

CAS CLINIQUE N° 2
HOPITAL D'ENFANTS BECHIR HAMZA DE TUNIS
LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE
SERVICE DE MÉDECINE INFANTILE A

Observation

- ▶ Fille âgée de 12 ans
- ▶ Motif : fièvre aiguë + céphalées + altération de l'état de conscience
- ▶ Examen :
 - Fièvre à 39°C
 - Obnubilée : GCS = 12/15
 - Syndrome méningé
 - Absence de signes de focalisation

Observation

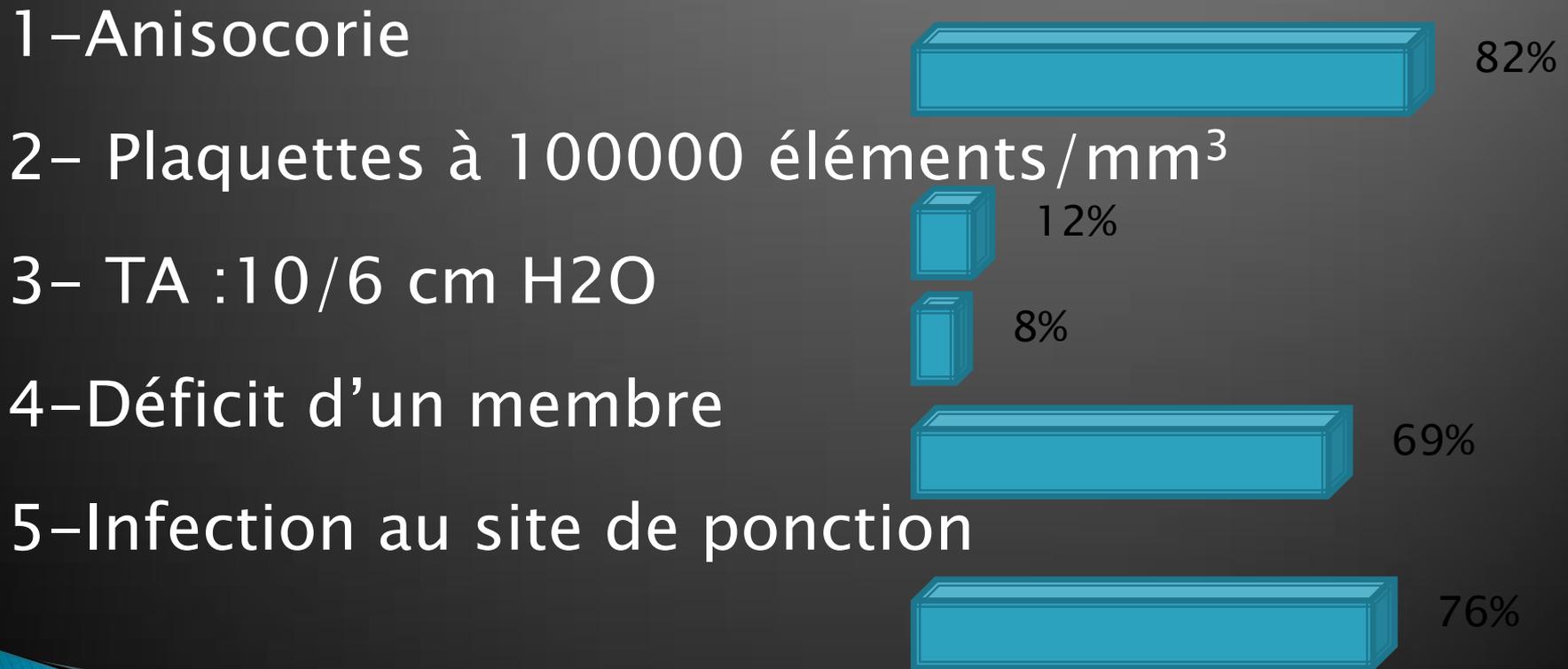
- ▶ Devant un trouble de la conscience avec fièvre → infection du SNC ??
- ▶ → Ponction lombaire



Quelles sont parmi les propositions suivantes, les contre indications à la PL :

- 1- Anisocorie
- 2- Plaquettes à 100000 éléments/mm³
- 3- TA : 10/6 cm H₂O
- 4- Déficit d'un membre
- 5- Infection au site de ponction

Quelles sont parmi les propositions suivantes, les contre-indications à la PL :



Quelles sont parmi les propositions suivantes, les contre-indications à la PL :

1 – Anisocorie

2 – Plaquettes à 100000 éléments/mm³

3 – TA : 10/6 cm H₂O

4 – Déficit d'un membre

5 – Infection au site de ponction

Les contre-indications de la PL

- ▶ Présence d'une lésion du système nerveux central avec effet de masse significatif ou une hydrocéphalie obstructive
- ▶ Infection cutanée de proximité des points de ponction possibles
- ▶ État hémodynamique instable
- ▶ Troubles majeurs de l'hémostase: insuffisance hépatique, hémopathie, thrombopénie (plaquettes $< 30000 / \text{mm}^3$ ou thrombopénie d'installation rapide), anti coagulation à doses efficaces

Examens complémentaires

▶ ponction lombaire:

- Pléiocytose à 180/mm³ (95% lymphocytaire)
- Glycorrhachie 3,5 mmol/L → qu'en dites vous?
- Protéinorachie 0,8g/L

▶ NFS :

- Hb = 13,5g/dl
- GB= 25000 éléments/mm³; Lymphocytes: 18000 éléments/mm³
- Plaquettes: 300000 éléments/mm³

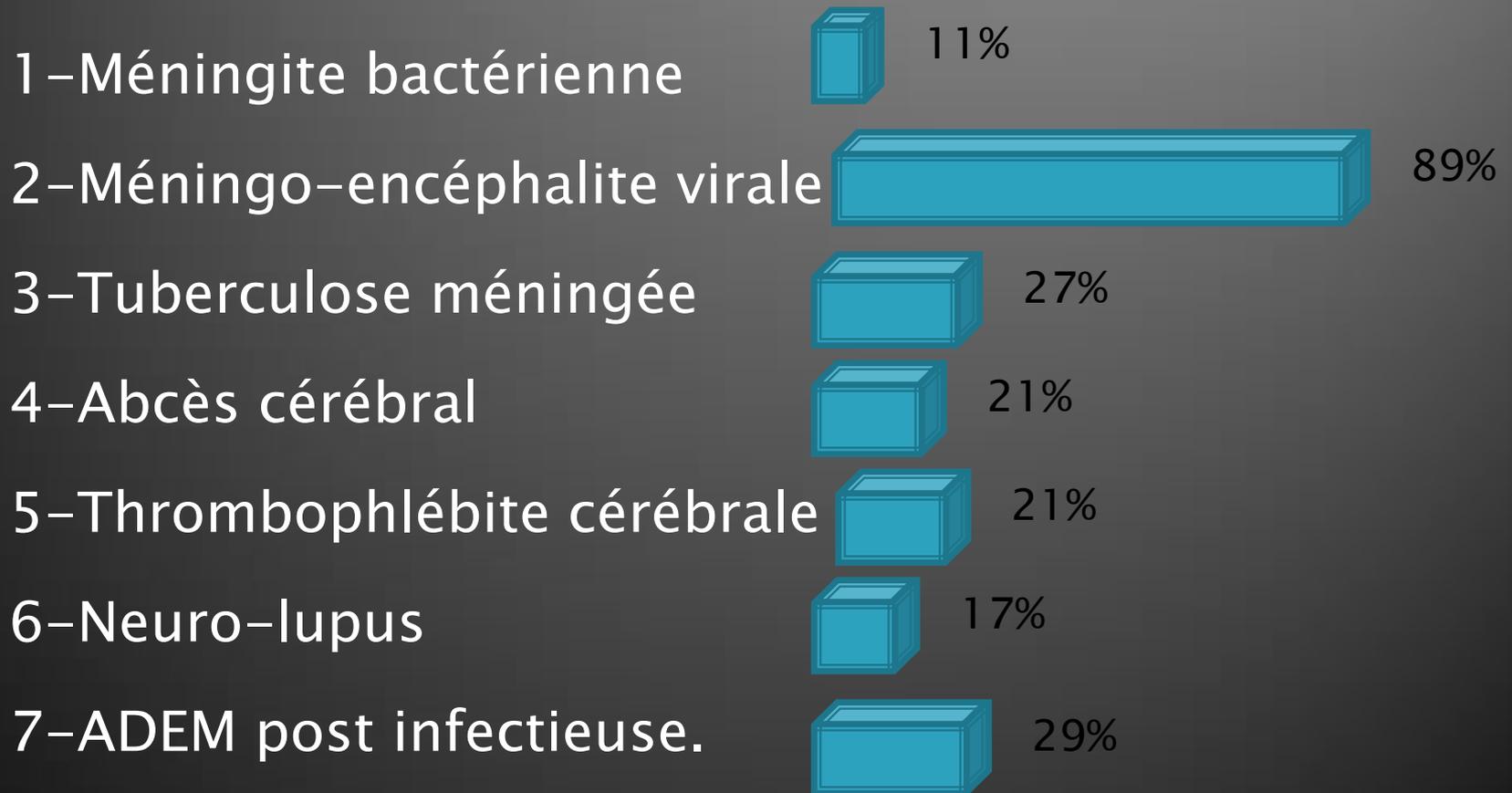
Quelles sont vos hypothèses diagnostiques? Justifiez



66

- 1–Méningite bactérienne
- 2–Méningo–encéphalite virale
- 3–Tuberculose méningée
- 4–Abscess cérébral
- 5–Thrombophlébite cérébrale
- 6–Neuro–lupus
- 7–ADEM post infectieuse.

Quelles sont vos hypothèses diagnostiques? Justifiez



Quelles sont vos hypothèses diagnostiques?

1 – Méningite bactérienne

2 – Méningo-encéphalite virale

3 – Tuberculose méningée

4 – Abscès cérébral

5 – Thrombophlébite cérébrale

6 – Neuro-lupus

7 – ADEM post infectieuse

Etiologie	Aspect du LCS	Cytologie	Protéïnorra- chie	Glycorachie /Glycémie
Bactérienne	trouble	> 5 /mm ³ à PNN	>0,4g/L	<40%
Virale	clair	>5 /mm ³ à lymphocytes	>0,4g/L <1g/L	>60%
Tuberculose	clair	>5 /mm ³ à lymphocytes	>0,4g/L	<40%
Thrombo- phlébite cérébrale	variable	variable	variable	variable
Neuro-lupus	clair	>5 /mm ³ à lymphocytes	>0,4g/L	variable
Encéphalite post infectieuse	clair	>5 /mm ³ à lymphocytes	>0,4g/L	>60%



L'interrogatoire des parents a révélé:

- Pas de vaccination récente
- Une gingivo-stomatite négligée, il y a quelques jours

→ Quel(s) examen(s) complémentaire(s) faut-il demander pour une orientation étiologique?

- A. TDM cérébrale
- B. Angio TDM cérébrale
- C. Angio IRM cérébrale
- D. Sérologie HIV
- E. EEG

L'interrogatoire des parents a révélé:

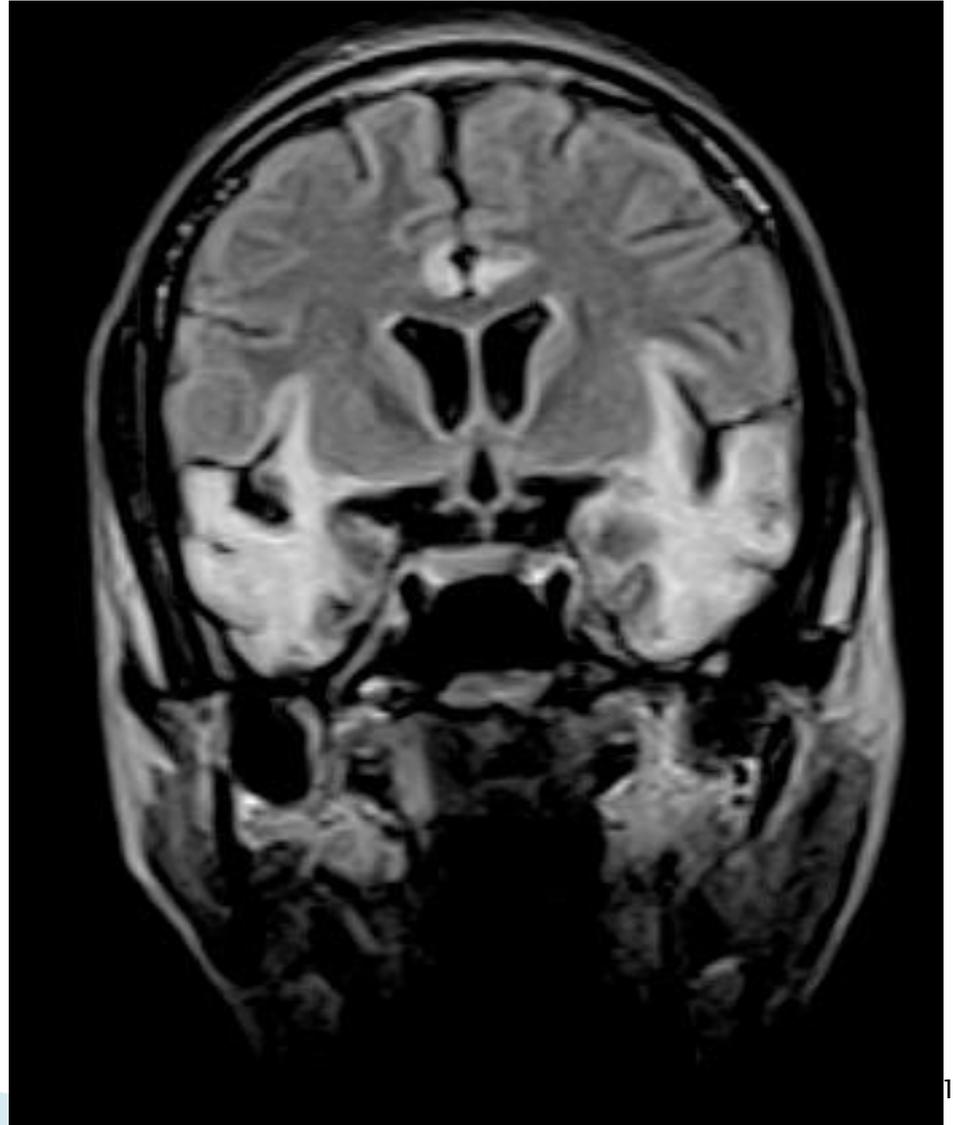
- Pas de vaccination récente
- Une gingivo–stomatite négligée, il y a quelques jours

→ Quel(s) examen(s) complémentaire(s) faut–il demander pour une orientation étiologique?



IRM

- ▶ Des hyper signaux au niveau du cortex des deux lobes temporaux



A la lumière de cette IRM, quelle est votre suspicion diagnostique?



69

1–ADEM

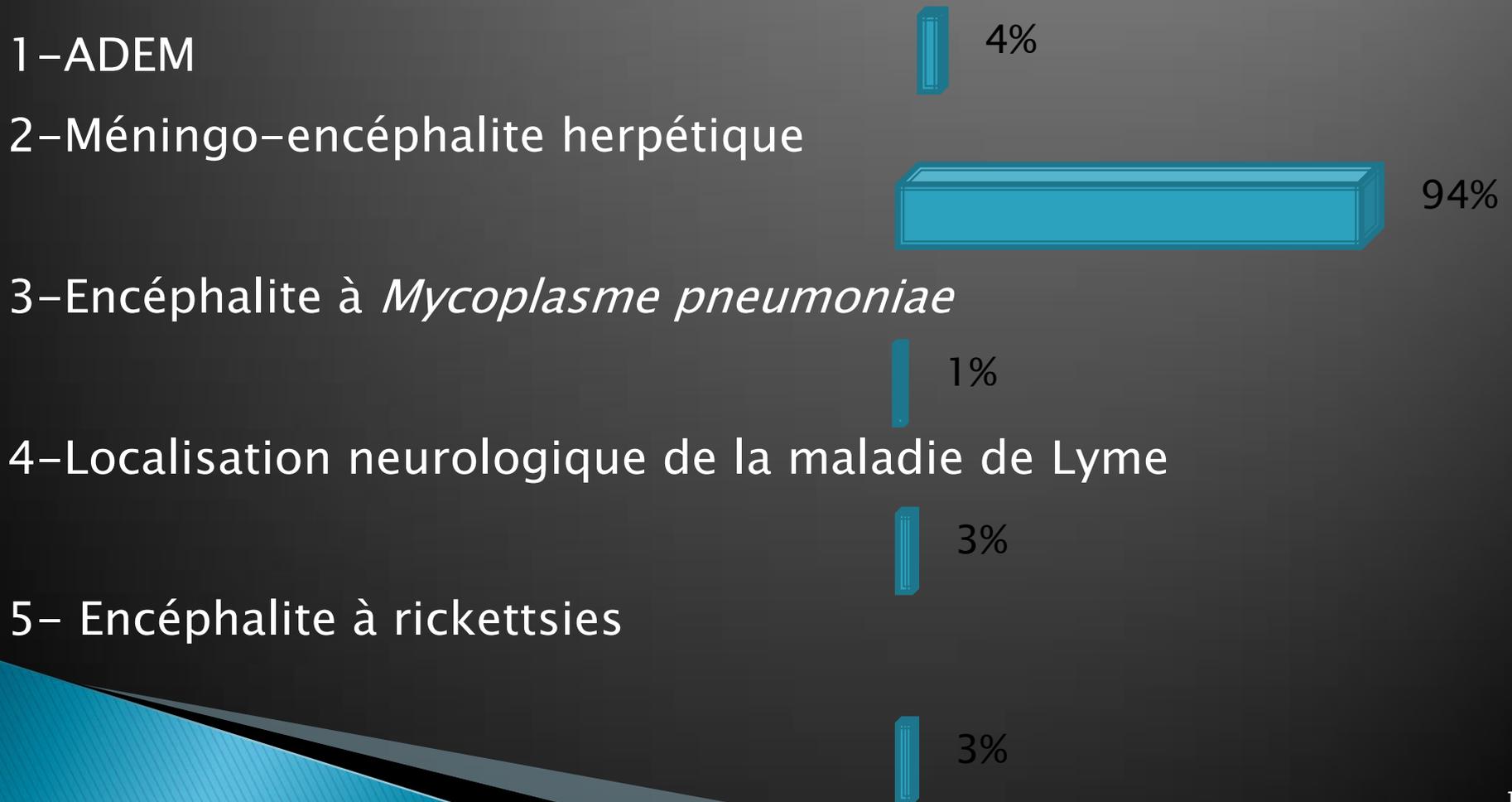
2–Méningo–encéphalite herpétique

3–Encéphalite à *Mycoplasme pneumoniae*

4–Localisation neurologique de la maladie de Lyme

5– Encéphalite à rickettsies

A la lumière de cette IRM, quelle est votre suspicion diagnostique?



Quelle est votre suspicion diagnostique:



1

1–ADEM

2–Méningo–encéphalite herpétique

3–Encéphalite à *mycoplasma pneumoniae*

4–Localisation neurologique de la maladie de lyme

5– Encéphalite à rickettsies

Quelle est votre suspiscion diagnostique:

1-ADEM

0%

2-Méningo-encéphalite herpétique

100%

3-Encéphalite à *mycoplasma pneumoniae*

0%

4-Localisation neurologique de la maladie de lyme

0%

5- Encéphalite à rickettsies

0%

Le diagnostic est suspectée devant l'apparition aiguë ou subaiguë de:

- ▶ Syndrome infectieux
- ▶ Syndrome méningé
- ▶ Syndrome encéphalitiques:
 - Trouble du comportement mnésique ou phasique
 - Convulsions localisées ou généralisées
 - Signes neurologiques focaux
 - Troubles de la vigilance ou de la conscience
 - Histoire de fièvre et de céphalée

Quels outils diagnostic choisissez-vous ?

- ▶ Ponction lombaire: PCR HSV : positivité parfois retardées de 4 jours
- ▶ EEG: J2-J6 activité périodique focale à périodicité courte, temporale et asymétrique
- ▶ IRM Cérébrale: hypersignaux T2 et T2F lobe temporal
- ▶ → chez notre patiente: PCR + à HSV1

Quelle est votre CAT en urgence?



63

- 1–Surveillance avec traitement de la fièvre
- 2–Traitement antibiotique à dose méningée
- 3–Aciclovir en IV d'emblée sur la simple suspicion diagnostique
- 4–Attendre la mise en évidence du virus dans le LCS pour démarrer le traitement
- 5–Isoler le patient

Quelle est votre CAT en urgence?

1–Surveillance avec traitement de la fièvre



2–Traitement antibiotique à dose méningée



3–Aciclovir en IV d'emblée sur la simple suspicion diagnostique



4–Attendre la mise en évidence du virus dans le LCS pour démarrer le traitement



5–Isoler le patient



Quelle est votre CAT en urgence:

- 1-Surveillance avec traitement de la fièvre
- 2-Traitement antibiotique à dose méningée
- 3-Aciclovir en IV d'emblée sur la simple suspicion diagnostique
- 4-Attendre la mise en évidence du virus dans le LCS pour démarrer le traitement
- 5-Isoler le patient

Aciclovir (zovirax)

Quelle dose? Voie? Durée?

- ▶ Voie: intraveineuse lente
- ▶ Dose: $500\text{mg}/\text{m}^2/8\text{h}$; SC= 4P+7/P+90
- ▶ Durée: 21 jours

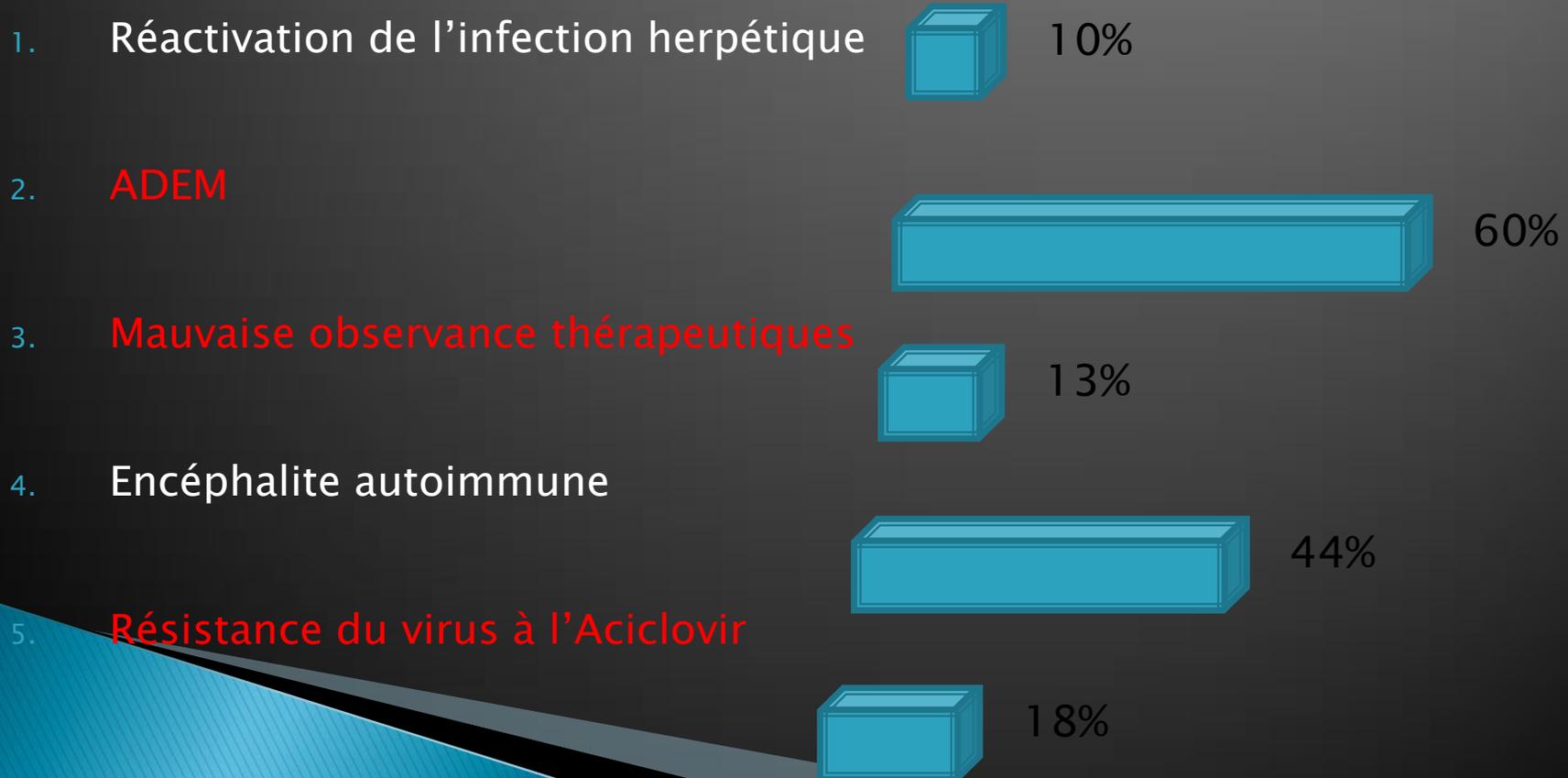


EVOLUTION

- ▶ Evolution initiale: amélioration clinique
 - Baisse de la fièvre au bout de 3 jours
 - Récupération neurologique au bout de 4 jours
- ▶ Au bout de 18 jours de ttt : Aphasie, troubles du comportement
- ▶ Quelles sont vos hypothèses diagnostiques?
 1. Réactivation de l'infection herpétique
 2. ADEM
 3. Mauvaise observance thérapeutiques
 4. Encéphalite autoimmune
 5. Résistance du virus à l'Aciclovir
- ➔ Que faire?

EVOLUTION

- ▶ Evolution initiale: amélioration clinique
 - Baisse de la fièvre au bout de 3 jours
 - Récupération neurologique au bout de 4 jours
- ▶ Au bout de 18 jours de ttt : Aphasie, troubles du comportement
- ▶ Quelles sont vos hypothèses diagnostiques?



- PL de contrôle: L=35 (90% lympho.) ,PCR <0

IRM : pas d'apparition de nouvelles lésions

- ▶ IRM en cas de rechute: nouvelles lésions : 67% des cas
- ▶ Facteur déclenchant: immunodéficience induite?
- ▶ Bilan immunologique en cours
- ▶ Enfant mise sous immunosuppresseurs en neurologie pédiatrique: Encéphalite autoimmune (âge, genre, encéphalite herpétique = élément déclenchant)

Précisez la taxonomie des virus Herpes simplex (sous famille) :



66

1 – *Alphaherpesvirinae*

2 – *Gammaherpesvirinae*

3 – *Betaherpesvirinae*

4 – *Hypoviridae*

5 – *Parvoviridae*

Précisez la taxonomie des virus Herpes simplex (sous famille) :

1 – *Alphaherpesvirinae*



68%

2 – *Gammaherpesvirinae*



6%

3 – *Betaherpesvirinae*



8%

4 – *Hypoviridae*



8%

5 – *Parvoviridae*



12%

Préciser la taxonomie des virus Herpes simplex (sous famille):

1 – *Alphaherpesvirinae*

2 – *Gammaherpesvirinae*

3 – *Betaherpesvirinae*

4 – *Hypoviridae*

5 – *Parvoviridae*

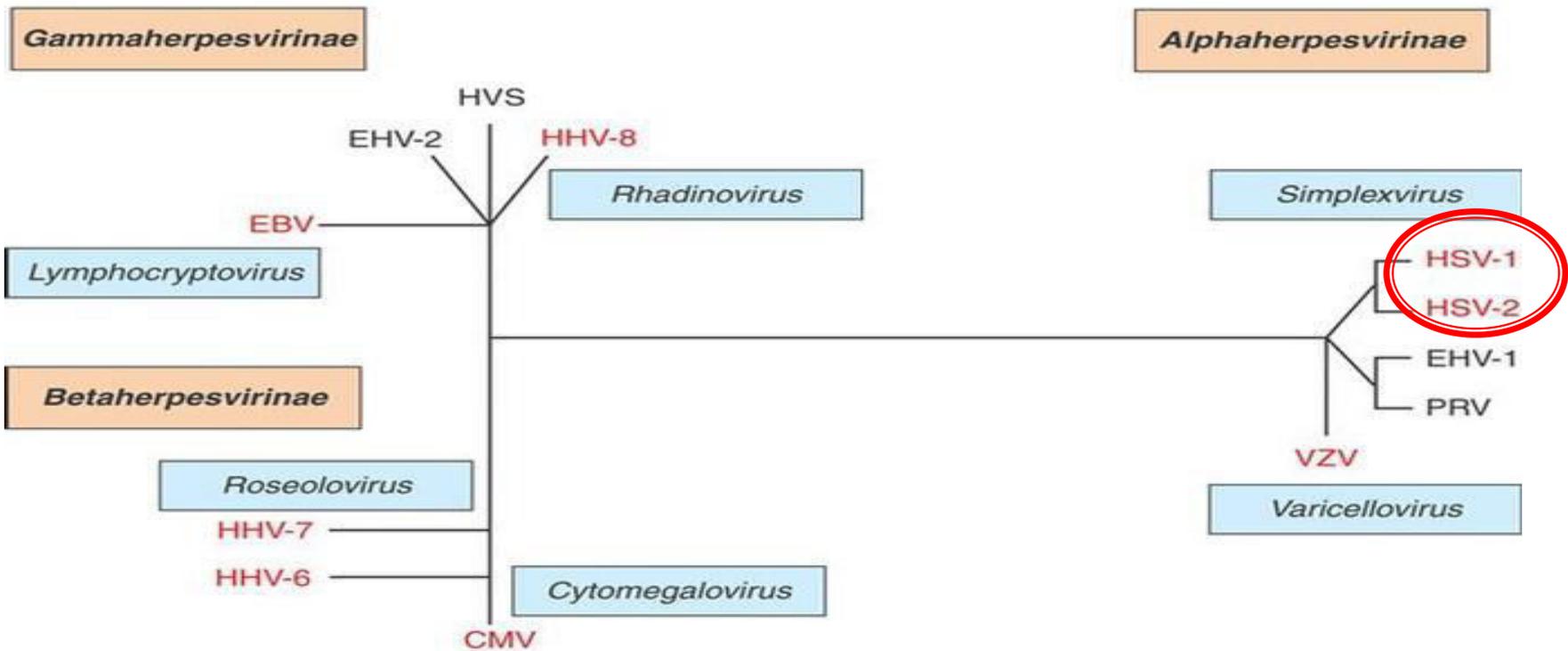
Classification des virus herpes

famille des Herpesviridae

8 virus humains

3 sous-familles

6 genres



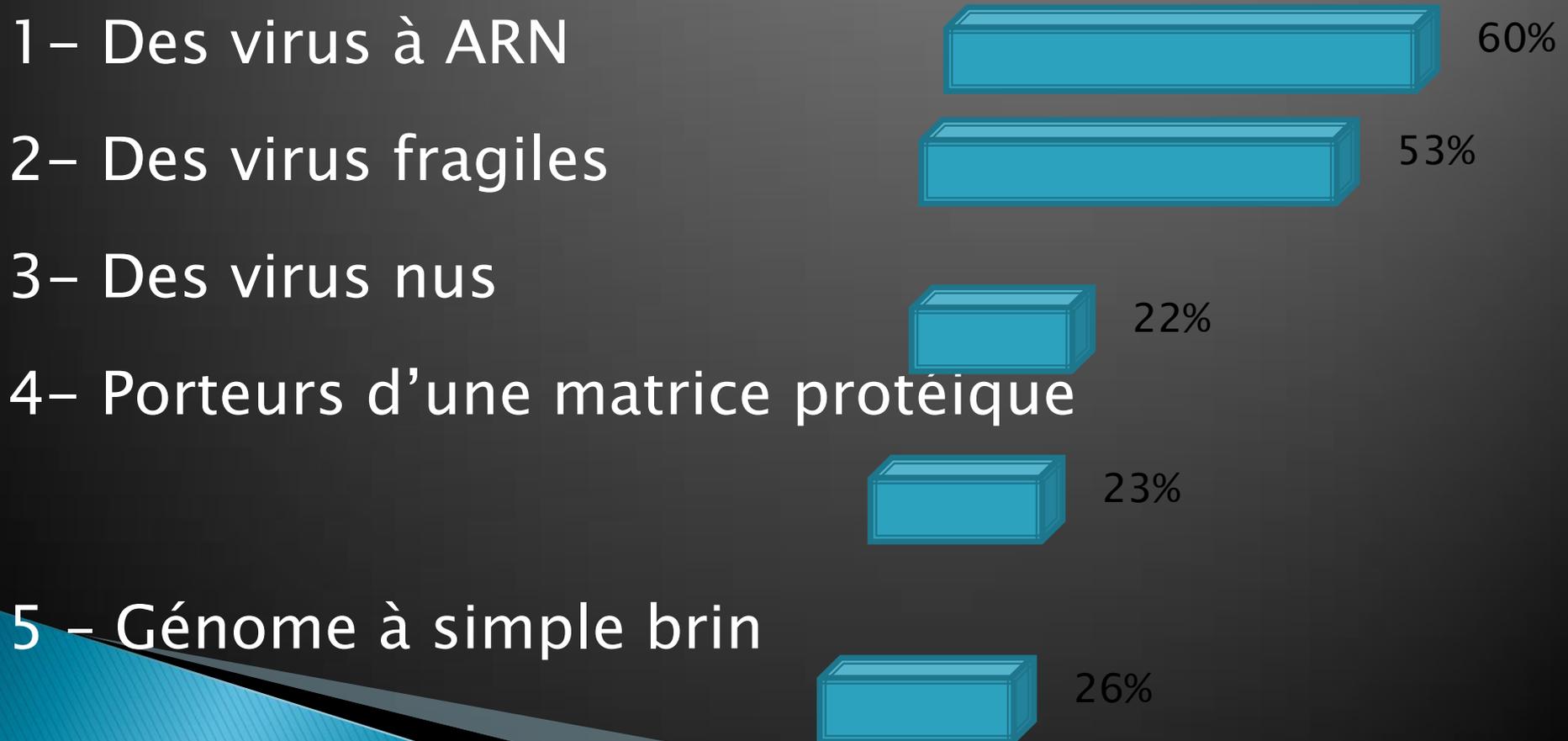
Parmi les propositions suivantes
indiquer celles qui se rapportent
aux virus herpes simplex:



73

- 1– Des virus à ARN
- 2– Des virus fragiles
- 3– Des virus nus
- 4– Porteurs d'une matrice protéique
- 5 – Génome à simple brin

Parmi les propositions suivantes indiquer celles qui se rapportent aux virus herpes simplex:



Les virus herpes simplex sont:

1 – Des virus à ARN

2 – Des virus fragiles

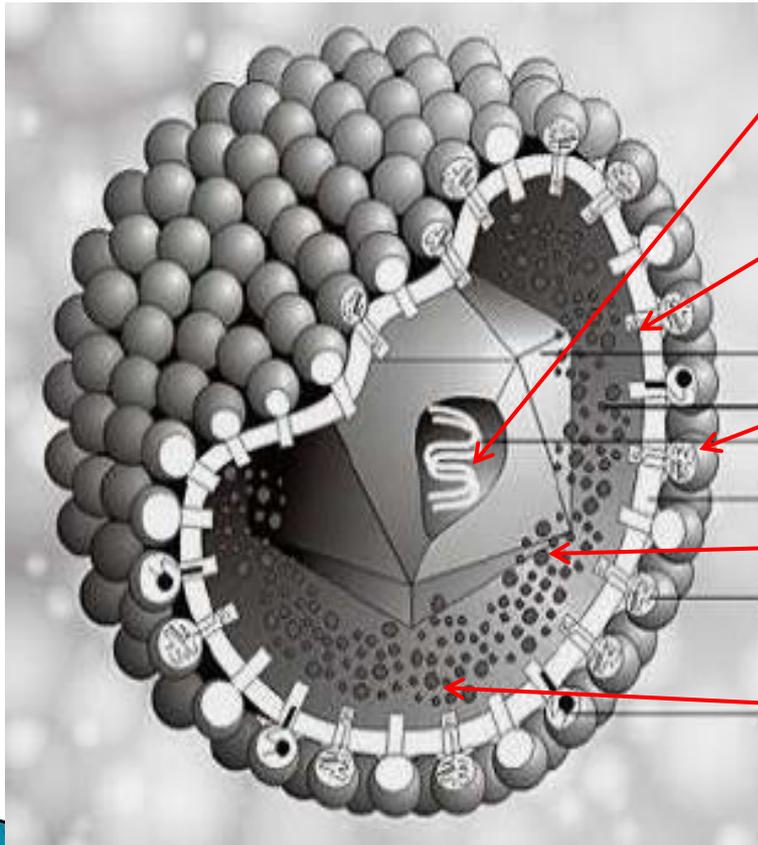
3 – Des virus nus

4 – Porteurs d'une matrice protéique

5 – Génome à simple brin

Rappelons : Structure Virale des *herpetoviridae*

120 et 200 nm



Génome : ADN
bicaténaire linéaire

Enveloppe

Fragilité++
bicouche lipidique dérivée des membranes des cellules infectées
hérissée de spicules glycoprotéiques

Glycoprotéines

au nombre de 11
reconnaissance du virus à ses récepteurs cellulaires, induction de la réponse immunitaire cellulaire et humorale

Capside

icosaédrique,
162 capsomères hexagonales

Tégument

structure protéique amorphe,
rôle important dans le déclenchement du cycle réplcatif

Préciser les trois phases dans la physiopathologie des infections à Herpesviridae:



76

1-Réactivation → latence → primo-infection

2-Récurrence → latence → réactivation

3-Primo-infection → latence → réactivation

4-Primo-infection → infection → latence

5 - Réactivation → Récurrence → latence

Préciser les trois phases dans la physiopathologie des infections à Herpesviridae:

1-Réactivation → latence → primo-infection

0%

2-Récurrence → latence → réactivation

0%

3-Primo-infection → latence → réactivation

93%

4-Primo-infection → infection → latence

8%

5 - Réactivation → Récurrence → latence

3%

Préciser les trois phases dans la physiopathologie des infections à *Herpesviridae*:

1-Réactivation → latence → primo-infection

2-Récurrence → latence → réactivation

3-Primo-infection → latence → réactivation

4-Primo-infection → infection → latence

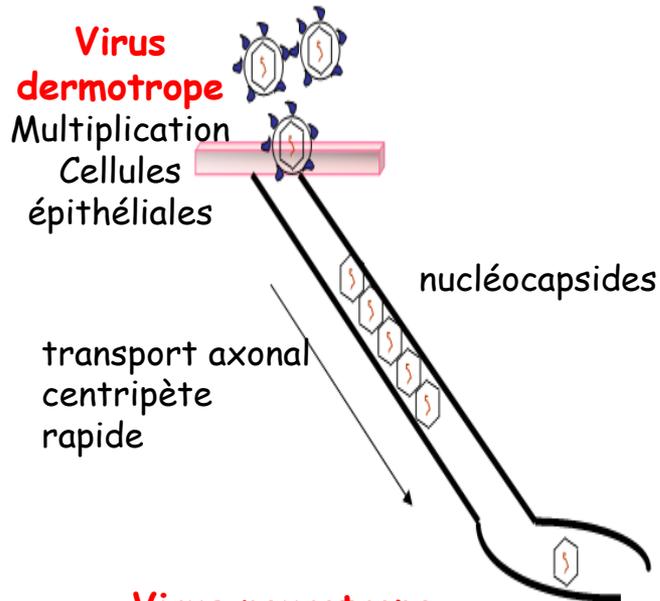
5 - Réactivation → Récurrence → latence

Physiopathologie

Déroulement des infections à herpèsvirus
(herpein = ramper, en grec)



Primo-infection

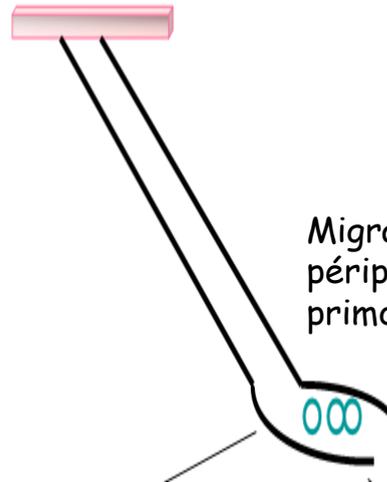


Virus neurotrope
ganglion trigéminal
ganglion sacré



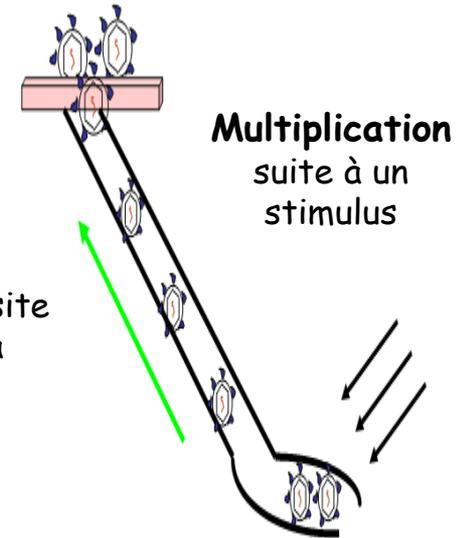
Latence

Phase silencieuse



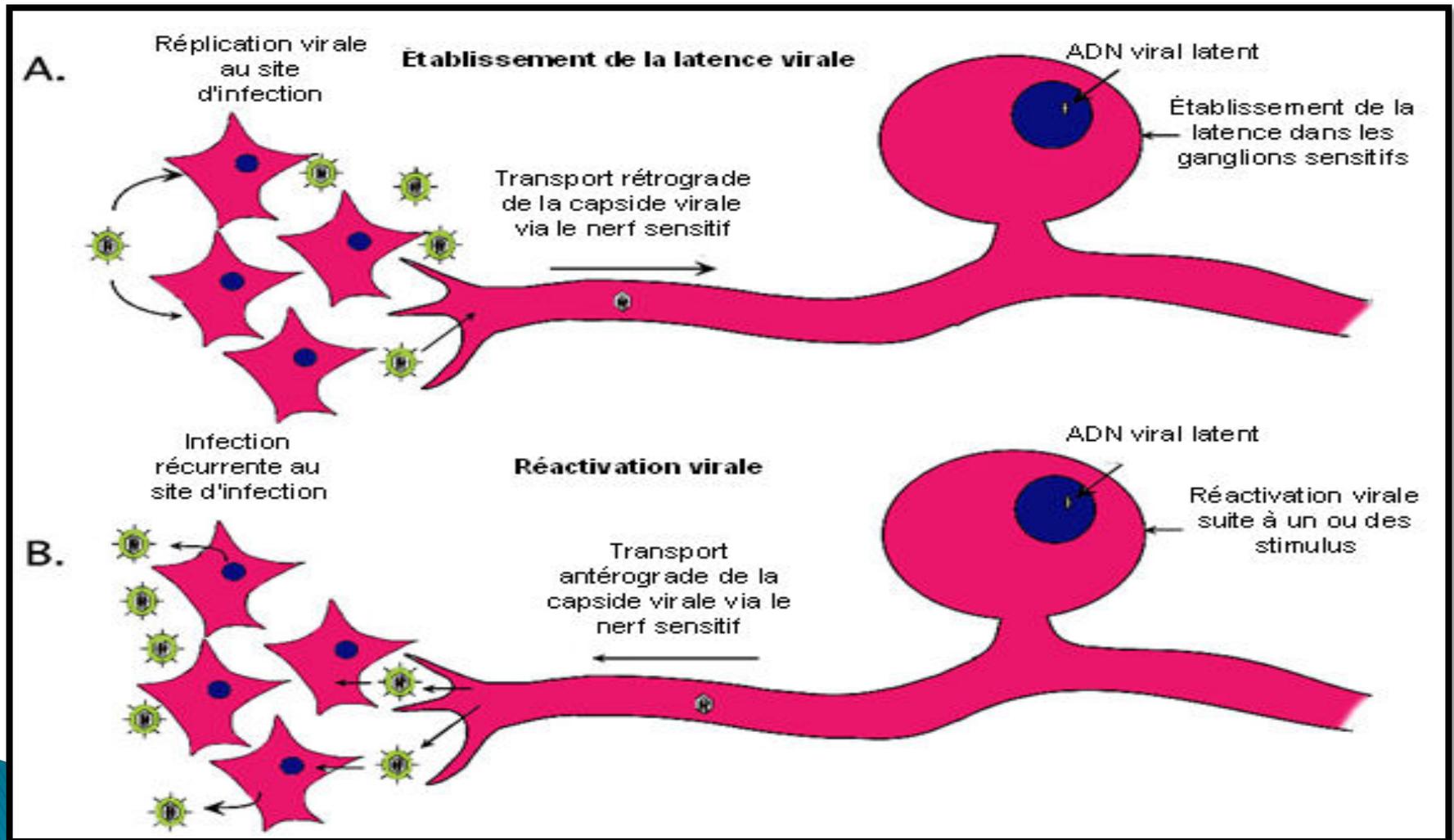
- ADN épisomique non intégrée à l'ADN cellulaire-
- Absence de réplication virale

Réactivation



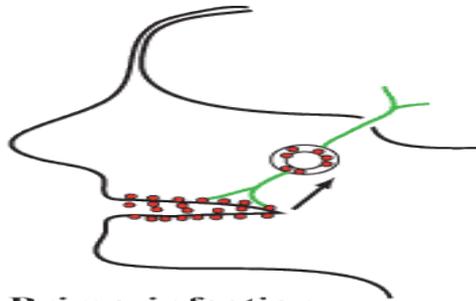
un déblocage de la réplication virale

Latence et réactivation du HSV



La méningoencéphalite herpétique

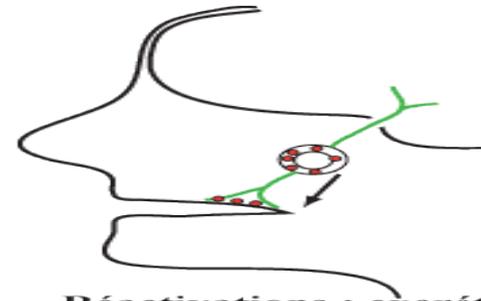
Infection orale par HSV-1



Primo-infection asymptomatique ou gingivostomatite herpétique 1 cas / 10 (lésions endobuccales)



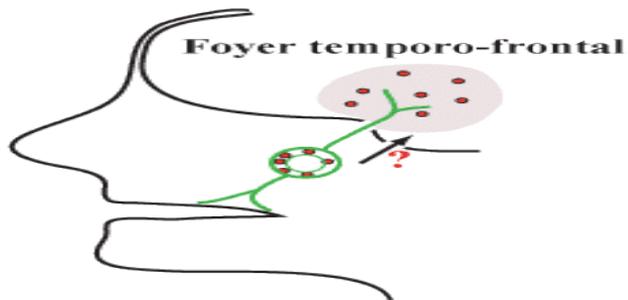
Infection latente du ganglion de Gasser (neurones sensitifs, entre monde extérieur et monde intérieur)



Réactivations : excrétions asymptomatiques et herpès labial récidivant (jonction cutanéomuqueuse)

Mécanisme supposé de l'encéphalite nécrosante herpétique de l'adulte.

Une "réactivation à rebours" ?



Une urgence ! ACV i.v.

à fortes doses : 15 mg/kg/8h voire 20 mg/kg/8h, (sans attendre les résultats de la PCR HSV dans le LCR) durant 21 jours

**à faire suivre d'un traitement oral (ACV ou ValACV) durant 3 à 4 mois
NB : ne fait pas l'objet d'un consensus**

Cours II - illustration 6B/10

Réactivation : voie neuronale ascendante

Sur le plan épidémiologique : choisissez
la (les) bonne(s) réponse(s):



63

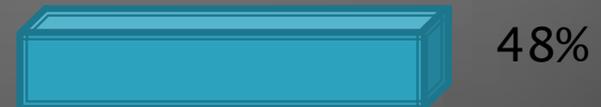
- 1– L'homme est le seul réservoir du virus
- 2– Fréquence des infections à l'hiver
- 3– La transmission mère -enfant se produit surtout in utéro
- 4– L'encéphalite herpétique est une maladie rare
- 5– Peut être causée par le HSV2
- 6 – Est plus fréquente chez le garçon

Sur le plan épidémiologique : choisissez la (les) bonne(s) réponse(s):

1- L'homme est le seul réservoir du virus



2- Fréquence des infections à l'hiver



3- La transmission mère -enfant se produit surtout in utéro



4- L'encéphalite herpétique est une maladie rare



5- Peut être causée par le HSV2



6 - Est plus fréquente chez le garçon



Sur le plan épidémiologique:

- 1– L'homme est le seul réservoir du virus
- 2– Fréquence des infections à l'hiver
- 3– La transmission mère -enfant se produit surtout in utéro
- 4– L'encéphalite herpétique est une maladie rare
- 5– Peut être causée par le HSV2
- 6 – Est plus fréquente chez le garçon

Epidémiologie

❖ Homme= seul réservoir

→ Direct → salive, sécrétions génitales, fluide vésiculaire
→ Indirect → linge

❖ Mère-enfant {
- in utéro (hématogène)
- accouchement via les vésicules génitales +
- post natale

❖ → HSV1 : très tôt → salive
→ auto-inoculation (doigts, œil)
→ HSV2 : génitale

Epidémiologie des méningo-encéphalite herpétique

- ❑ **RARE:** incidence mondiale 1 à 4 cas/ million d'habitants /an

Whitley RJ. Antiviral Res 2006

- ❑ La plus fréquente des encéphalites aiguës sporadiques dans les pays occidentaux

Johnson RT. Clin Infect Dis 1996

- ❑ Infection due à HSV1 (90%), rarement à HSV2 (nouveau né et immunodéprimé + + + +)

Sauerbrei A et al. Journal of Clinical Virology 2000

- ❑ Mortalité 11%, séquelles 32%

Tiouiri Benaissa H et al. Rev. Tun. Infectiol 2010

- ❑ **GRAVE**

- ❑ Tout âge: 2 pic d'incidence: 1 cas/3 < 20 ans; 1 cas/2 > 50 ans

Whitley RJ et al. Clinical Assessment. JAMA 1982

- ❑ Pas de prédominance de genre

Raschilas F et al. Clin Infect Dis

2002

- ❑ Pas de répartition saisonnière particulière

Sghaier W et al. Med Santé Trop 2012₄₇

Diagnostic au laboratoire

Préciser les types de prélèvements pathologiques à réaliser au cours des encéphalites herpétiques:



75

- 1 – LCS
- 2 – Sang total (tube sec)
- 3 – Urines
- 4 – Prélèvement de gorge
- 5 – Prélèvement pulmonaire

Préciser les types de prélèvements pathologiques à réaliser au cours des encéphalites herpétiques:

1 – LCS



2 – Sang total (tube sec)



3 – Urines



4 – Prélèvement de gorge



5 – Prélèvement pulmonaire



Préciser les types de prélèvements pathologiques réalisés au cours des encéphalites herpétiques:

1 – LCS

2 – Sang total (tube sec)

3 – Urines

4 – Prélèvement de gorge

5 – Prélèvement pulmonaire

Liquide céphalo-rachidien (LCS)

- ❖ 7 à 10 j du début de l'infection
- ❖ Avant tout traitement antiviral
- ❖ Tube stérile
- ❖ +4°C dans les 24 à 48 heures ou congelé à -80°C
- ❖ Acheminement immédiat dans la glace

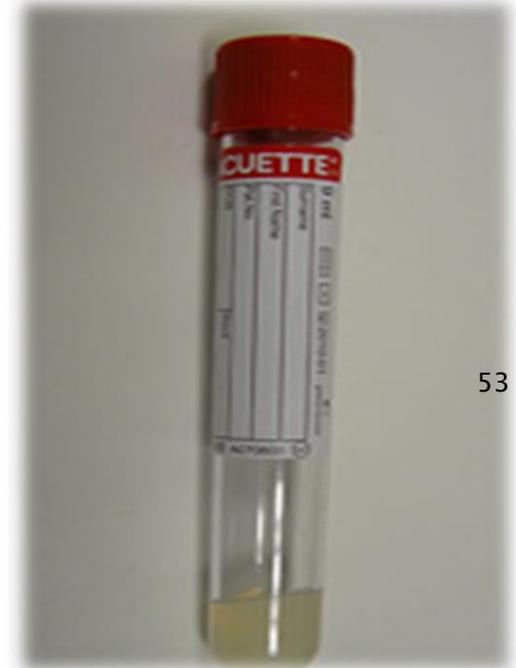
Possibilité d'inhibiteurs de la PCR dans le LCS (ex: cas de prélèvement hémorragique)



Prélèvements

Prélèvement sanguin pour sérologie virale

- ❖ 5 à 10 ml de sang veineux
- ❖ Tube sec
- ❖ Centrifugation et séparation du sérum
- ❖ Conservation à -20°C



Parmi les propositions suivantes ,
la ou lesquelles est (sont) vraie(s)



73

- 1 – Une PCR négative élimine le diagnostic d'encéphalite
- 2 – La PCR reste positive même après après 15 jours de traitement anti-viral
- 3 – La recherche de la sécrétion intrathécale d'Ig peut se faire tardivement > 15j
- 4 – La sérologie sanguine peut aider au diagnostic d'une infection herpétique
- 5 – Aucune de ces propositions

Parmi les propositions suivantes , la ou lesquelles est (sont) vraie(s) ?

1 – Une PCR négative élimine le diagnostic d'encéphalite



2 – La PCR reste positive même après 15 jours de traitement anti-viral



3 – La recherche de la sécrétion intrathécale d'Ig peut se faire tardivement > 15j



4 – La sérologie sanguine peut aider au diagnostic d'une infection herpétique



5 – Aucune de ces propositions

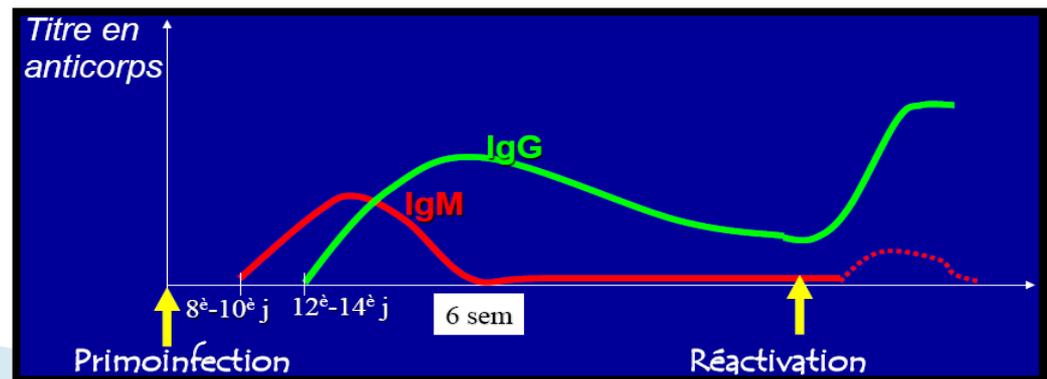


Réponse

- 1–Une PCR négative élimine le diagnostic d'encéphalite
- 2–La PCR reste positive même après après 15 jours de traitement anti-viral
- 3–La recherche de la sécrétion intrathécale d'Ig peut se faire tardivement > 15j
- 4–La sérologie sanguine peut aider au diagnostic d'une infection herpétique
- 5 – Aucune de ces propositions

Rappelons que:

- PCR négative au début: peu d'éléments cellulaires (pédiatrie)
- L'ADN → décelable sous traitement (2/3) au cours de la 2^{ème} semaine
→ disparaît après 15 jours
- LCS tardif : sérologie dans le LCS
- Sérologie sanguine: détection des IgM spécifiques ou séroconversion



Préciser la méthode de confirmation diagnostique de pratique courante la plus sensible:



73

- 1–Culture cellulaire
- 2–q PCR(PCR quantitative)
- 3–Immunofluorescence
- 4–Test rapide immunochromatographique
- 5 – Sérologie dans le LCS

Préciser la méthode de confirmation diagnostique de pratique courante la plus sensible:

1-Culture cellulaire



2-q PCR(PCR quantitative)



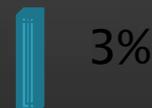
3-Immunofluorescence



4-Test rapide immunochromatographique



5 - Sérologie dans le LCS



Préciser la méthode de confirmation diagnostique de pratique courante la plus sensible:

1–Culture cellulaire

2–q PCR(PCR quantitative)

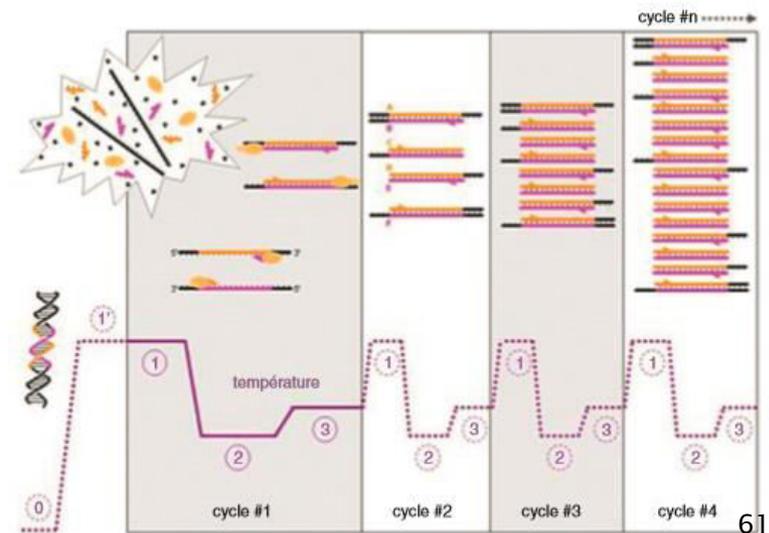
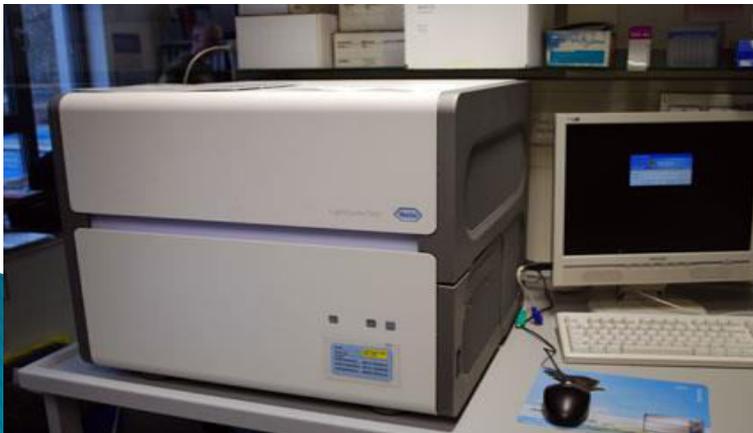
3–Immunofluorescence

4–Test rapide immunochromatographique

5 – Sérologie dans le LCS

Détection de l'ADN viral par qPCR : PCR Quantitative

- ❑ Régions cibles :
 - ADN polymérase
 - Thymidine kinase
 - Glycoprotéines B, D
- ❑ Détermination de la charge virale
- ⇒ Suivie de l'évolution après traitement



- Technique rapide

- Technique de référence pour le diagnostic d'urgence de l'EH à partir du LCS+++ , spécificité **99 %** et sensibilité **96%** pour le diagnostic d'EH à HSV1

Delbue S et al. Neurol Sci 2008

- Problème de faux négatifs lié à:

- présence d'inhibiteurs (LCS hémorragique++),

- LCS trop précoce

- 2^{ème} PCR faite sur LCS prélevé 4 j après

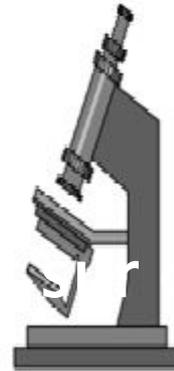
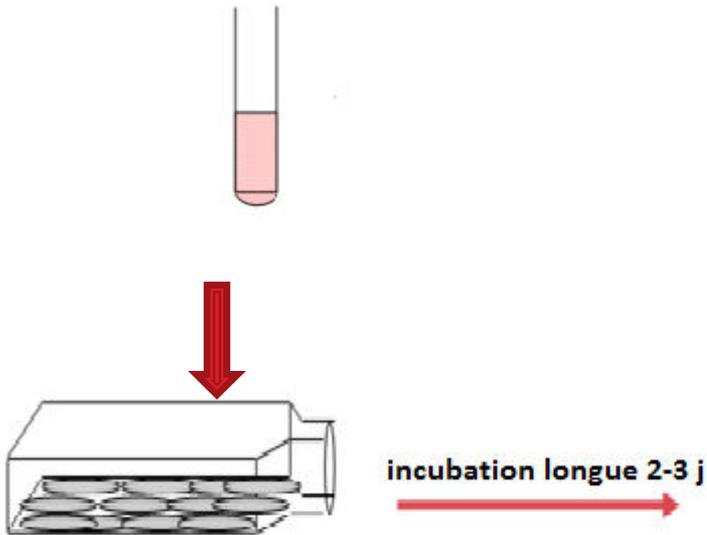
Autres méthodes de diagnostic virologique des infections à HSV

Méthodes de diagnostic direct

Culture cellulaire

- Culture cellulaire conventionnelle

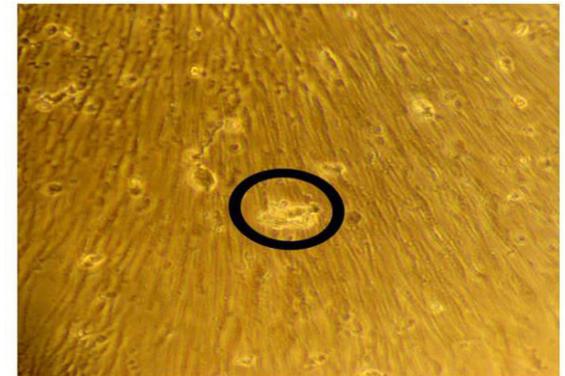
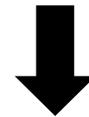
Principe



Examen au microscope (ECP)



Cellules MRC5
témoin



Cellules MRC5 infectées
(foci ballonnés)

En Pratique : Détection des antigènes viraux par Immunofluorescence

Principe

- Détection d'Ag intra-cellules infectées:

centrifugation du prélèvement



culot cellulaire



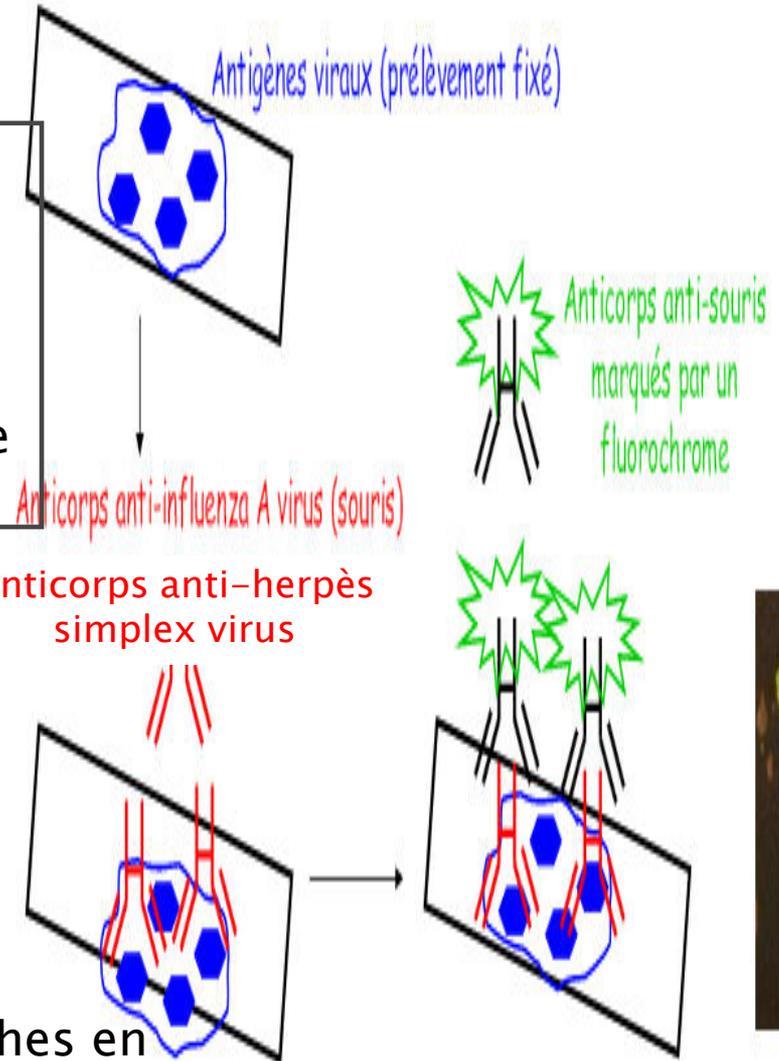
Cellules étalées sur lame et fixé à l'acétone

Avantages et inconvénients

- simple, spécifique et rapide (1 à 2 h)
- typage (HSV1 et HSV2)

Mais :

- peu sensible sur LCS
- meilleure sensibilité sur prélèvements riches en cellules infectées (biopsie cérébrale)+++



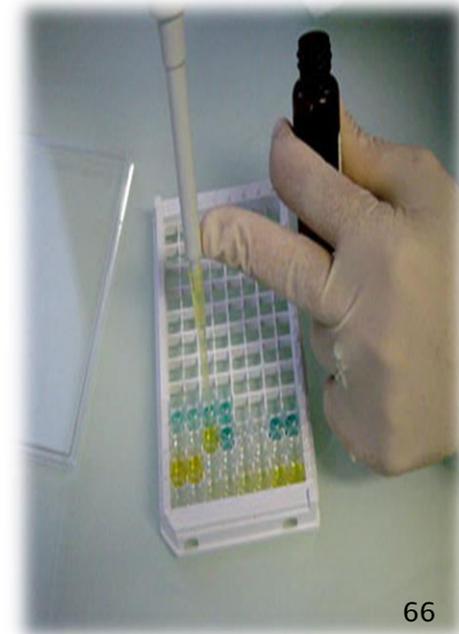
Méthodes de diagnostic indirect

Dosage de l'interféron α dans le LCS

- Infection secondaire à une réplication virale
- Synthèse précoce et brève (90 % des LCS)
 - Comparaison dans le sérum et le LCS : intégrité de la barrière hémato-méningée

Sérologie virale: Technique immuno-enzymatique ELISA

- Peu d'intérêt: sujets immunisés contre le virus HSV1 (2/3 cas)
Rozenberg F. Rev. Franc des lab 2012
- Confirmation:
 - Séroconversion en IgG
 - IgM positive
 - Augmentation du titre d'anticorps d'un facteur ≥ 4



• Recherche des anticorps spécifiques dans le LCS

- Synthèse intra-thécale d'IgG spécifiques (10 à 15 j après l'infection)
- Comparaison d'AC dans le LCS et le sang
 - IgG sérique/ IgG LCS < 50 : Synthèse intra-thécale des Ig
- Rq: Intégrité de la barrière hémato-méningée!!!

Intérêt

- **Diagnostic rétrospectif**
- PCR nonfaite
- PCR négative: LCS tardif ou traitement antiviral

A retenir

- Encéphalite herpétique : infection curable.
- Non traitée à temps → décès ou séquelles neurologiques
- Diagnostic = IRM cérébrale + étude microbiologique du LCS (PCR++)
- Normaux les premiers jours
- Peut révéler une encéphalite autoimmune
- Meilleure compréhension des mécanismes moléculaires et cellulaires
- Amélioration de la prise en charge de l'infection

A close-up photograph of pink cherry blossoms in full bloom, set against a clear, bright blue sky. The flowers are the central focus, with some in sharp focus and others blurred in the background. The petals are a soft pink color, and the centers show dark stamens. The overall mood is bright and cheerful.

*Merci pour votre
attention*