



Hot Clinical Case

L'étrange dossier de Mme G.

Valentine Ferré

Virologie, CHU Bichat – Claude
Bernard, **Paris**

Université Paris Cité; INSERM 1137
IAME

Yacine Tandjaoui-Lambiotte

Pneumologie & Infectiologie, **Saint Denis**

INSERM 1137 IAME ; 1272 Hypoxie &
Poumon

JIM BURTON Révélé





Antécédents

- Traumatisme crânien: hématome parenchymateux ancien, non opéré, épilepsie (Keppra), vie normale
- Syndrome anxio-dépressif



Histoire de la maladie

- 29/08/22: retrouvée dans le hall de son immeuble, confuse, hypoglycémie 1.2mmol/L
- SAU: GCS 14, 38°4, FC 133/mn, PA 70/49mmHg, stable en air ambient, lésions cutanées et muqueuses multiples







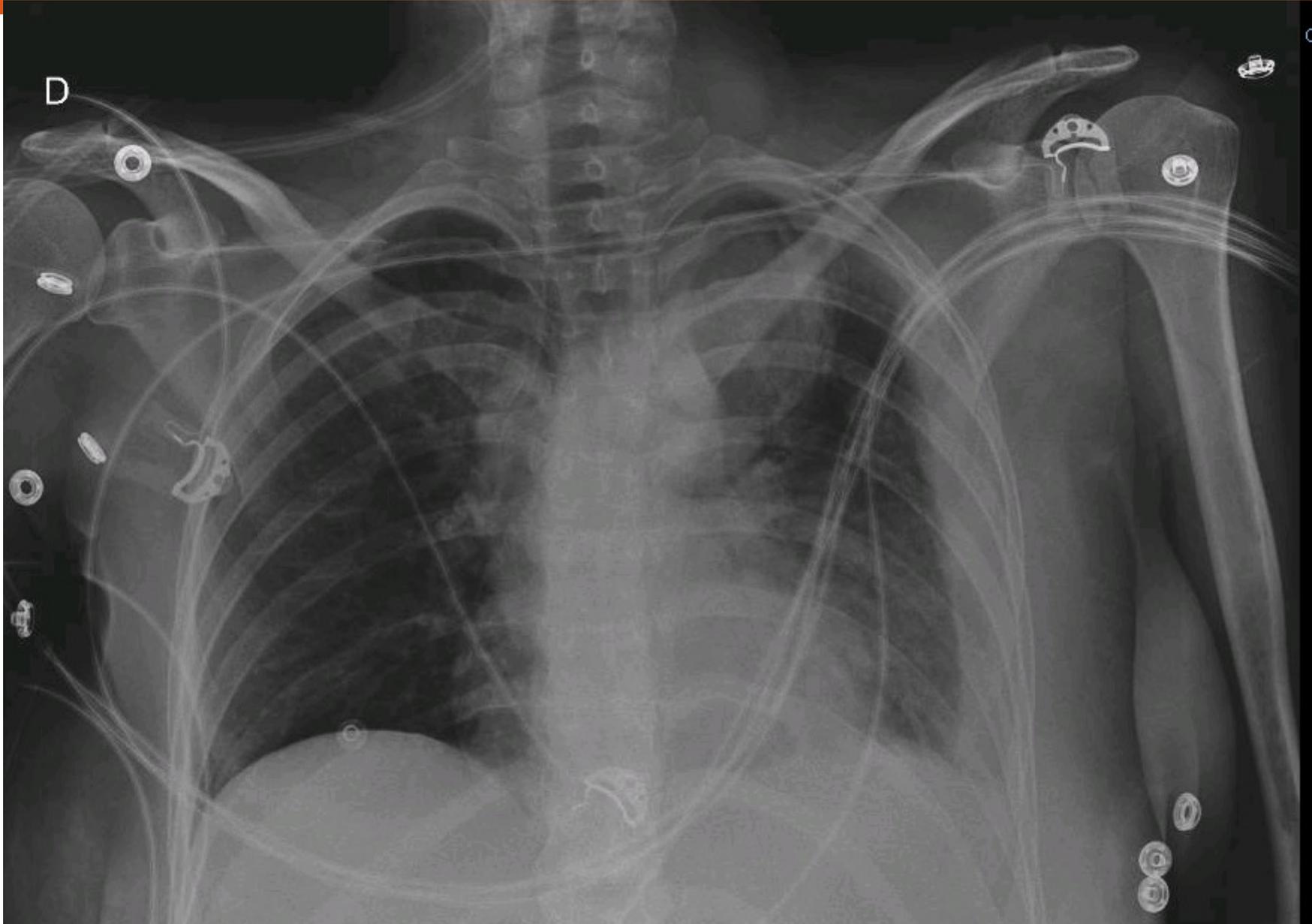
Quelques jours auparavant...

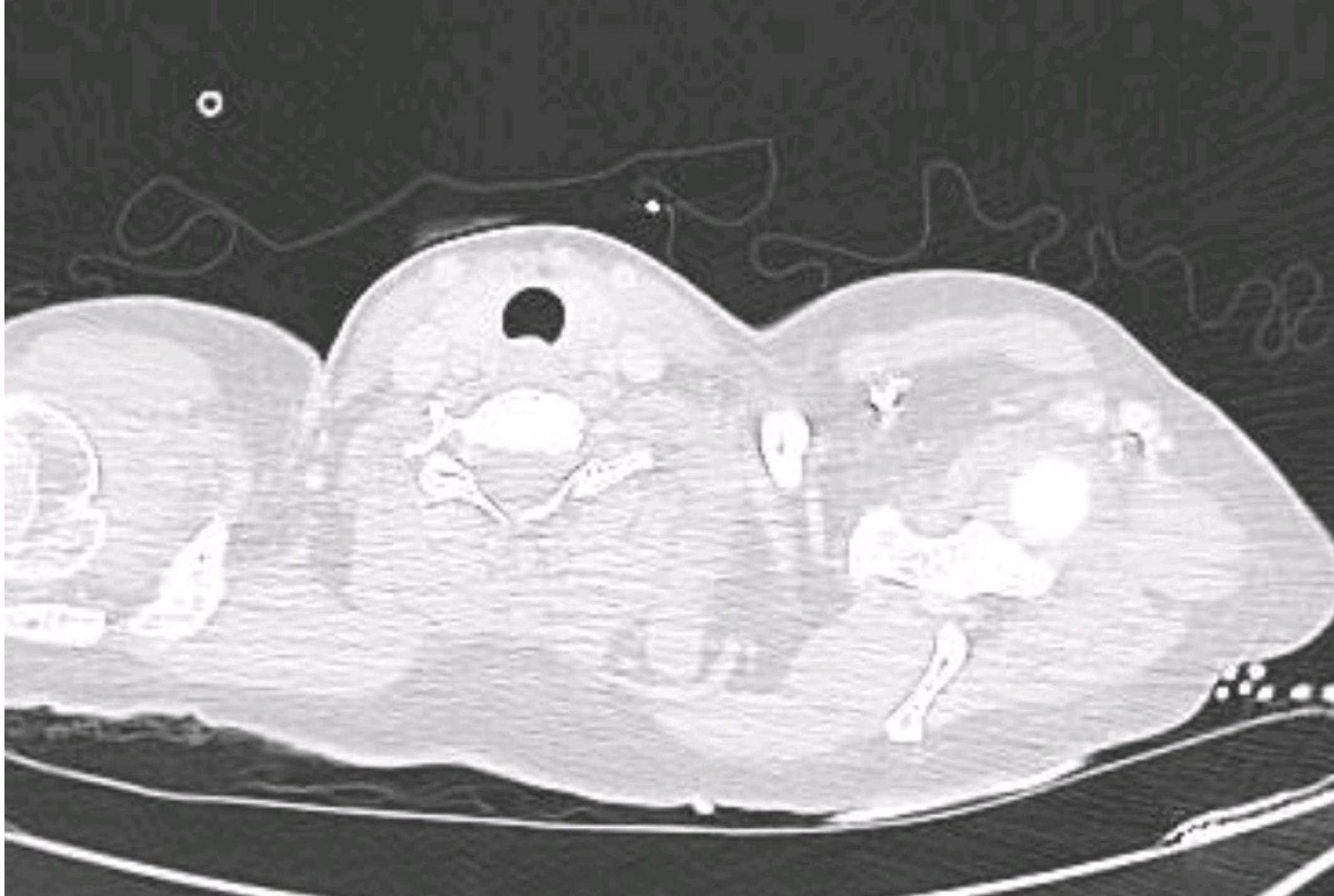
- Pas clair
- Prise de:
 - Tramadol
 - Lamaline
 - Acide fucidique
 - AINS

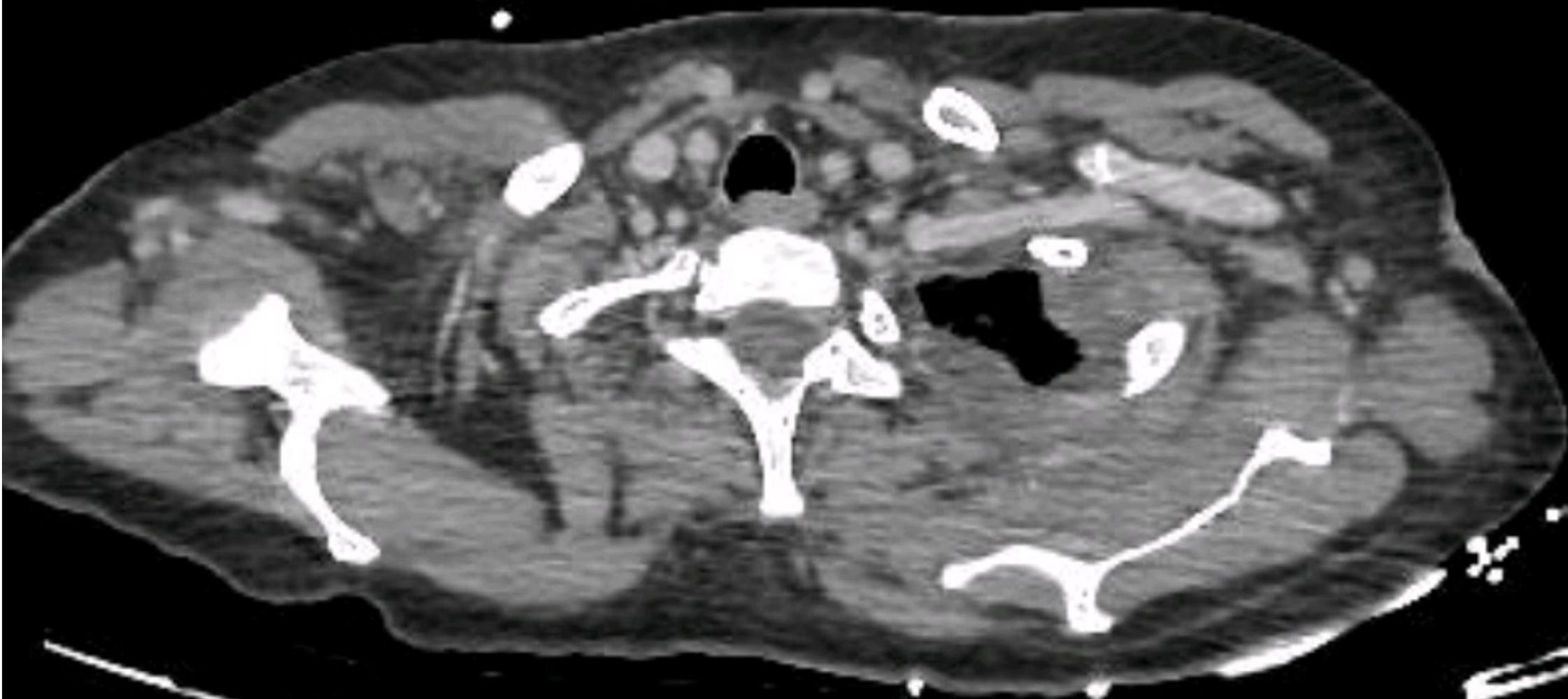
Biologie

- GB: 29G/L, Hb 9.7g/dL, pq: 96G/L
- CRP: 330mg/L
- Na⁺: 116mmol/l, K⁺: 5.4mmol/L, creat: 300μmol/L
- ASAT: 3N, ALAT: N, Bili totale: 45μmol/L, TP: 43%, fV: 132%
- CK: 291UI/L, LDH: 700UI/L
- OH <0.1g/L, paracetamolémie: negative

Imagerie







Ponction pleurale

Du pus. Votre antibiothérapie ?

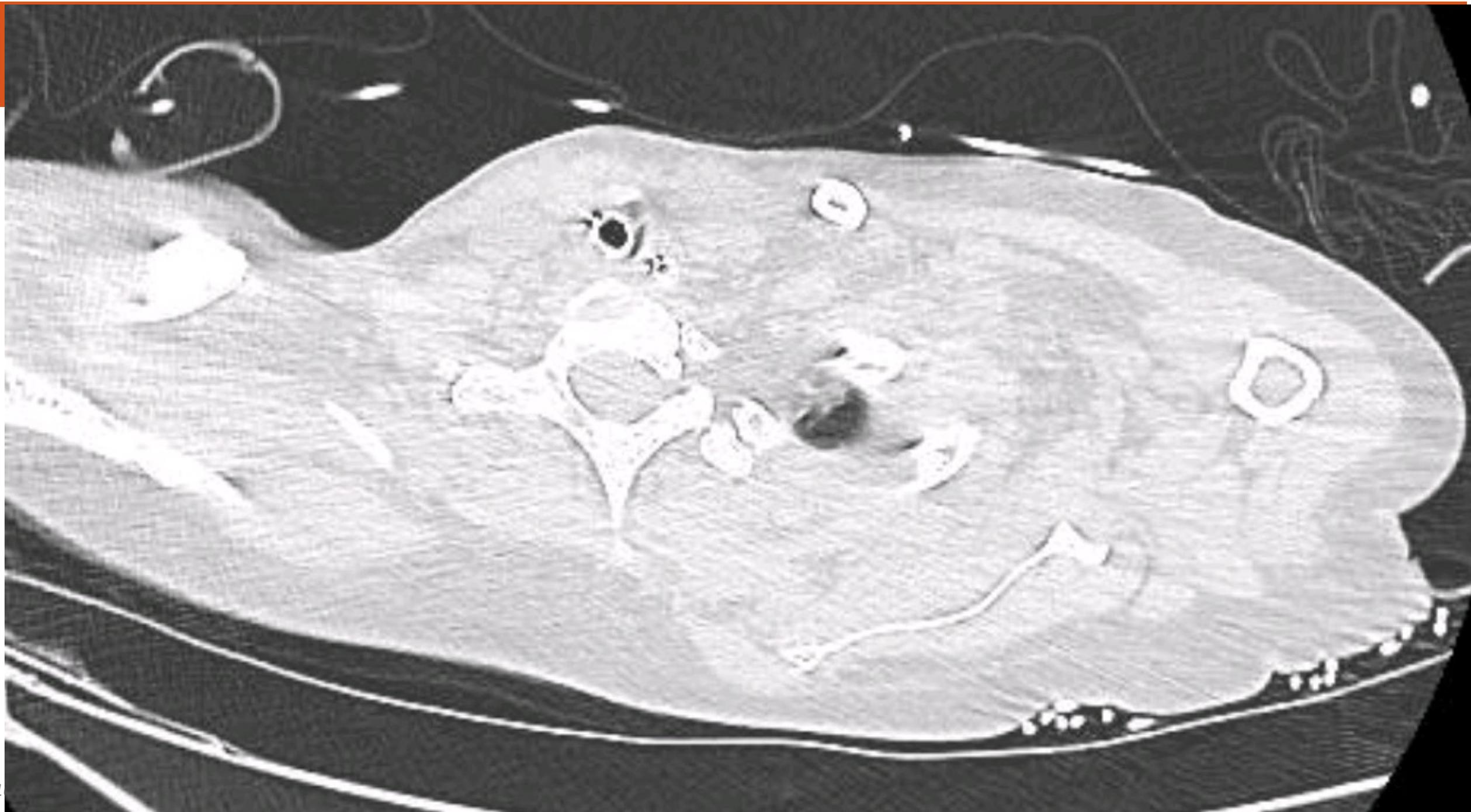
Streptococcus pyogenes

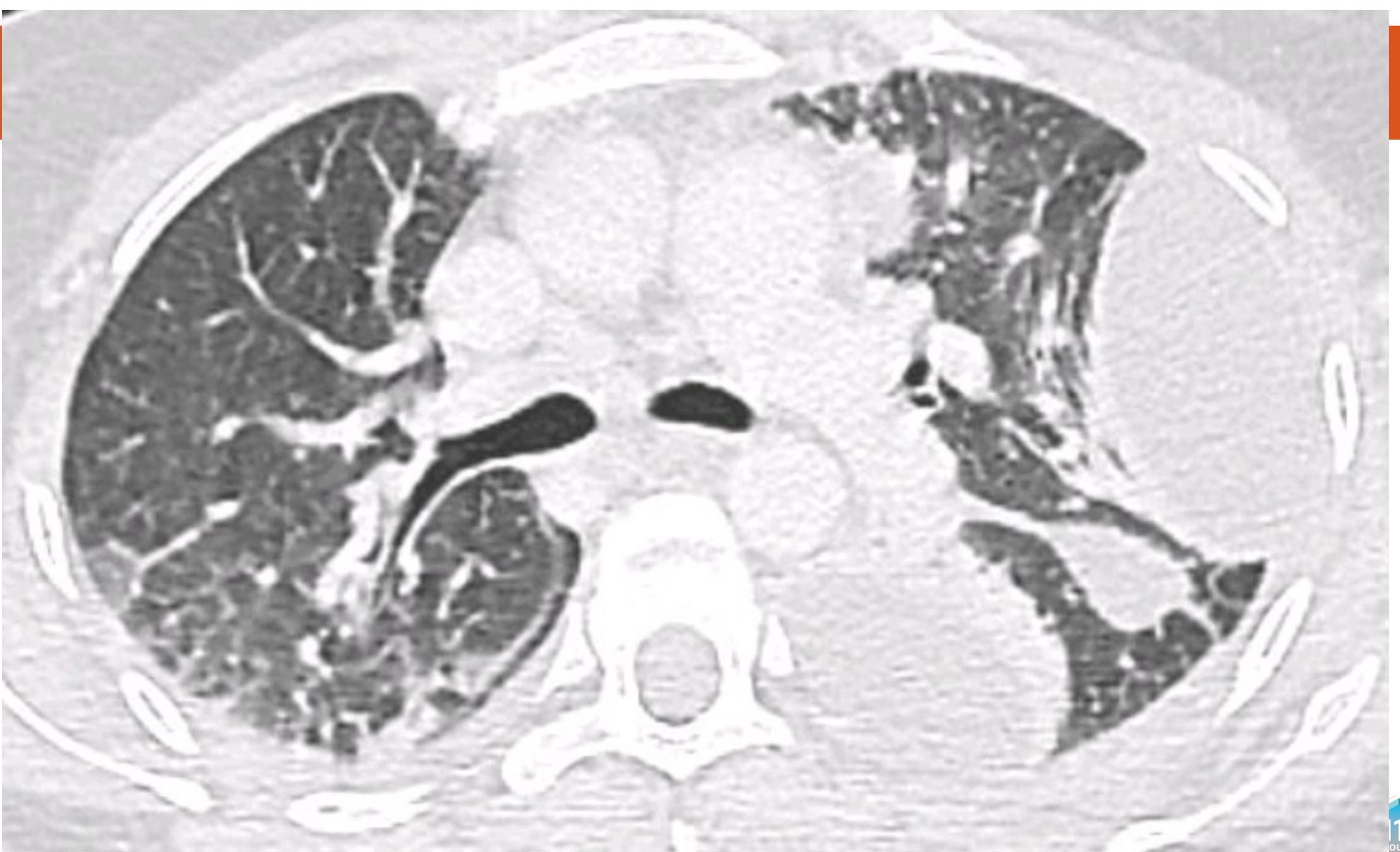
Et la peau ?

(Serologie VIH négative)

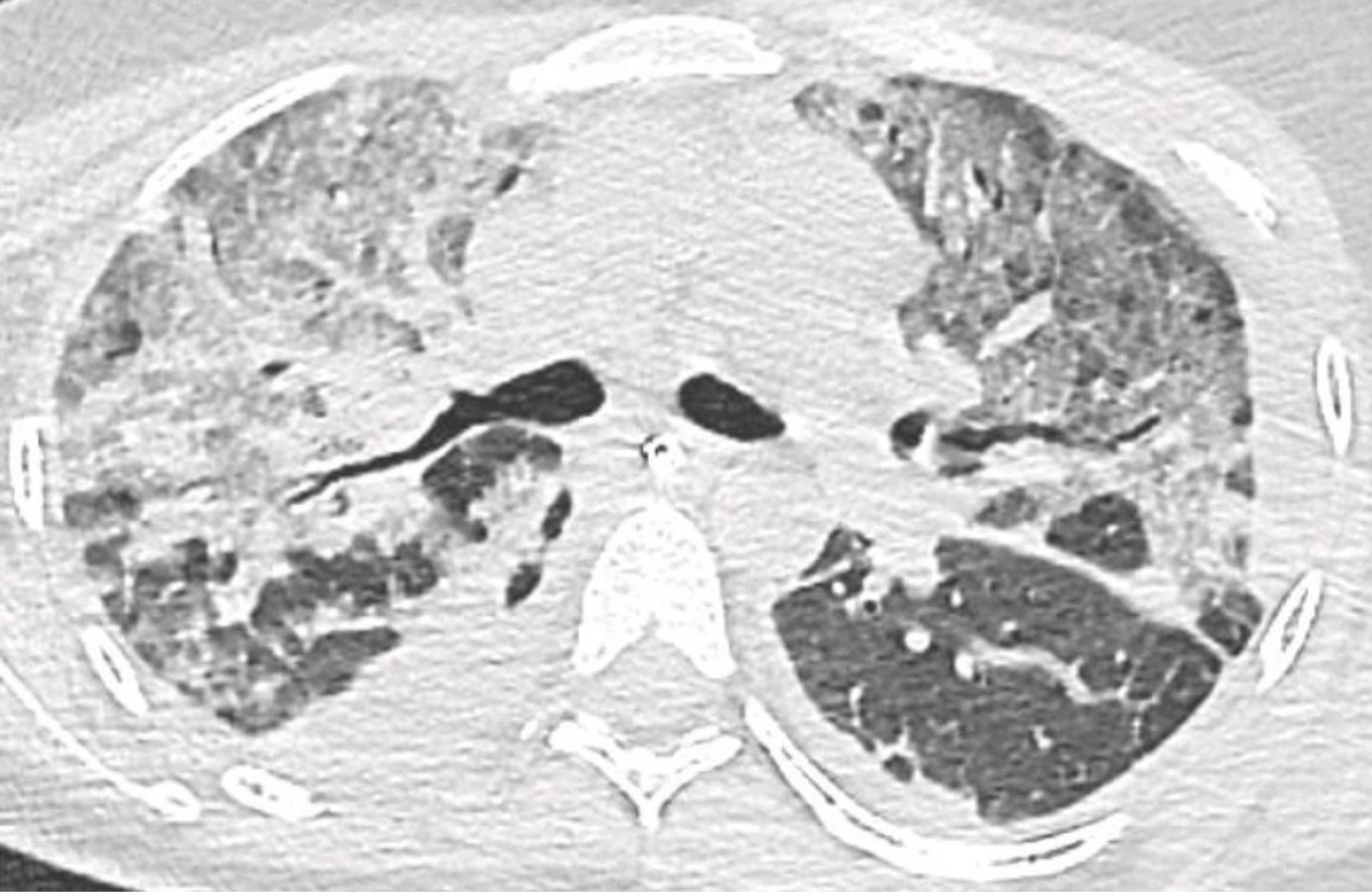
À 24H, explosion respiratoire

- Malgré drainage pleural
- FEVG normale
- Pas d'hémoptysie
- Profondément hypoxémique ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 150$)





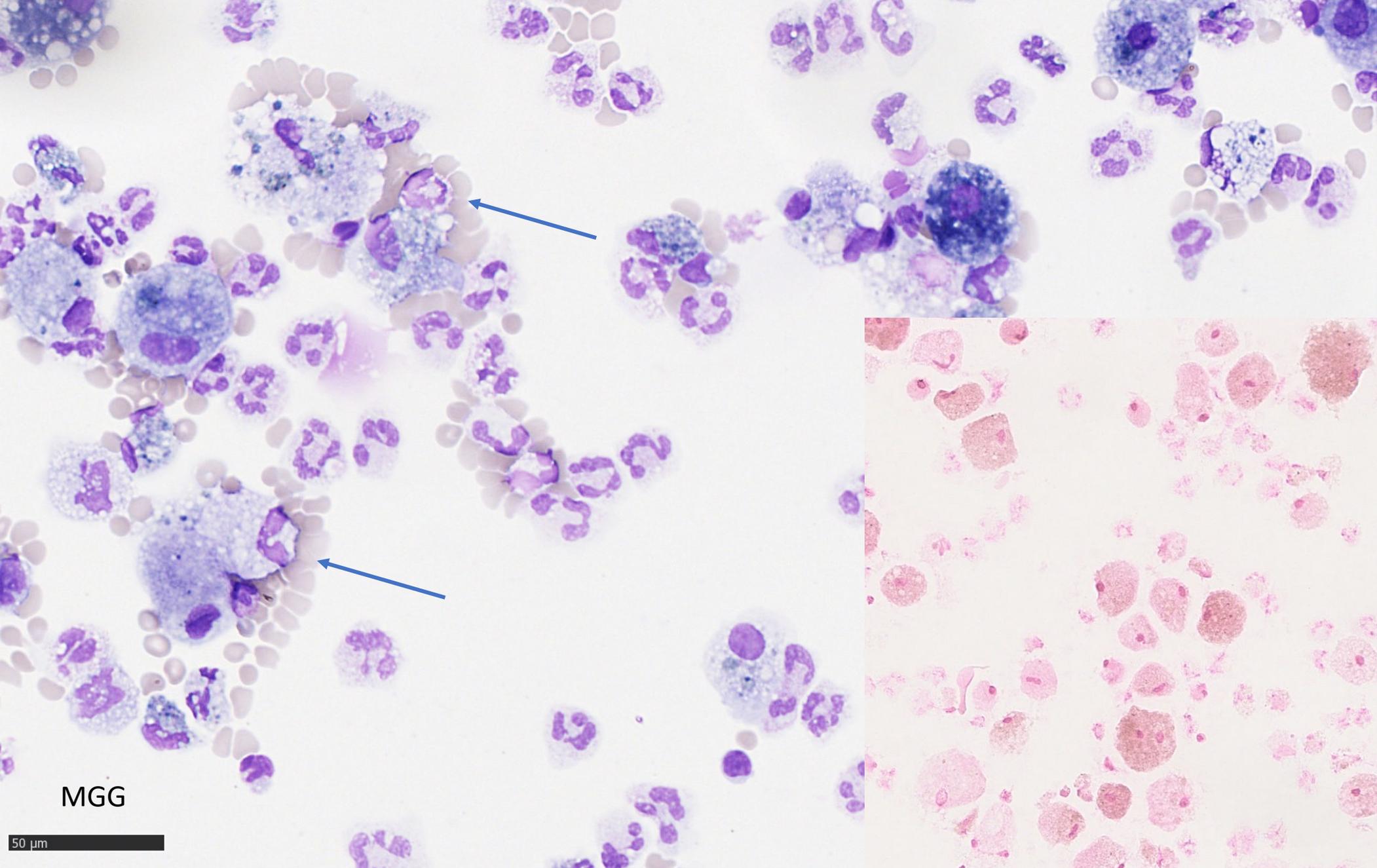
30/08/22



LBA

- Côté non drainé (LSD)
- Orange (??)
- Alvéolite marquée: 1.500.000 cellules/mL
 - 60% de PNN non altérés
 - 6% de lymphocytes
 - 34% de macrophages pigmentés (fumeuse)

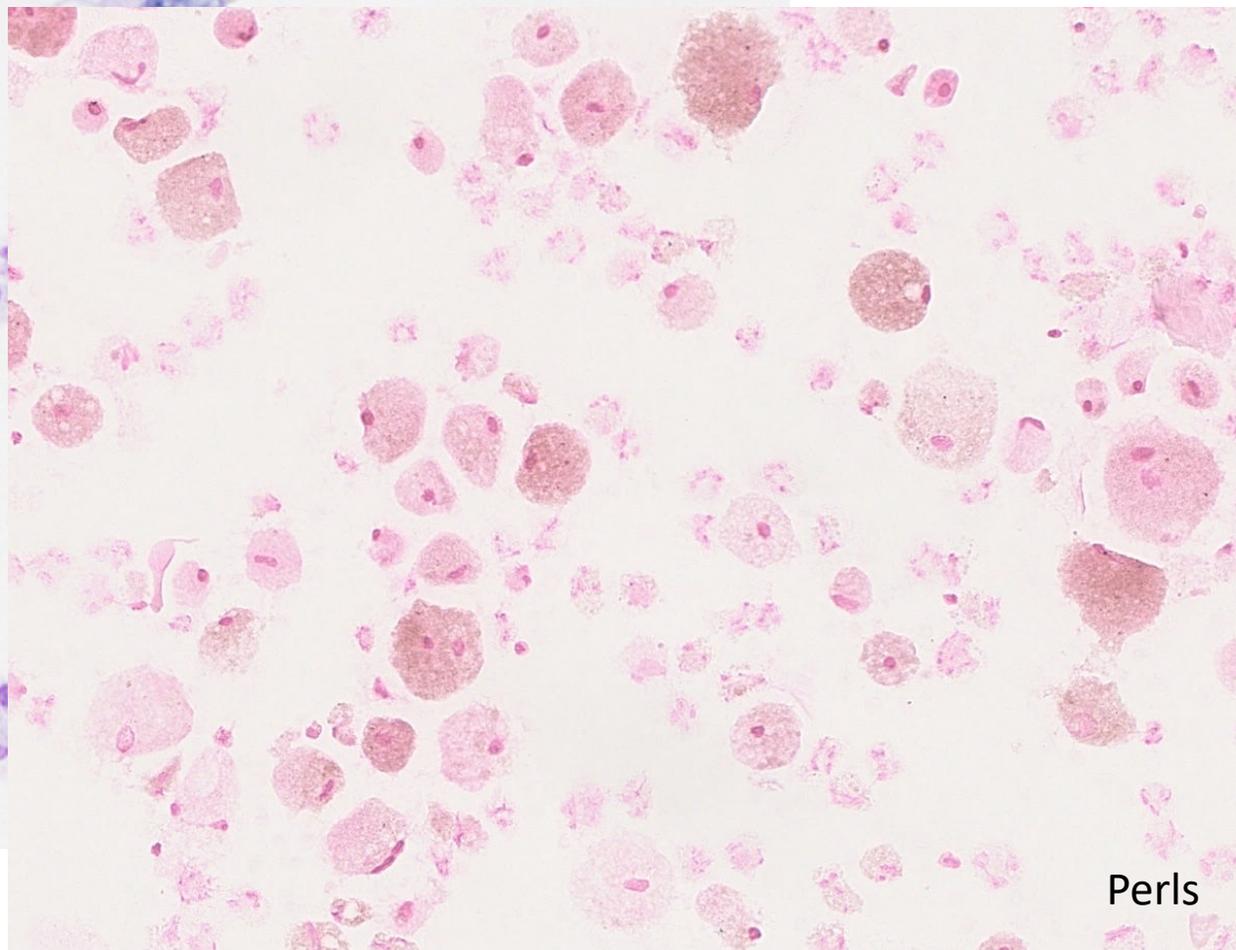




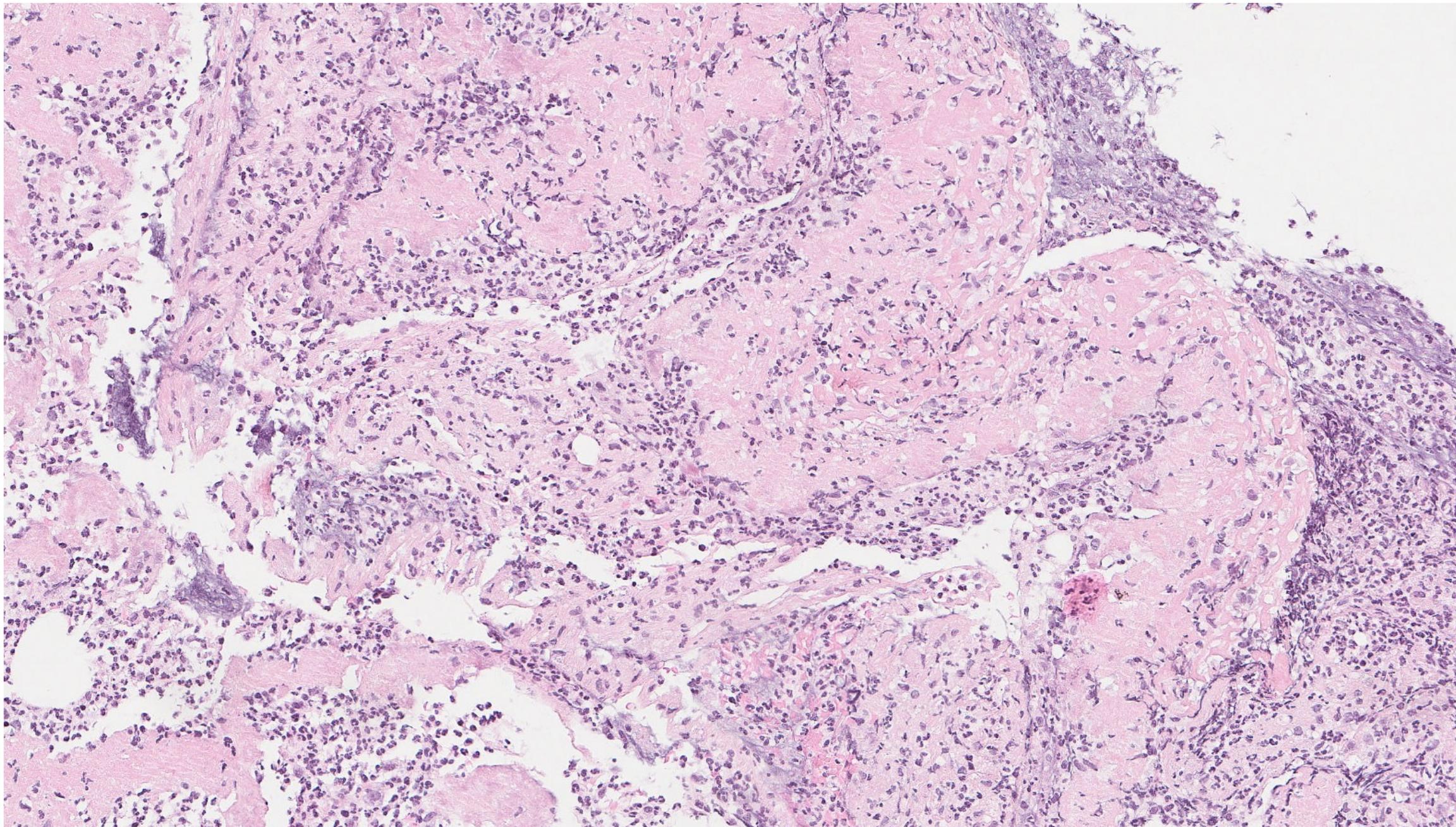
MGG

50 μm

Macrophages fumeur bleu pétrole au MGG
Brun-gris au perls. Les flèches pointent les GR



Perls



21 Biopsie transbronchique (du côté du drain)

Amas de fibrine avec leucocytes altérés (empyème pleural?)

Bon alors, ce diagnostic?

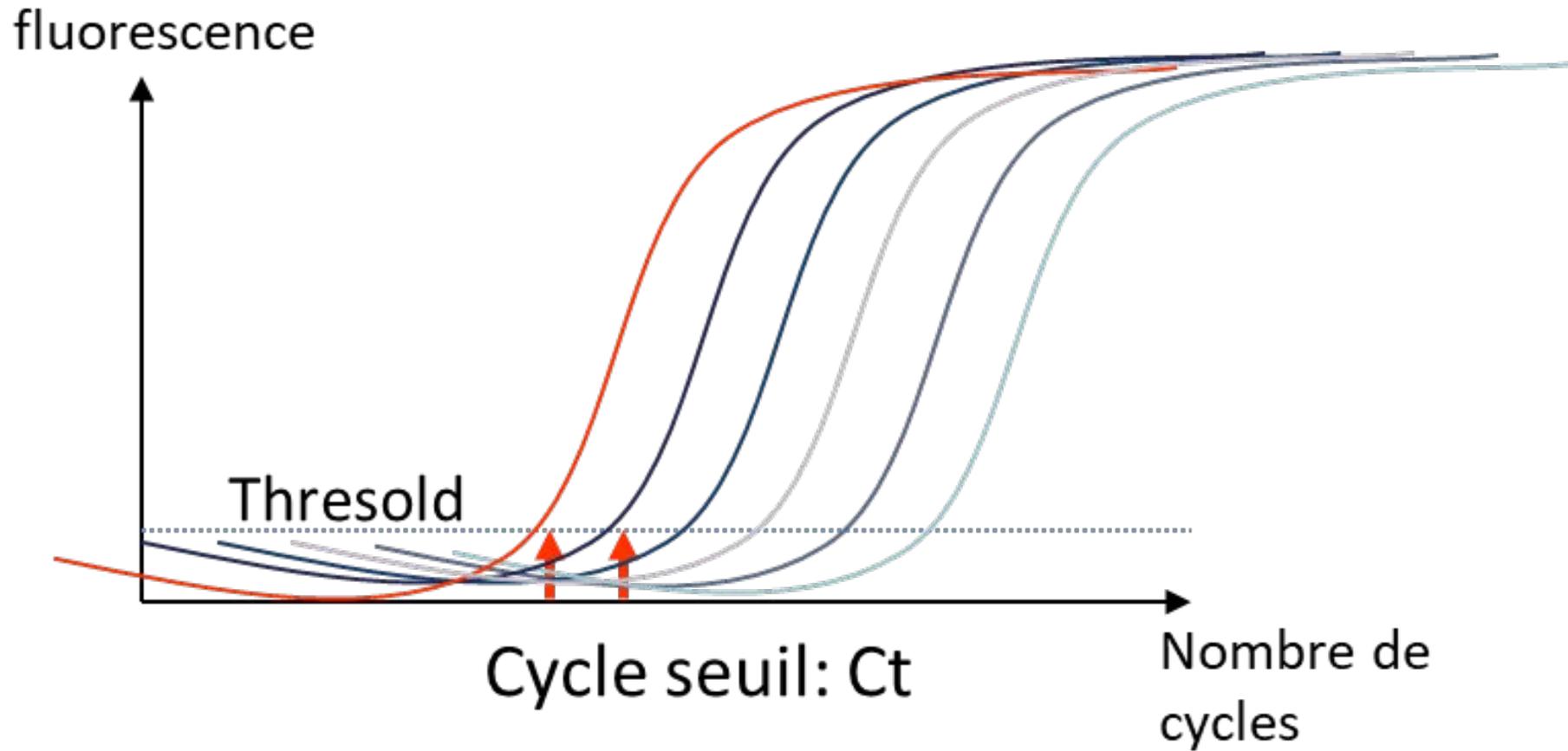


Monkeypoxvirus dans tous les prélèvements

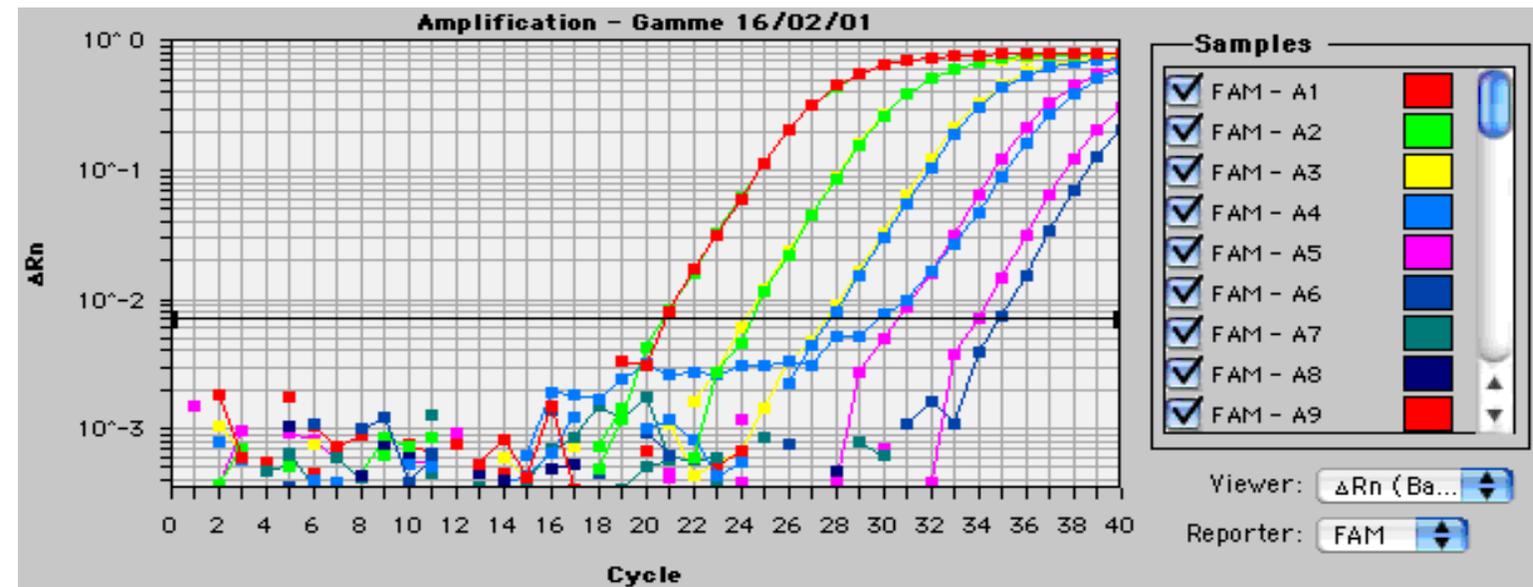
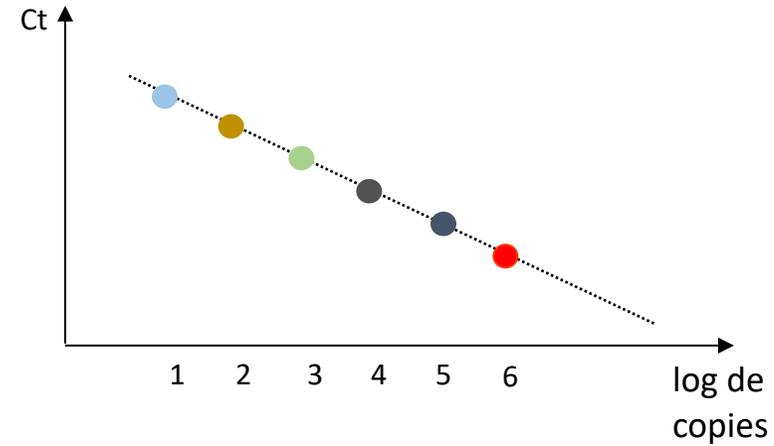
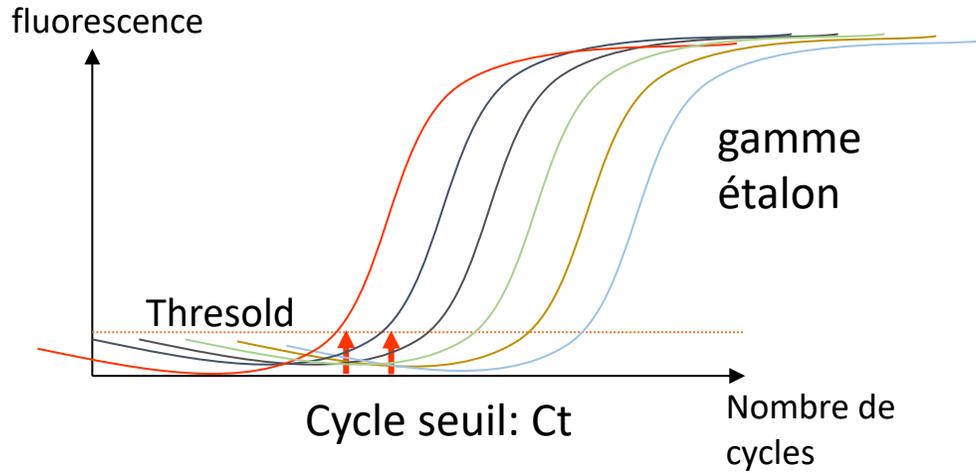
Sauf le LCR

	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 11	Day 15	Day 17	Day 36
Perineal lesion	19	~	~	~	~	~	~	~
Oral lesion	~	29	~	~	~	~	~	~
Pleural effusion	41	~	Not detected	39	~	~	Not detected	~
Plasma	~	38	38	38	39	~	~	Not detected
Broncholalveolar lavage	~	36	~	~	~	~	~	~
Tracheal aspiration	~	~	34	35	37	36	~	~
Cerebro spinal fluid	~	Not detected	~	~	~	~	~	~
Urine	~	~	39	35	~	Not detected	~	~

PCR en temps réel



PCR en temps réel

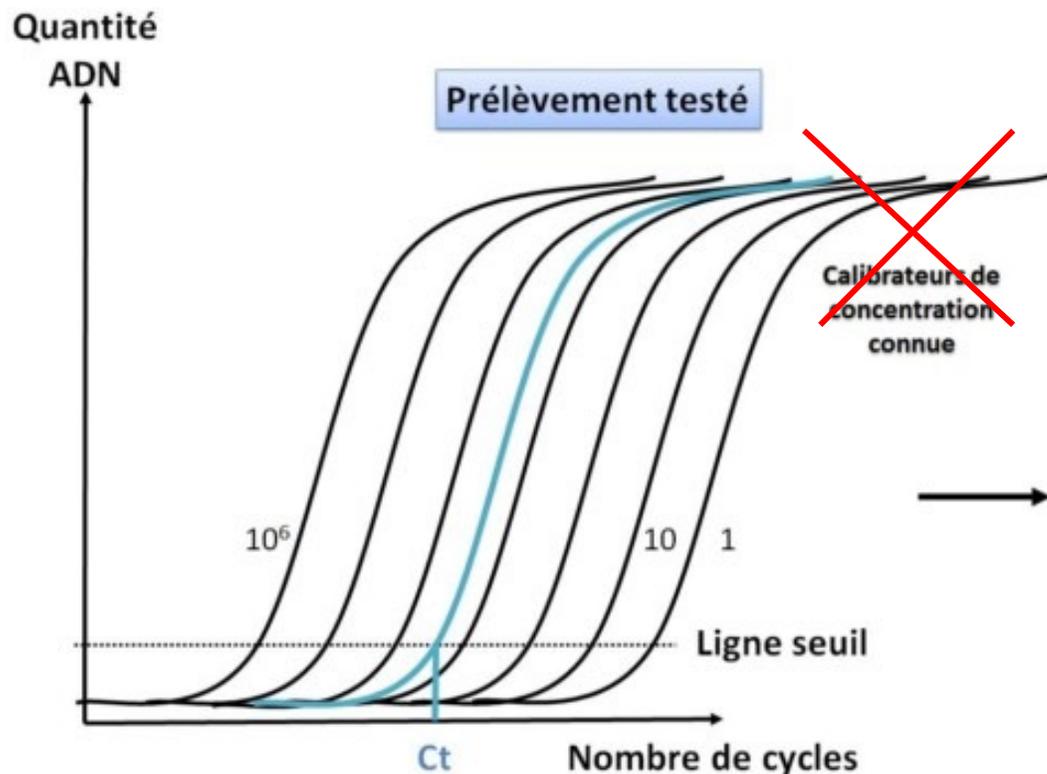


Attention !
Reproductibilité imparfaite...
Deux charges virales sont différentes si l'écart est supérieur à 0,5 log (charge virale multipliée par 3)

PCR en temps réel: C_t versus charge virale

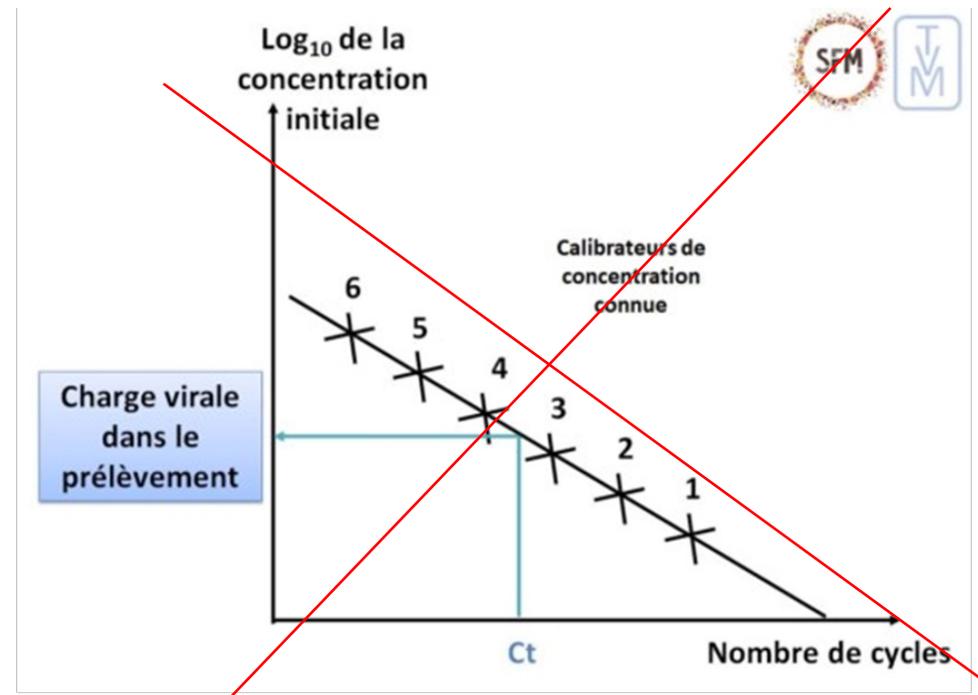
Notion de CT : cycle threshold

- Nombre de cycle de PCR nécessaire pour dépasser un seuil donné
- **INDICATION** quantité de génome viral présent dans le prélèvement



Notion de ct : LIMITES techniques

- Qualité du prélèvement +++
 - Types de prélèvement (quantité de milieu de transport, LBA, selles...)
 - Non reproductible entre les techniques
- PAS UNE CHARGE VIRALE



Charge virale : avec une gamme d'étalonnage

PCR sur des prélèvements respiratoires

Notion de ct : Interprétation dans les prélèvements respiratoires

■ Qualité du prélèvement

- Nasopharyngé : opérateur dépendant, dilution dans le milieu de transport

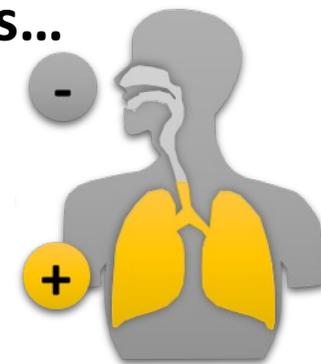
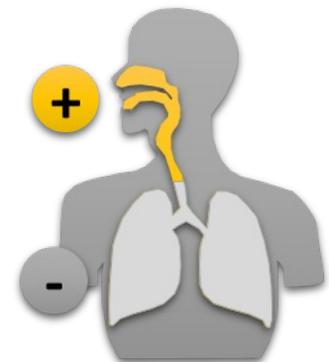
■ Type de prélèvement → Prélèvement respiratoire profond LBA/PDP/aspirations...

- Zone aspirée
- LBA : volume de liquide injecté/récupéré

■ → Evaluation de la cellularité? Normalisation?

- Compte des cellules dans le prélèvement...
- Quantification de l'albumine...

■ Différences entre les techniques....



Techniques de PCR en temps réel

Notion de ct : Interprétation dans les prélèvements respiratoires



■ Différences entre les techniques....

- mpox virus appartient au MOT → manipulation en LSB3
- Inactivation du prélèvement : lyse? Chaleur? → on suit ce que nous dit le CNR → Chaleur → tampons de lyses différents et pas tous adapté à nos extracteurs)
- PCR en début d'épidémie: technique « in-house » basée sur article et validée par le CNR

Journal of Virological Methods 169 (2010) 223–227



Short communication

Real-time PCR assays for the specific detection of monkeypox virus
West African and Congo Basin strain DNA

Yu Li*, Hui Zhao, Kimberly Wilkins, Christine Hughes, Inger K. Damon

Techniques de PCR en temps réel

Notion de ct : Interprétation dans les prélèvements respiratoires

■ Différences entre les techniques....

- mpox virus appartient au MOT → manipulation en LSB3
- Inactivation du prélèvement : lyse? Chaleur? → on suit ce que nous dit le CNR → Chaleur → tampons de lyses différents et pas tous adapté à nos extracteurs)
- PCR en début d'épidémie: technique « in-house » basée sur article et validée par le CNR



IC Simplexa: 1 µl pour 10 µl d'éluat

Préparation du mélange réactionnel

Monkeypox

Master Mix :	2.0 µl x =	13.6
MgCl ₂ (25mM) :	2.4 µl x =	163.2
Primer G2RG F (10µM) :	1.0 µl x =	6.8
Primer GRG R (10µM) :	1.0 µl x =	6.8
Sonde G2RG (25µM) :	0.2 µl x =	13.6
H ₂ O :	8.0 µl x =	54.4
Amplification ADN:	0.4 µl x =	27.2
Control Primer Pair		

Handwritten calculations:
12
6.8
163.2
6.8
6.8
13.6
54.4
27.2
13.6

15 µl de mixed + 5 µl d'ADN
AJOUTER UN TPOS A CHAQUE SERIE

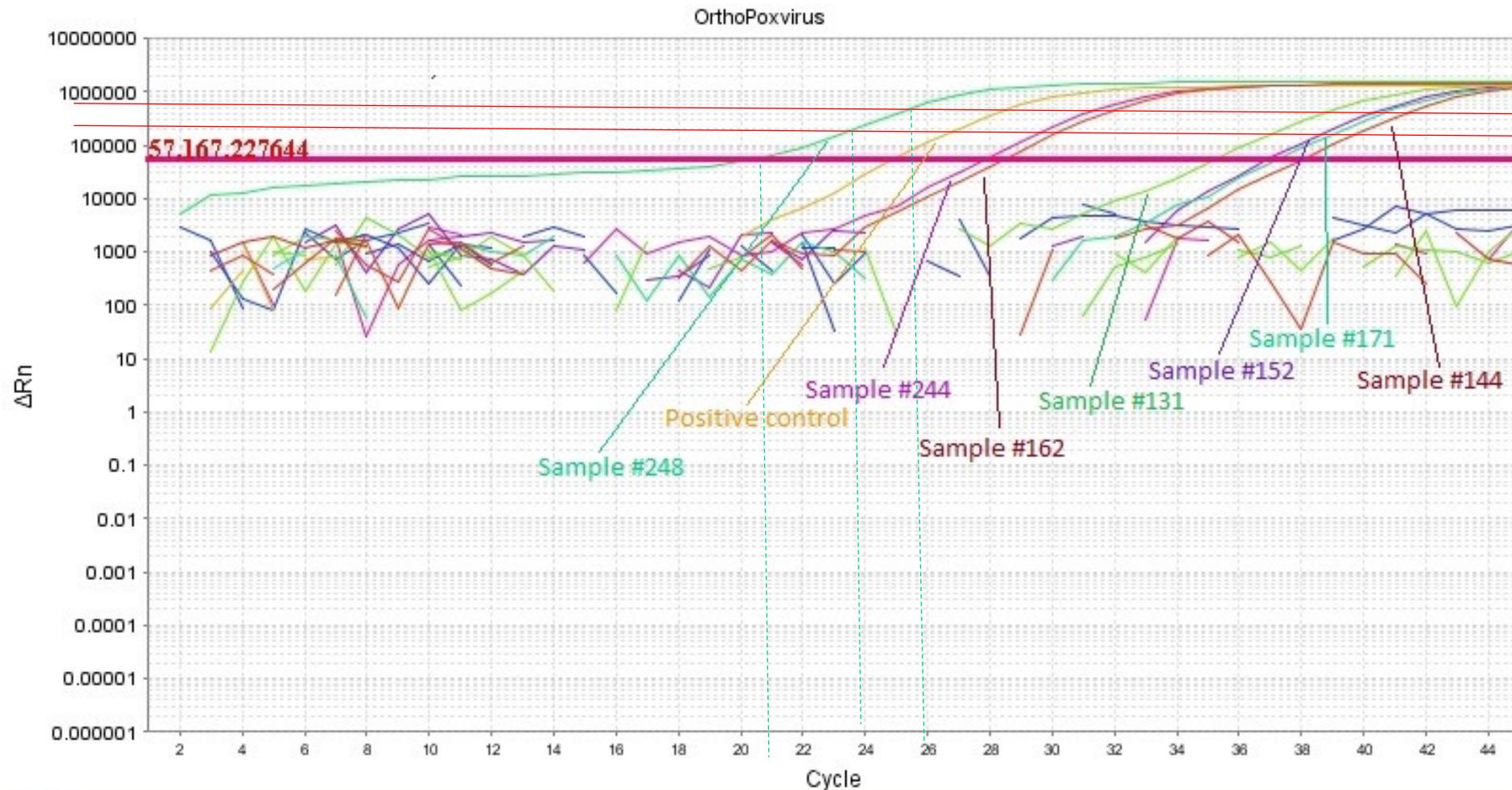


Techniques de PCR en temps réel

Notion de ct : Interprétation dans les prélèvements respiratoires

■ Différences entre les techniques....

- PCR en début d'épidémie : technique « in-house » basée sur article et validée par le CNR



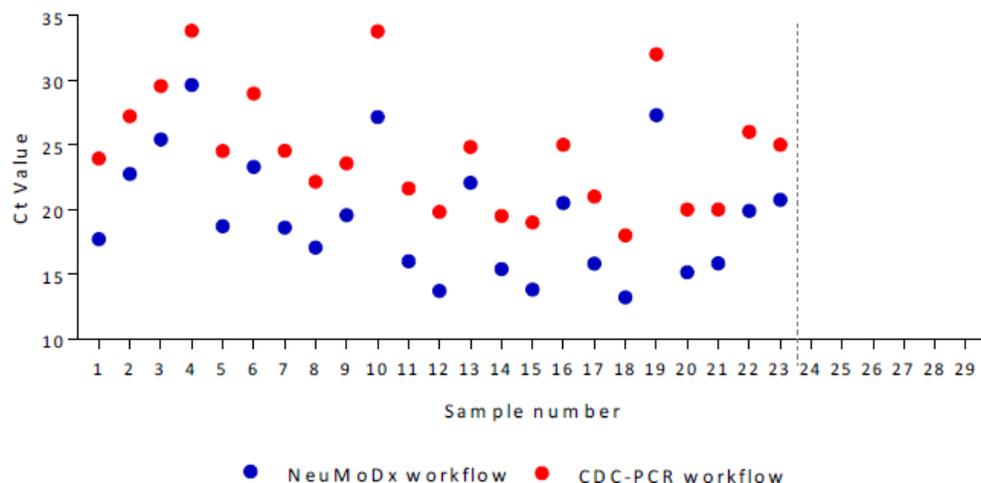
Techniques de PCR en temps réel

Notion de ct : Interprétation dans les prélèvements respiratoires

■ Différences entre les techniques....

- PCR fin de l'été :
 - Sur la plupart des prélèvements : passage en technique automatisée
 - Technique « in-house » sur les matrices difficiles/non validées
- Ct plus précoces +++ sur la technique automatisée

- All positive samples gave Ct values approximately 6 Cts earlier when compared to the CDC PCR protocol (Figure 1).



(Saint-Joannis et al, ESCV conference, 2022)

	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 11	Day 15	Day 17	Day 36
Perineal lesion	19	~		~	~	~	~	~
Oral lesion	~	29		~	~	~	~	~
Pleural effusion	41	~	Not detected	39	~	~	Not detected	~
Plasma	~	38	38	38	39	~	~	Not detected
Broncholalveolar lavage	~	36	~	~	~	~	~	~
Tracheal aspiration	~	~	34	35	37	36	~	~
Cerebro spinal fluid	~	Not detected	~	~	~	~	~	~
Urine	~	~	39	35	~	Not detected	~	~

Pneumonie à monkeypox virus (?)

- Pas vraiment de diagnostic alternatif convaincant
 - Tous les autres agents infectieux, y compris viraux revenus négatifs dans le LBA
 - TRALI ? A reçu 2 culots le jour de l'aggravation respiratoire
- « Rare mais classique »
- Bizarre qu'elle s'améliore si vite



Monkeypox

human monkeypox



Search

[Advanced](#) [Create alert](#) [Create RSS](#)

[User Guide](#)

Save

Email

Send to

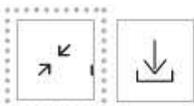
Sorted by: Publication date ↓

Display options

RESULTS BY YEAR

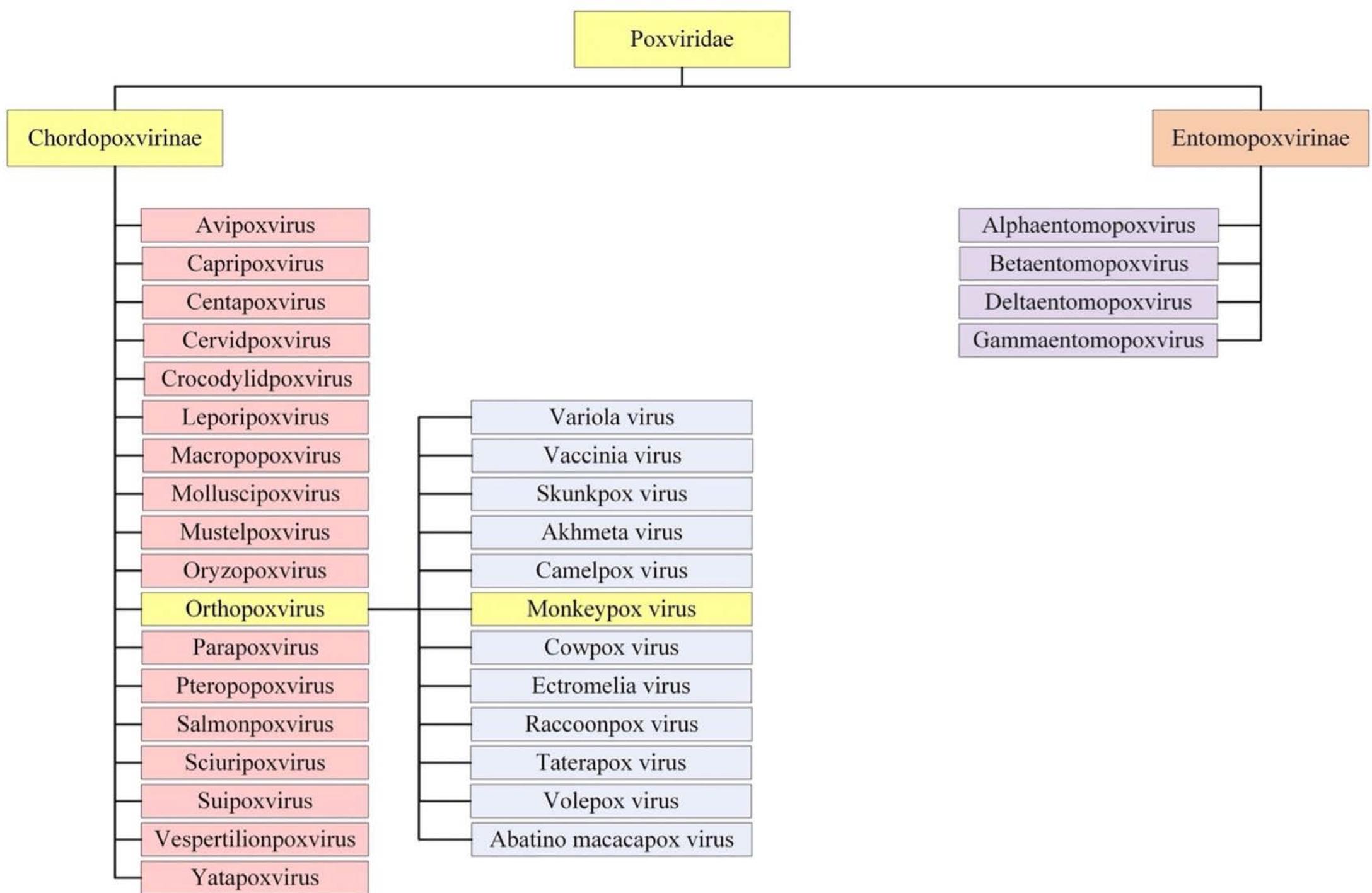
1,603 results

Page 1 of 9



1968

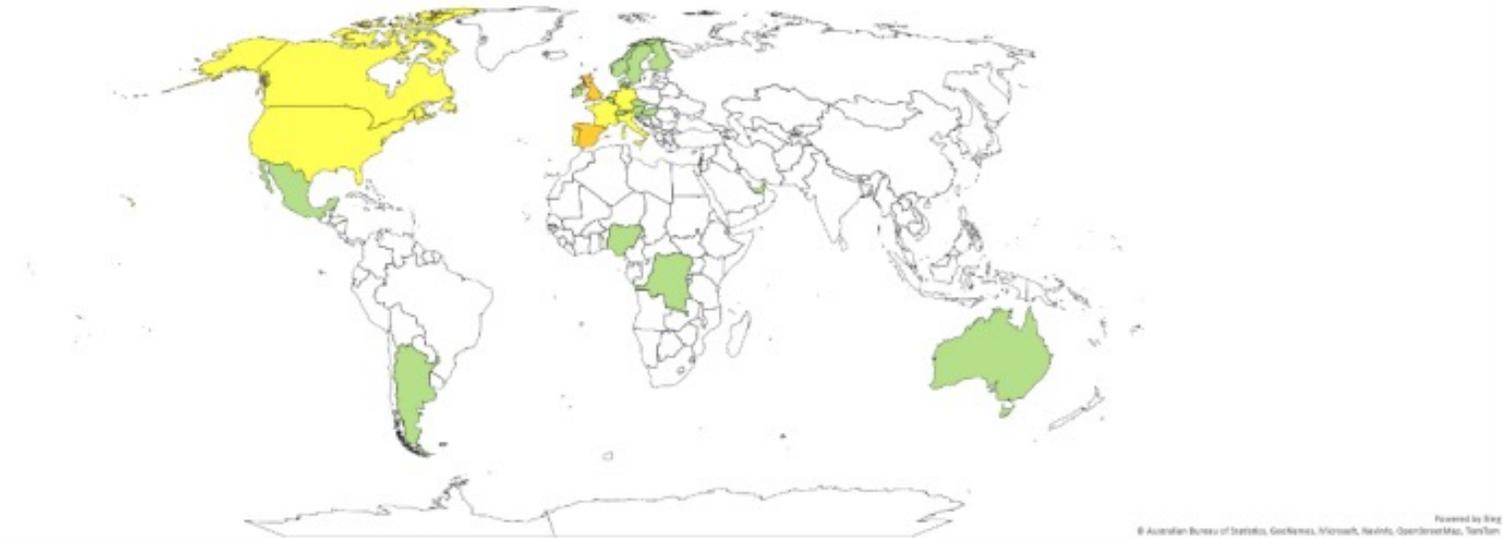
2023



- Virus à ADN bicaténaire
- Isolé fortuitement en 1958 au Danemark chez des macaques (virus contaminant les cultures cellulaires pour vaccins contre la Polio)
- 1970: 1^{er} cas humain RD Congo. Cas sporadiques (chez non vaccinés contre la variole) => Cas sporadiques. Pas d'épidémie.
Contamination animal => homme (chasse)
- 1996-1997: 1^{ère} épidémie en RDC puis au USA.
Contamination homme => homme

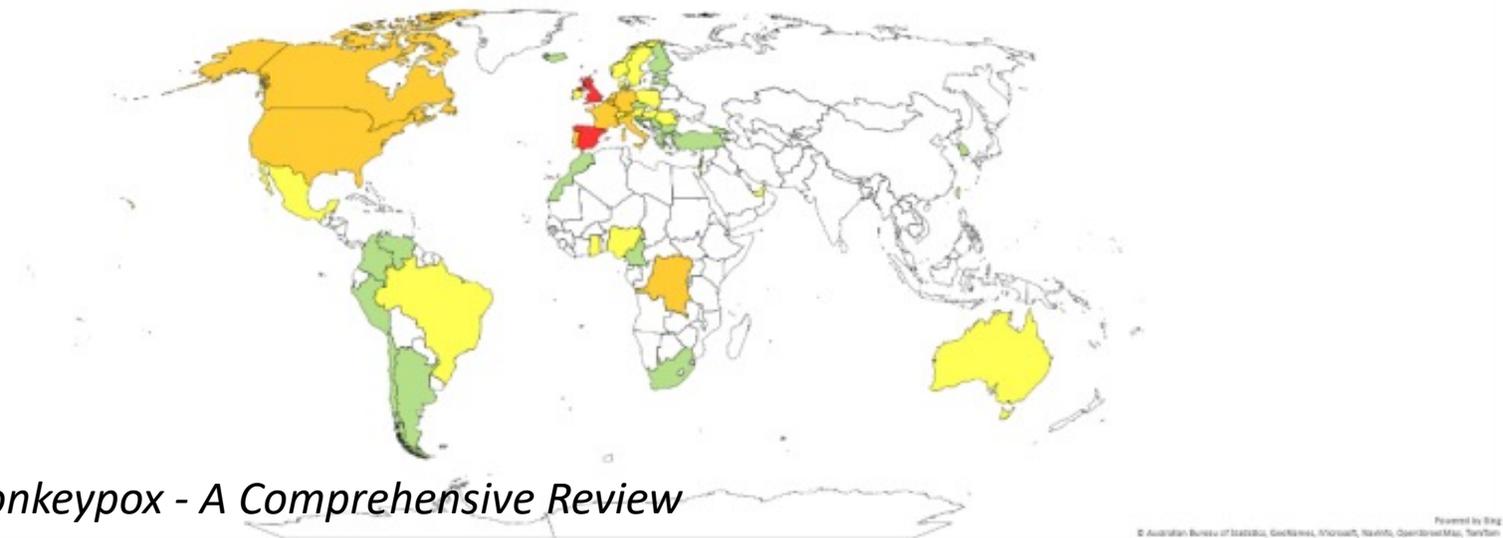
Number of confirmed cases by the end of May 2022

■ 1 to 10 ■ 11 to 100 ■ 101 to 1000



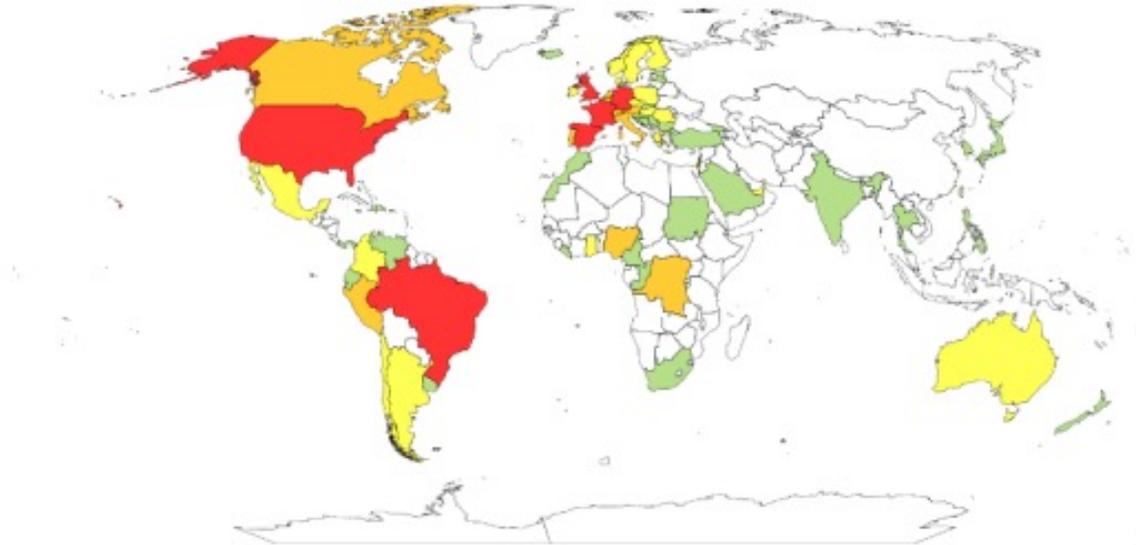
Number of confirmed cases by the end of June 2022

■ 1 to 10 ■ 11 to 100 ■ 101 to 1000 ■ > 1000



Number of confirmed cases by the end of July 2022

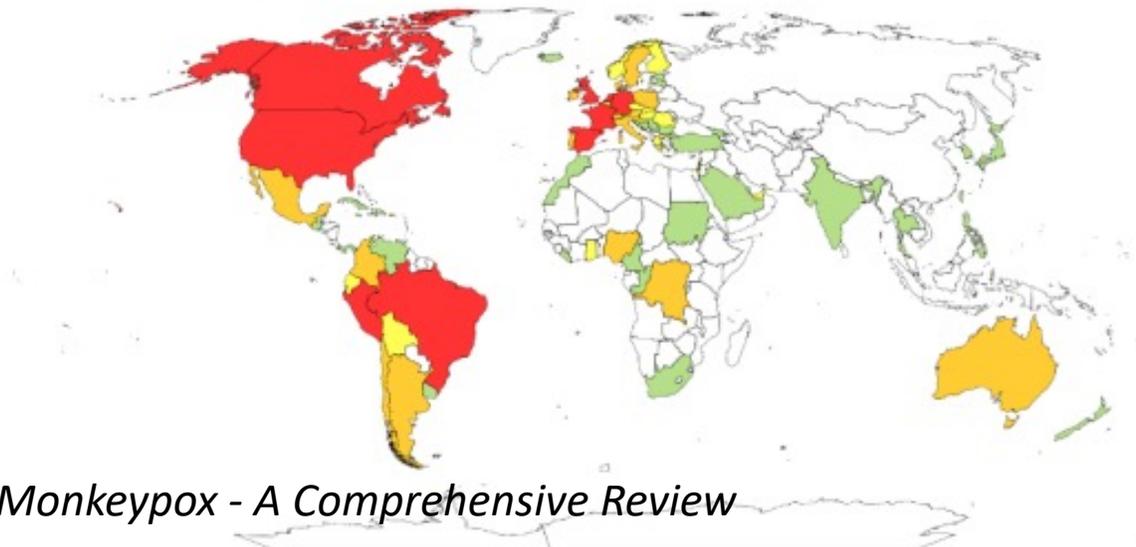
■ 1 to 10 ■ 11 to 100 ■ 101 to 1000 ■ > 1000



Powered by Bing
© Australian Bureau of Statistics, GeoNames, Microsoft, NavInfo, OpenStreetMap, TomTom

Number of confirmed cases by the end of August 2022

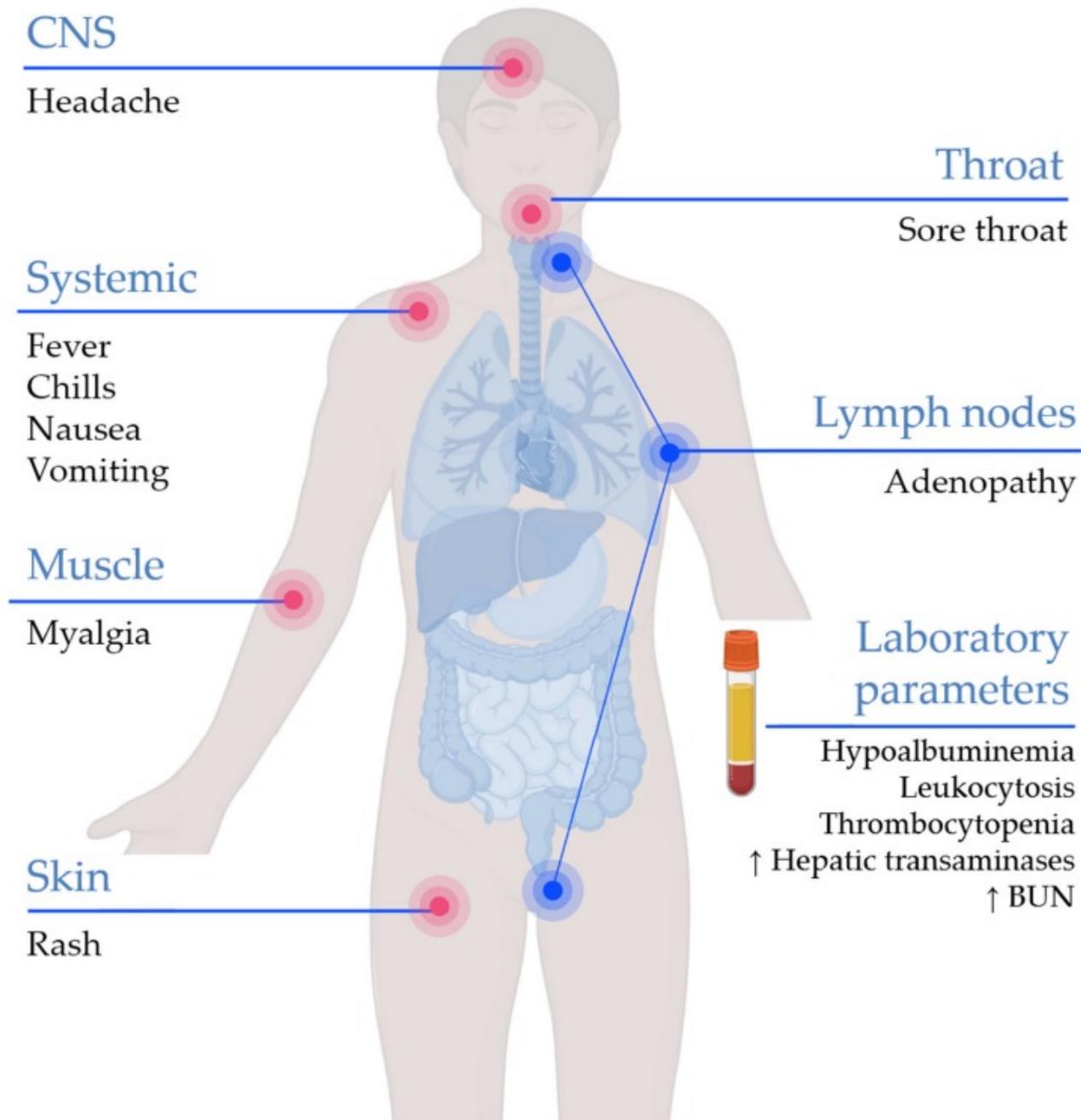
■ 1 to 10 ■ 11 to 100 ■ 101 to 1000 ■ > 1000

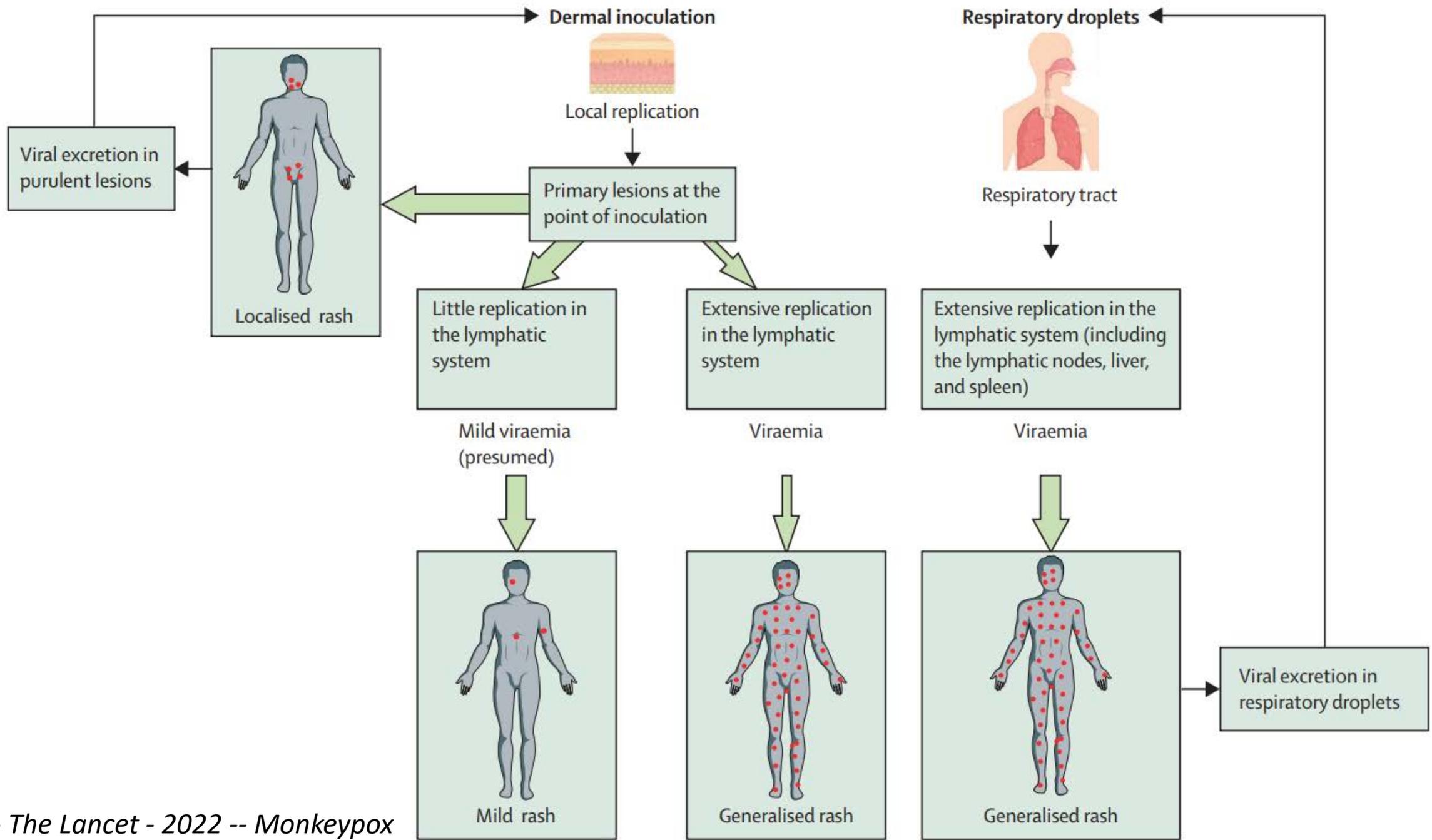


Powered by Bing
© Australian Bureau of Statistics, GeoNames, Microsoft, NavInfo, OpenStreetMap, TomTom

Table 1. Clinical symptoms reported in monkeypox infection.

Publication	Huhn et al. [61]	Pittman et al. [62]	Adler et al. [63]	Yinka-Ogunleye et al. [64]
Country	U.S.	Democratic Republic of the Congo	U.K.	Nigeria
Number of patients	37	216	7	122
Fever	87%	18.5%	42%	79%
Rash	97%	99.5%	100%	88%
Malaise	-	85.2%	-	50%
Myalgia	56%	6.9%	-	58%
Chill	71%	44.9%	-	65%
Adenopathy	71%	57.4%	71%	69%
Headache	65%	23.6%	-	79%
Sore throat	60%	78.2%	-	58%





	2022 outbreak	Previous outbreaks
Population features		
Mean age	37–41 years	26–32 years
Smallpox vaccination in childhood	11–18%	20%
Incubation period	6–7 days	12 days
Sex		
Male	97–100%	53–78%
Female	0–3%	22–47%
Systemic features		
Systemic symptoms	Fever (54–72%), fatigue or myalgia (24–81%), and headache (25–53%)	Fever (45–90%), fatigue or myalgia (73–85%), and headache (48–79%)
Lymphadenopathy	55–87%, localised in the lymph catchment area of lesions	57–87%, localised or generalised
Systemic symptoms start after rash	38–52%	15–66%
Clinical features of the rash		
More than 10 lesions	22–36%	100%
More than 20 lesions	12%	46%
More than 100 lesions	0–4%	20–42%

Outcome

Complications	Rectal pain (14–36%), sore throat (17–36%), difficulty swallowing related to tonsillar or pharyngeal ulcer (5–14%), penile oedema (8–16%), proctitis (11–25%), secondary bacterial infection (3–4%), and conjunctivitis (1%)	Secondary bacterial infection of skin lesions (19%), bronchopneumonia (12%), sepsis (1%), encephalitis (0.4%), keratitis (0.4%), and retropharyngeal abscess (0.4%)
Hospital admission	1–13%	26%
Risk factors for severe disease	Unknown	Age (younger ages are more at risk), living with HIV and not being on antiretroviral therapy
Fatality rate	<0.1%	Clade 1 had 1–12%, clade 2 had <0.1%

Sexual health

Living with HIV	36–67%	ND
Concomitant STI	16–76%	ND
History of STI in past 12 months	54–55%	ND

Data were retrieved from published cohorts including 30 or more patients with monkeypox.^{12–14,23,32–35,38} ND=no data. STI=sexually transmitted infections.

Des formes graves?

Morbidity and Mortality Weekly Report

Severe Monkeypox in Hospitalized Patients — United States, August 10–October 10, 2022

57 cas recensés comme graves sur 27.884 cas
0.2%

TABLE 1. Characteristics of hospitalized patients with severe manifestations of monkeypox* for whom CDC provided clinical consultation (N = 57) — United States, August 10–October 10, 2022

Characteristic	No. (%)
Median age, yrs (range)	34 (20–61)
Sex	
Male	54 (94.7)
Race and ethnicity	
Black or African American, non-Hispanic	39 (68.4)
White, non-Hispanic	8 (14.0)
Hispanic or Latino	8 (14.0)
Asian, non-Hispanic	1 (1.8)
Multiple races, non-Hispanic	1 (1.8)
Experiencing homelessness[†]	13 (22.8)
Any immunocompromising condition[§]	51 (89.5)
HIV infection	47 (82.5)
History of solid organ transplantation	3 (5.3)
Hematologic malignancy (current chemotherapy)	2 (3.5)
Pregnant	
Clinical manifestation	
Dermatologic	57 (100.0)
Mucosal**	39 (68.4)
Pulmonary	12 (21.1)
Ocular	12 (21.1)
Deep tissue (muscle or bone)	5 (8.8)
Neurologic	4 (7.0)

TABLE 2. Laboratory and treatment characteristics of hospitalized patients with HIV infection and severe monkeypox* for whom CDC provided clinical consultation (N = 47) — United States, August 10–October 10, 2022

Characteristic (no. with information available)	No. (%)
HIV CD4, cells/mm³ (43)	
<50	31 (72.1)
50–200	9 (20.9)
>200	3 (7.0)
HIV Treatment (47)	
On ART at the time of monkeypox diagnosis	4 (8.5)

Abbreviation: ART = antiretroviral therapy

Avec CD4<50/mm3, on a le droit d'avoir autre chose que le monkeypox

the clinical asp.

Notre patiente n'a pas le VIH...



Lethal Monkeypox Virus Infection of CAST/EiJ Mice Is Associated with a Deficient Gamma Interferon Response

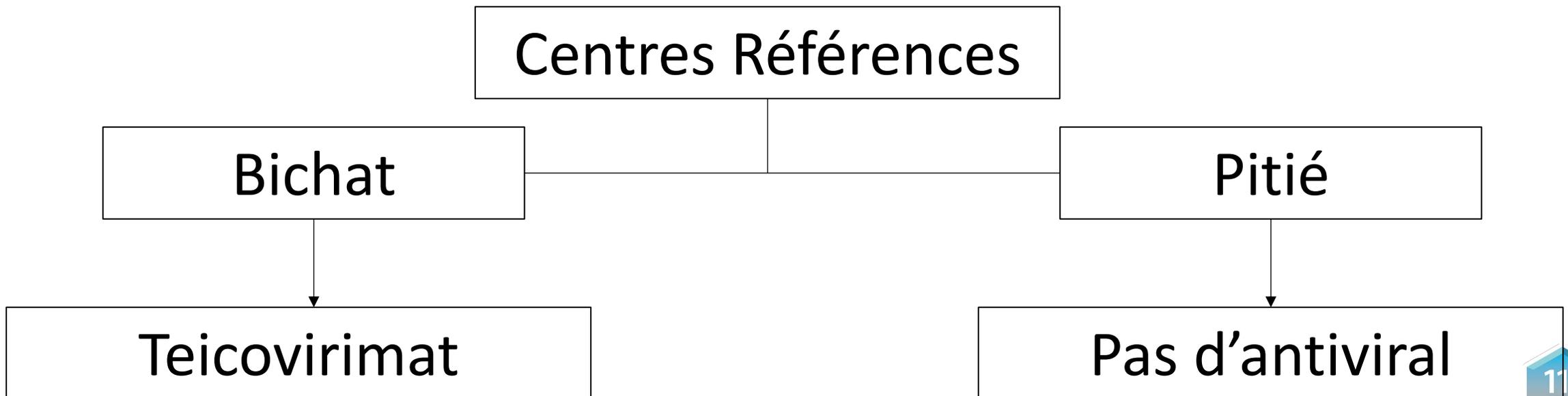
Patricia L. Earl, Jeffrey L. Americo, and Bernard Moss

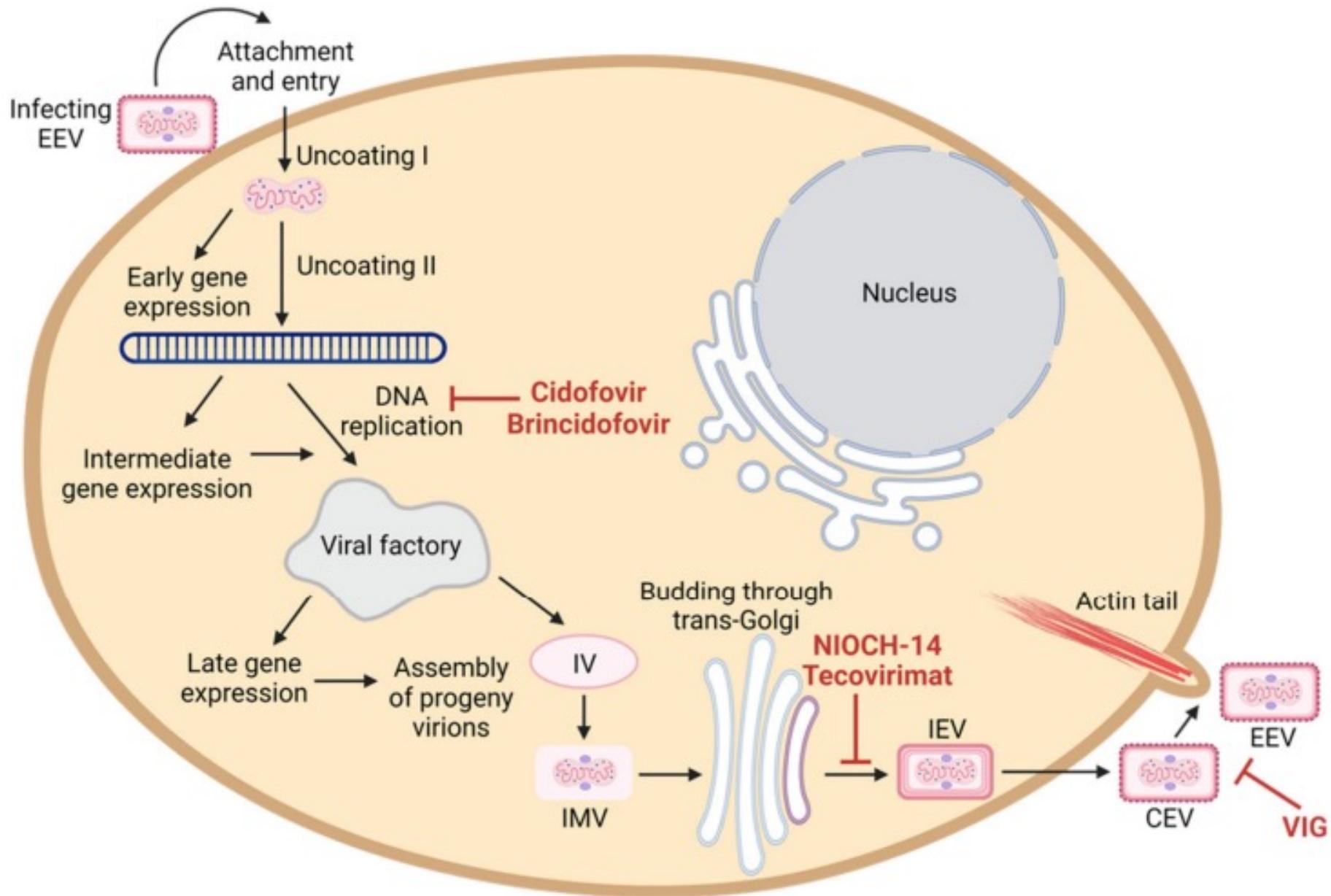
Laboratory of Viral Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA

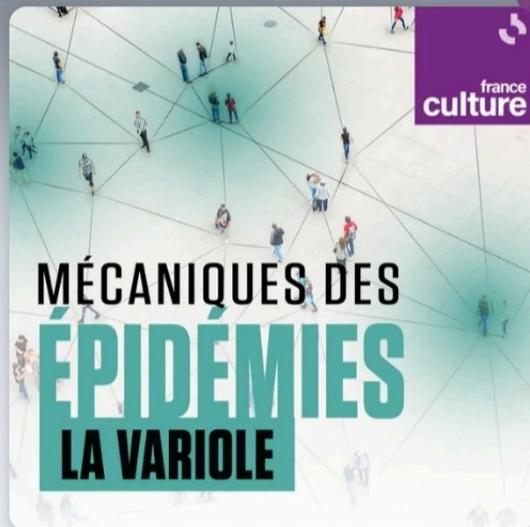
Anticorps anti-IFN négatifs, en tous cas à un taux neutralisant

Traitement

- Symptomatique
- Aucun antiviral validé







Mécaniques des épidémies, saison 6 : la variole



PARTAGER



SUIVRE

Depuis près de 40 ans, la variole a été éradiquée de la surface de la terre. Appelée aussi "petite vérole", elle a été un ennemi mortel pendant des siècles. En quatre épisodes, l'épidémiologiste et professeur Renaud Piarroux vous conduit jusqu'à l'origine de ce fléau, qui a dépeuplé des continents.

Take home messages

- Il faut chercher la maladie que le malade a et pas celle que l'on veut qu'il ait
- Regardons le passé
- Il faut chercher si on veut trouver (même si parfois on ne sait pas ce qu'on trouve)
- Discussion essentielle entre cliniciens & microbiologistes

