuels anti-HBs
    - Ag HBs négatif
- Surveillance +++
  - Positivation de l'ADN VHB et de l'AgHBs

## ■ Hépatite Virale C

- Risque d'hépatite séronégative
- Surveillance +++
  - Suivi par PCR spécifique

# CONCLUSION

- Infections virales = risque réel chez les patients VIH+
- Variabilité des formes cliniques
- ☛ **Gravité+++ des infections dans la majorité des cas**
  - ⇒ Importance du diagnostic précoce (DIRECT)
  - ⇒ Apport de la BIOLOGIE MOLECULAIRE