

EPSTEIN-BARR (VIRUS)

DEFINITION

Le virus d'Epstein-Barr a été découvert en 1964 en microscopie électronique par A. Epstein dans des cellules dérivées de lymphome de Burkitt africain. Il appartient à la famille des Herpesviridae, sous-famille des Gammaherpesvirinae, genre Lymphocryptovirus (« virus caché dans les lymphocytes »). Sa morphologie est identique à celle des autres herpes virus. Les virions mesurent environ 150 nm et sont enveloppés. Le génome est un ADN bicaténaire linéaire de grande taille. L'EBV ne peut se multiplier *in vitro* que dans les lymphocytes B, dont il induit la transformation lymphoblastique et l'immortalisation. Ce pouvoir transformant fait suspecter l'intervention de l'EBV dans certaines pathologies tumorales de l'homme. Après la primo-infection, l'EBV s'établit à l'état latent dans les lymphocytes B. Le génome viral y persiste sous forme épisomique, mais il peut aussi s'intégrer dans l'ADN chromosomique de la cellule-hôte. La réactivation est le plus souvent cliniquement silencieuse et transitoire, sauf en cas de déficit de l'immunité cellulaire. On distingue deux types d'EBV (EBV1-EBV2) en fonction du polymorphisme existant au niveau des antigènes nucléaires EBNA. Leur différenciation requiert l'utilisation d'anticorps monoclonaux ou de marqueurs génomiques particuliers, et n'a pas d'intérêt en pratique, du fait des réactions sérologiques croisées extensives entre les deux types. L'EBV type 1 domine largement dans les populations infectées.

Synonymes : EBV, HHV4.

BIOPATHOLOGIE

■ EPIDEMIOLOGIE

Le réservoir de virus est strictement humain. Plus de 90 % des adultes possèdent des anticorps contre l'EBV, donc hébergent le virus à l'état latent. L'EBV est présent dans les lymphocytes. Il peut être excrété de façon asymptomatique et prolongée dans la salive, éventuellement dans les sécrétions génitales. La transmission se fait par contact étroit, essentiellement par la salive (« maladie du baiser ») et les relations sexuelles.

■ CLINIQUE

Le virus pénètre dans l'épithélium oropharyngé où il commence à se multiplier, puis gagne les lymphocytes B lympho-épithéliaux, qui sont activés. La prolifération lymphocytaire est habituellement contrôlée par le système immunitaire.

■ Chez le sujet immunocompétent

Primo-infection

La primo-infection par EBV survient généralement au cours de l'enfance. Elle est souvent asymptomatique, ou peut se présenter sous forme peu caractéristique (syndrome grippal, asthénie, adénopathies).

La mononucléose infectieuse atteint plus volontiers l'adolescent et le jeune adulte. Elle se traduit par une angine pseudomembraneuse fébrile, avec polyadénopathies et splénomégalie. Il existe toujours une hyperlymphocytose marquée, avec présence de lymphocytes atypiques (lymphocytes CD8 activés). L'asthénie est durable (peut se prolonger plusieurs mois) mais l'évolution est en règle générale favorable. Bien qu'il puisse survenir un retard à la guérison, les complications (anémie hémolytique, hépatite, rupture de la rate) sont rares. La prise d'ampicilline (en rapport avec la suspicion d'une angine bactérienne) entraîne dans 90 % des cas un rash cutané. Il existe habituellement une atteinte hépatique biologique et de nombreuses anomalies immunologiques transitoires : anticorps hétérophiles, facteur rhumatoïde, anticorps anti-organes, détection d'anticorps IgM contre différents virus (cytomégalovirus) et bactéries. Ces anomalies sont la conséquence de la stimulation polyclonale des lymphocytes B.

La primo-infection peut parfois se présenter sous forme purement neurologique (encéphalite, polyradiculonévrite).

Manifestations malignes associées à l'EBV

Le lymphome de Burkitt existe dans le monde entier, mais il est endémique surtout en Afrique de l'Est où il représente le cancer le plus fréquent chez l'enfant de 6 à 10 ans. Dans cette zone, qui est également une zone de forte endémie palustre, l'EBV est associé au lymphome dans plus de 90 % des cas, contre moins de 15 % en zone non endémique. Cliniquement, on constate une tumeur indolente des maxillaires jusqu'aux orbites, avec exophtalmie. Elle est associée dans environ 30 % des cas à une atteinte des organes abdominaux (ganglions, ovaires, foie, reins, surrénales) et à une atteinte neuro-méningée. L'évolution est fatale.

Le carcinome indifférencié du nasopharynx atteint les adultes de 20 à 50 ans. L'incidence est particulièrement élevée en Chine du Sud et en Afrique du Nord, sans que l'on en sache la raison. L'EBV est associé à cette tumeur dans 100 % des cas.

La maladie de Hodgkin sévit dans le monde occidental où elle représente le type de lymphome malin le plus fréquent. Elle atteint les sujets de 25 à 30 ans et de plus de 45 ans, surtout dans la population à haut niveau socio-économique. Son association avec l'infection par EBV est soupçonnée sur la base de données épidémiologiques (risque accru de présenter un lymphome hodgkinien dans les 3 ans qui suivent la primo-infection à EBV), sérologiques (titre d'anticorps

anti-VCA élevé) et la détection de génome EBV dans les cellules malignes de Reed-Sternberg. Mais ces données sont variables en fonction du type histologique du lymphome et de l'origine géographique.

Le lymphome T centro-facial est surtout, mais pas exclusivement, rencontré dans le Sud-Est asiatique. Il cause une érosion progressive du tissu osseux du nez et de la face. L'association à l'EBV est variable en fonction de l'origine géographique et de la localisation ganglionnaire ou non.

■ Chez le sujet immunodéprimé

Primo-infection

La leucoplasie orale chevelue est une forme particulière de primo-infection par EBV, surtout rencontrée chez le sujet VIH-positif. Elle se manifeste par une striation verticale atteignant les bords et la face ventrale de la langue. Les lésions sont consécutives à une production chronique d'EBV par les cellules épithéliales de la langue.

Le syndrome de Purtilo (maladie de Duncan - syndrome lymphoprolifératif lié au chromosome X) est une forme gravissime de primo-infection à EBV atteignant les garçons génétiquement atteints d'un déficit immunitaire lié au chromosome X. L'évolution est le plus souvent fatale. La minorité d'enfants survivants présente un risque élevé de développer ultérieurement un lymphome malin de type Burkitt.

Réactivation virale et risque de lymphomes associés à l'EBV

Les lymphoproliférations, associées en grande majorité à l'EBV, sont rencontrées chez les patients transplantés avec une fréquence 20 à 50 fois plus élevée que chez le sujet normal. Les lymphomes surviennent chez environ 10 % des sujets VIH-positifs. Ils sont de type immunoblastique en phase tardive du SIDA, et sont toujours associés à l'EBV. En revanche, les lymphomes précoces sont plutôt de type Burkitt. L'association à l'EBV n'est rencontrée que dans 30 % des cas.

INDICATIONS DE LA RECHERCHE

Diagnostic étiologique d'un syndrome mononucléosique.

Affirmation du rôle de l'EBV dans les formes sévères de primo-infection.

Exploration étiologique d'une pathologie tumorale.

Diagnostic prédictif de l'émergence d'un lymphome à EBV chez le sujet immunodéprimé.

Surveillance de l'évolution de la charge virale chez l'immunodéprimé traité ou non.

Définition du statut immunitaire en cas de don d'organe, chez le donneur et le receveur.

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT

Pour la recherche du virus ou du génome viral : sang total prélevé sur EDTA ou citrate, plasma ou sérum, prélèvement rhinopharyngé, salive, LCR, biopsies en flacon stérile, sans fixateur histologique.

Pour la recherche des anticorps, sérum non hémolysé (éventuellement LCR).

■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Statut immunitaire, séropositivité VIH éventuelle, origine géographique et ethnique, signes cliniques, type et début de la symptomatologie.

■ CONSERVATION ET TRANSPORT

Il est recommandé d'acheminer rapidement les prélèvements au laboratoire (quelques heures à température ambiante si possible et moins de 3 jours en milieu réfrigéré). Il est conseillé de congeler le LCR et de maintenir le sérum à + 4 °C si le laboratoire est éloigné du lieu de prélèvement.

METHODES DE DIAGNOSTIC

■ DIAGNOSTIC DIRECT

■ Examen hématologique

L'hyperleucocytose s'élève entre 10 000 et 20 000/mm³ avec une lymphocytose comprise entre 30 et 90 %. Les cellules sont caractérisées par leur pléïomorphisme. On observe surtout de grandes cellules mononuclées à cytoplasme abondant, hyperbasophiles, et à noyau excentré.

■ Mise en évidence de marqueurs moléculaires ou d'antigènes de l'EBV

L'hybridation *in situ* permet de mettre en évidence de petits ARN codés par l'EBV (EBER's pour *Epstein Barr encoded small RNAs*) dans les cellules chroniquement infectées par le virus. Des anticorps monoclonaux marqués (fluorescence ou peroxydase) sont utilisés pour localiser certaines protéines produites par l'EBV. Ces techniques sont employées essentiellement pour l'étude des tissus tumoraux.

■ Détection du génome viral

La PCR est la technique actuellement la plus utilisée pour mettre en évidence le génome de l'EBV et surtout pour la quantification de la charge virale (PCR en temps réel) dans le sang circulant, les leucocytes, le plasma ou le sérum, éventuellement le LCR ou les tissus. Elle constitue une alternative à l'isolement viral.

■ Isolement viral

L'isolement de l'EBV n'est réalisable que sur lymphocytes B isolés du sang de cordon, mais les techniques de culture, longues et fastidieuses, ne

permettent pas de faire du diagnostic de routine. Il est aussi possible d'établir *in vitro* des lignées cellulaires dérivées de tissus tumoraux chroniquement infectés par le virus. Ces techniques sont réservées aux laboratoires de virologie spécialisés.

■ DIAGNOSTIC INDIRECT

■ Détection des anticorps hétérophiles

L'infection des lymphocytes B par l'EBV entraîne une stimulation de la production d'anticorps (Ac) non spécifiques de type IgM, appelés Ac hétérophiles. Dans la mononucléose infectieuse, ces Ac sont capables d'agglutiner les hématies de certaines espèces animales (mouton, bœuf, cheval).

Le MNI test (Mono-Spot) est une technique d'agglutination rapide des hématies de cheval stabilisées.

La réaction de Paul-Bunnell-Davidsohn (PBD) permet, par une adsorption différentielle des agglutinines anti-hématies de mouton sur globules rouge de bœuf et sur rein de cobaye, de distinguer les anticorps hétérophiles de la MNI des anticorps naturels de Forssman et de les quantifier.

■ Détection des Ac spécifiques anti-EBV

Par immunofluorescence indirecte (méthode de référence).

Cette technique nécessite l'utilisation de lignées cellulaires chroniquement infectées par l'EBV, et exprimant l'antigène de capsid (VCA), les antigènes précoces (EA) et l'antigène nucléaire (EBNA). Le titrage des anticorps contre cet ensemble d'antigènes permet de préciser le statut sérologique du sujet vis-à-vis de l'EBV.

Par technique ELISA. De nombreuses troupes, de valeur souvent inégale, sont commercialisées (il n'y a pas encore de consensus sur les antigènes utilisés). Les meilleures permettent de différencier les anticorps IgM et/ou IgG dirigés contre les différents antigènes EBV et l'interprétation des résultats est proche de celle de l'immunofluorescence. Il existe en outre des tests qui permettent la mise en évidence de certains anticorps par ELISA rapide (10 minutes) sur bandelette ou sur bâtonnet. On peut ainsi détecter, par exemple, des anticorps IgG et IgM contre un peptide synthétique dérivé de l'antigène EBNA-1.

Par immunoblot, permettant d'identifier les anticorps IgM et IgG dirigés contre 5 protéines recombinantes dérivées des antigènes VCA, EA et EBNA. Ce test qualitatif est intéressant pour les petites séries d'analyses.

INTERPRÉTATION

■ DIAGNOSTIC DE LA PRIMO-INFECTION A EBV

■ Mononucléose infectieuse (MNI)

Le MNI-test est le plus souvent positif à partir de la

deuxième semaine des signes cliniques et pendant environ 6 à 8 semaines. Il peut cependant être faussement négatif dans 10 à 15 % des cas (jeune enfant en particulier). Il existe également des réactions faussement positives (hémopathies, maladies auto-immunes...).

La réaction de Paul-Bunnell-Davidsohn se positive en 12 à 15 jours et les anticorps persistent en général 2 à 3 mois. Sa spécificité est meilleure que celle des tests sur lame. Elle peut être en revanche faussement négative chez le jeune enfant et chez les sujets de groupe sanguin A.

La sérologie spécifique de l'EBV est toujours la méthode de choix. Les anticorps IgM anti-VCA apparaissent dans la semaine qui suit le début des signes cliniques, suivis en quelques jours par les IgG. Les anticorps IgG anti-EA apparaissent transitoirement au cours de la phase aiguë mais de façon inconstante (70 à 80 % des cas seulement) et disparaissent lors de la convalescence. Les anticorps anti-EBNA sont toujours négatifs à ce stade et ne se positiveront que 2 à 3 mois après la primo-infection. Noter que la détection des anticorps peut être retardée ou ne pas avoir lieu en cas d'immunodépression grave (syndrome de Purtilo).

■ Primo-infection à EBV sans mononucléose infectieuse vraie

Le problème du diagnostic peut se poser chez le jeune enfant (asthénie, adénopathies) ou en cas de forme neurologique (encéphalite, polyradiculonévrite). La recherche des anticorps hétérophiles est peu indicative. La sérologie spécifique de l'EBV peut être utilisée, ou bien l'on peut mettre en évidence le génome viral par PCR.

■ DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION SECONDAIRE ACTIVE

La sérologie est souvent peu contributive, surtout chez le sujet immunodéprimé. La détection d'anticorps IgG anti-EA à taux significatif est un indicateur intéressant, mais assez inconstant. En revanche, la détection d'anticorps IgA anti-VCA et anti-EA à taux significatif est un marqueur important pour le diagnostic du carcinome du nasopharynx à EBV.

Dans la plupart des cas, il faut avoir recours à la recherche des marqueurs de réplication virale par PCR. La simple détection du génome viral au niveau d'un site anatomique ou dans un liquide biologique doit toujours être relativisée et discutée en fonction du contexte clinique et du terrain immunitaire.

La détermination de la charge virale dans le sang, le LCR (lymphome cérébral) ou les tissus concernés, serait prédictive de l'apparition d'un syndrome lymphoprolifératif à EBV. Elle est utile pour suivre l'évolution de l'infection au cours du temps en fonction de la thérapeutique instaurée.

■ DETERMINATION DU STATUT SEROLOGIQUE VIS-A-VIS DE L'EBV

En cas de syndrome mononucléosique clinique, la constatation d'un profil d'infection à EBV ancienne élimine cette étiologie et oriente vers d'autres causes (cytomégalovirus, toxoplasme, VIH).

Le profil sérologique permet de repérer les receveurs de greffe ou devant subir un traitement immunosuppresseur prolongé qui sont EBV-séronégatifs, et qui risquent donc une primo-infection grave. Il faut également chaque fois que possible, connaître le statut sérologique EBV, en cas de don d'organe ou de tissu.

Le tableau suivant résume les différentes situations sérologiques possibles par la technique d'immunofluorescence indirecte (titres en anticorps).

	IgG anti-VCA	IgM anti-VCA	IgA anti-VCA	IgG anti-EA	IgA anti-EA	IgG anti-EBNA
Séronégativité (sujet réceptif)	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
Primo-infection	40 - 1280	20 - 640	< 5 - 40	< 5 - 80	< 5	< 5
Infection ancienne (latente)	40 - 640	< 5-10	< 5	< 5-10	< 5	20 - 320
Réactivation éventuelle	> 640	< 5 - 80	< 5- 40	< 5-320	< 5-40	20-320
L. de Burkitt associé à l'EBV	> 640	< 5	< 5	80-640 (*)	< 5	< 5-160
Carcinome du nasopharynx	> 640	< 5	80-1280	80-1280 (**)	40-160	80-1280

(*) Image de fluorescence dite « réduite » (R)
 (**) Image de fluorescence dite « diffuse » (D)

plus de la déleucocytation du sang, on peut sélectionner les donneurs de sang EBV-séronégatifs pour transfuser les sujets à haut risque.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Seigneurin J.M., *Infections à virus Epstein-Barr*, Encyclopédie Médico-Chirurgicale 2001, Maladies Infectieuses, 8-070-K10-12 p.
- Seigneurin J.M., Fafi-Kremer S, Baccard M., Morand P., *Le Virus Epstein-Barr et les marqueurs de l'infection*. Bioforma, Cahier de formation Biologie médicale n°36, 2006.
- Le Goff J., Nicolas J.C., *Virus Epstein-Barr et système immunitaire*, RFL; novembre 2001, n°337: p.33-40.
- Révir, Référentiel en virologie médicale, *cytomégalovirus*, Société Française de Microbiologie, *Virus Epstein-Barr*. 2007, 2^e ed, Vivactis plus Edition.

INTERPRETATION

■ CURATIF

Il n'existe pas de médicament antiviral actif sur l'EBV.

La primo-infection survenant chez le sujet immunocompétent ne requiert qu'un traitement symptomatique. En cas de symptomatologie bruyante, un traitement corticoïde court est possible.

Au cours des infections graves à EBV chez le patient immunodéprimé, des antiviraux tels que l'aciclovir, le ganciclovir, le foscarnet et le cidofovir ont été essayés avec des résultats inconstants. Dans le cas des lymphoproliférations, outre la radio et la chimiothérapie, des essais de stimulations ou de restauration de la réponse cytotoxique sont en cours.

■ PREVENTIF

Il n'existe pas encore de vaccin disponible contre l'EBV. Un vaccin (à l'étude) dirigé contre la protéine GP350 d'enveloppe, induit une réponse humorale avec des anticorps neutralisants et une réponse cellulaire cytotoxique. Ce type de vaccin pourrait avoir un intérêt, d'une part dans la prévention de l'infection, d'autre part, dans la diminution de la dissémination virale au cours des réactivations chez l'individu infecté. Il serait donc utile dans les régions de forte endémicité de carcinome nasopharyngé et de maladie de Hodgkin. En