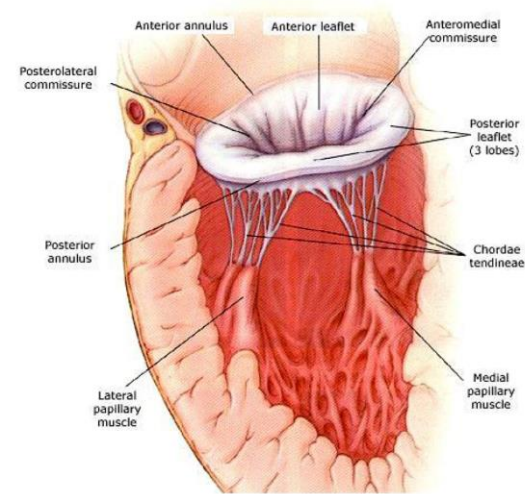
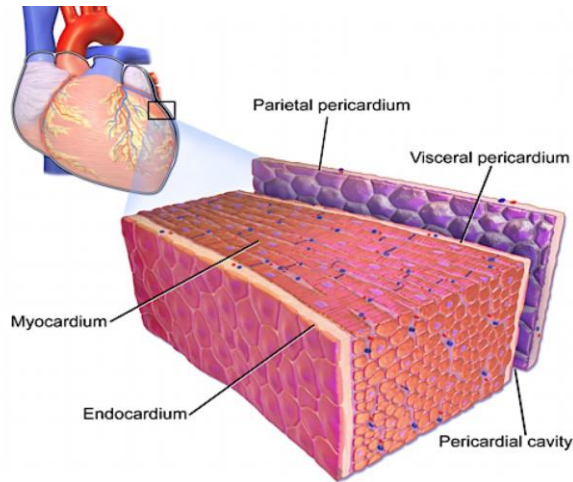


Oppuntstelling van de laboratoriumdiagnostiek van virale myocarditis

Paul-Emile Claus
Microbiologie, OLVZ Aalst
11 december 2018

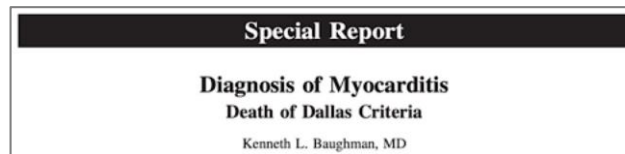


Myocarditis



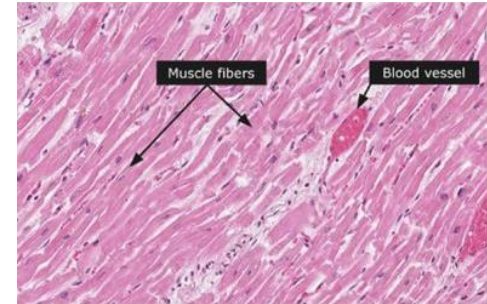
- Acut of chronisch inflammatoire aandoening vd hartspier
- < Infectieuze en niet-infectieuze triggers
- Meestal virale infectie (+/- 50%)
- (Post-viraal) immuun-gemedieerde respons
- Heterogeen ziektebeeld
- Acut / chronisch hartfalen – (plotse) dood

- Patiënten: 20–51j
- ♂ > ♀
- +/-10% in biopten van patiënten met onverklaard hartfalen
- +/-12% van de plotse dood presentaties bij patiënten <40 jaar
- Diagnose:
 - Histopathologie (Dallas criteria 1986):
"Inflammatoir infiltraat (lymfocytair, neutrofiel, eosinofiel, giant cell...) al dan niet met myocardnecrose, niet veroorzaakt door een ischemisch event."
 - ➔ Myocarditis with/without fibrosis, borderline myocarditis, no myocarditis

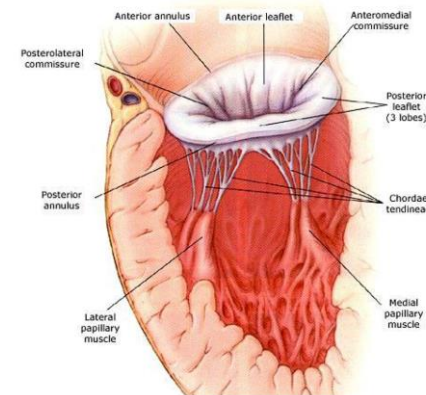


- Immunologische en immuunhistochemische criteria (WHO 1995)
- Virale PCR
- Kliniek, biochemie (troponines), echocor en MRI hart

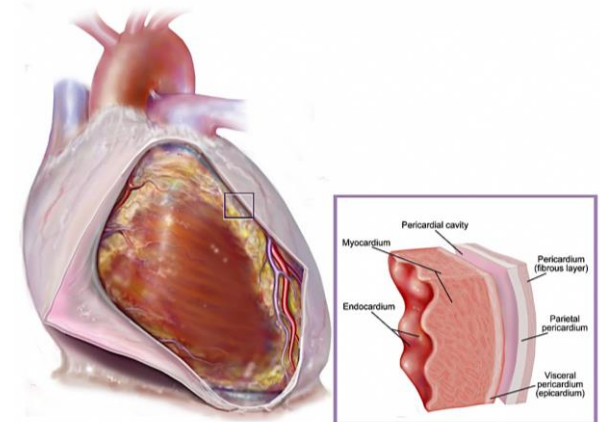
- Myocard
 - Onwillekeurig dwarsgestreept spierweefsel
 - Bloedvaten
 - Bindweefsel



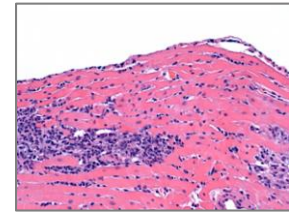
- Hartkleppen
 - < Endocardweefsel
 - $\approx$ endotheelcellen in de bloedvaten
 - Endocarditis
 - Etio: vnl. Bacterieel



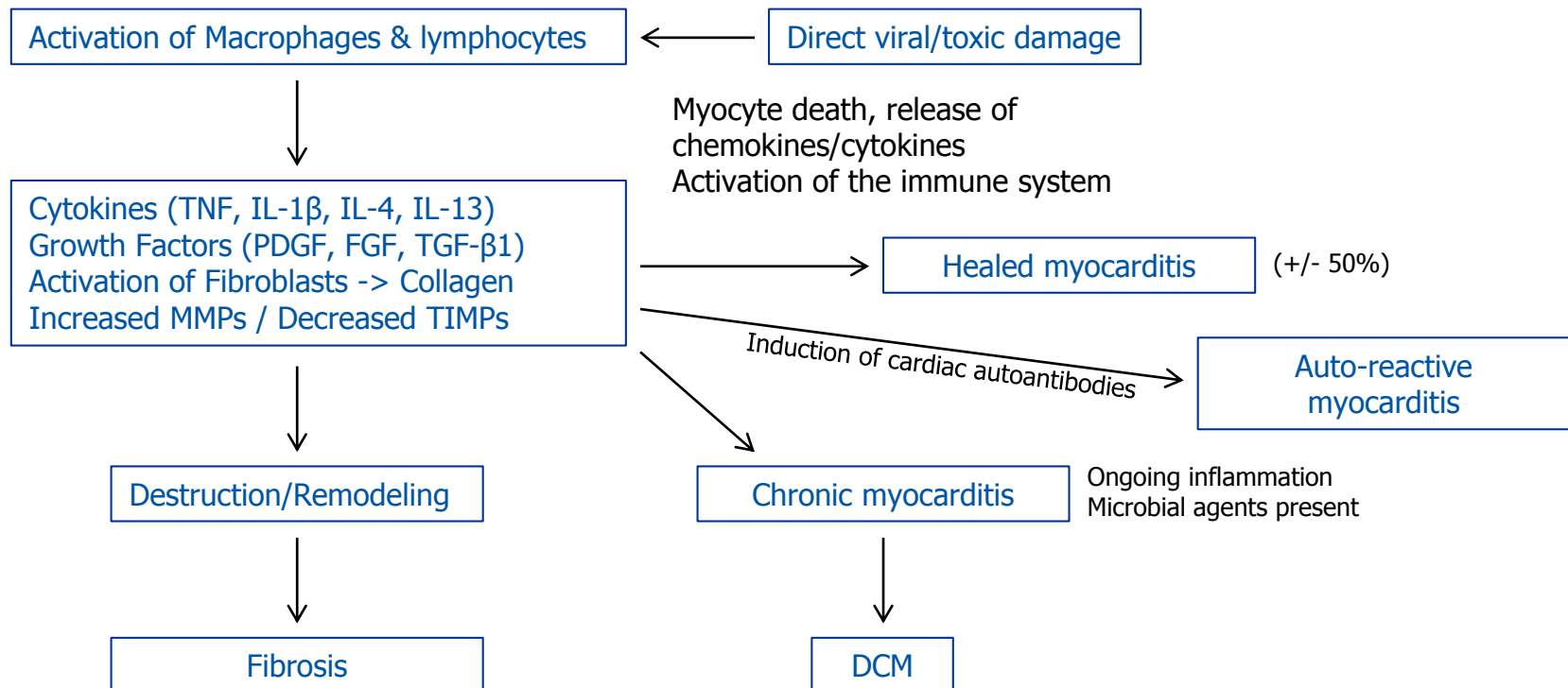
- Pericard
 - Hartzakje: visceraal en pariëtaal blad, pericardiale ruimte
 - Perimyocarditis / myopericarditis
 - Etio: cfr. myocarditis
 - Harttamponade



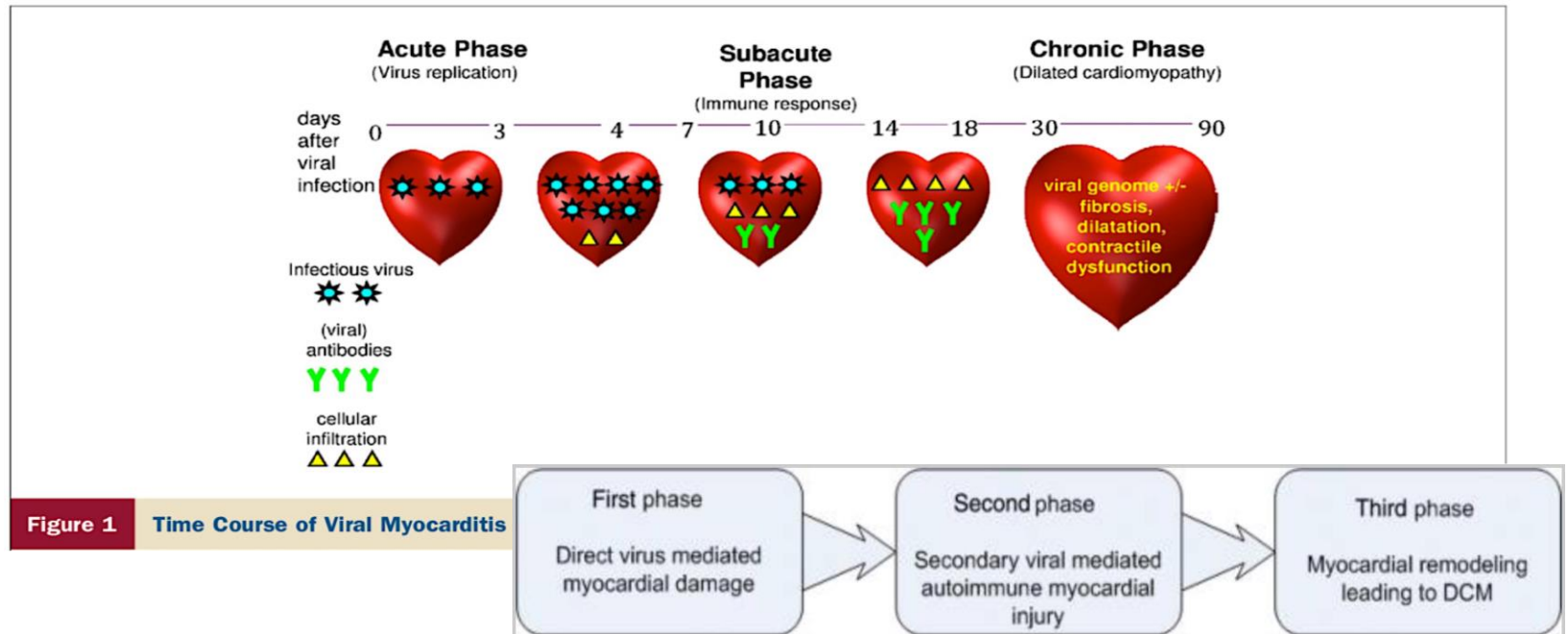
Pathofysiologie



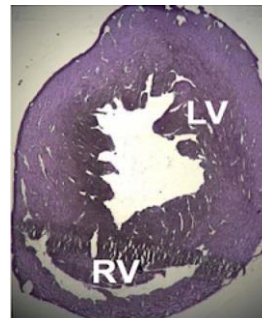
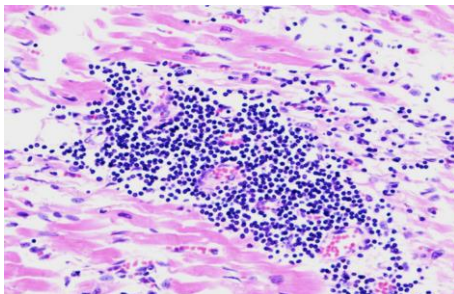
- Direct, cytolytisch effect < infectieus of toxisch agens
- Humorale & cellulaire immuunrespons via specifieke pathways
 - ➔ Volledig herstel (50%)
 - ➔ Aanhoudende destructie/remodelling (+/- 1/3)
- Progressieve dilatatie, DCM en chronisch hartfalen



- Verschillende fases



Kindermann I et al. JACC 2012



Oorzaken

Infectieus

- Viraal (35 – 50%):
 - RNA virussen: enterovirussen (coxsackie B en echovirussen), Influenza A & B, RSV, HCV, HIV-1
 - DNA virussen: Parvovirus B19, adenovirus, EBV, CMV, HHV6
- Bacterieel: *H. influenzae*, *M. tuberculosis*, *M. pneumoniae*
- Spirocheten: *B. burgdorferi* (Lyme); *Leptospira* (Weil)
- *Trypanosoma cruzi* (Chagas) in Centraal- en Zuid-Amerika
- Fungi, parasieten, protozoa: zeer zeldzaam

Niet-infectieus

- Immuungemedieerd:
 - Auto-immuun: SLE, reumatoïde artritis, Churg-Strauss, Kawasaki, connective tissue disease, Wegener's granulomatosis, inflammatoire darmziekten, sclerodermie, polymyositis, sarcoidose
 - Idiopathisch: niet-infectieuze lymfocyttaire myocarditis, giant-cell myocarditis
 - Allo-antigeen: afstoting harttransplant
 - Allergisch: tetanus toxines, vaccins, medicatie (azithromycine, tetracyclines, sulfonamiden, colchicine, furosemide, lidocaïne, thiaziden...)

Niet-infectieus

- Toxisch:
 - Medicatie/drugs: amfetamines, anthracyclines, cocaïne, ethanol, cyclofosfamide, fluorouracil, catecholamines, trastuzumab, clozapine
 - Zware metalen: koper, ijzer, lood, arsenicum
 - Hormonaal: feochromocytoom, vitamine-tekort (bijv. beri-beri)
 - Andere: schorpioen-, slang- of spinnenbeet, wespensteek, CO-vergiftiging, elektrische shock, bestraling

Symptomatologie

- Dyspnoe (72%)
- ↑ of aanhoudende vermoeidheid
- Angor in rust (32%)
- Hartkloppingen (18%)
- Arritmieën
- Duizeligheid
- Syncope
- Perifere oedemen
- Cardiogene shock
- Plotse dood
- Eventueel bijkomende bevindingen:
 - Recente virale respiratoire of G-I infectie?
 - (Familiale) Voorgeschiedenis: perimyocarditis, hartfalen, DCM, plotse dood, allergieën, astma, auto-immuunaandoeningen?
 - Peri-partale periode?
 - Medicatie, toxische producten, contact zware metalen?
 - Steeds uitsluiten ischemisch coronairlijden (leeftijd en levensstijl)

Diagnostiek

- Niet-invasief

- Klinisch onderzoek

- Labo:

- HS-cTnT / TnI
- Inflammatoire markers
- proBNP (€)

- ECG:

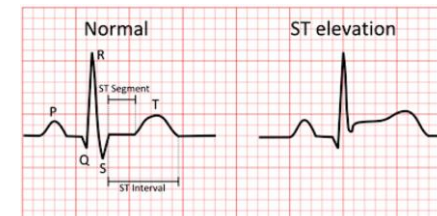
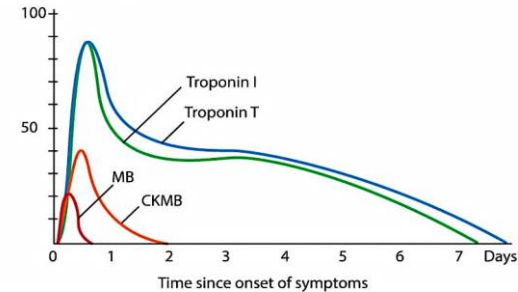
- Aspecifieke ST veranderingen
- $\approx$ AMI/pericarditis: concave ST-elevatie, negatieve T-top
- Sinustachycardie, tachyarritmieën
- Pathologische Q-golven

- Holter

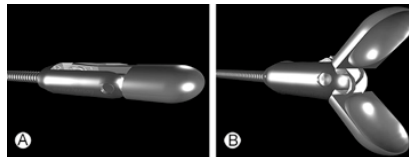
- Echocardiografie

- MRI hart

Blood levels of myocardial proteins
(times elevated over the reference limit)



- Invasieve onderzoeken:
 - Coronarografie: uitsluiten ischemisch coronairlijden
 - Endomyocard biopsies (EMB)
 - APO: histopathologie, immunohistochemie
 - Viraal PCR
 - Bevestiging diagnose myocarditis
 - Type inflammatie (lymfocytair, eosinofiel, giant cell, sarcoidose...)
 - Identificatie onderliggende etiologie
 - Lage complicatie rate ($< 1\%$)



Critically Appraised Topic

- Ziekte met waarschijnlijk hogere prevalentie
 - Complexe pathogenese
 - Heterogeen ziektebeeld
 - Betere diagnostiek mogelijk?
-
- Waarom is de laboratoriumdiagnostiek voor virale myocarditis zo complex en de meerwaarde van serologie gering?
 - Hoe kunnen we in het labo microbiologie in het OLVZ Aalst onze adviezen over de best aan te vragen onderzoeken optimaliseren binnen een breder, klinisch-diagnostisch algoritme?

Serologie?

- Retrospectieve analyse OLVZ Aalst
- 33 nieuwe myocarditis-patiënten (april 2008 – september 2017)
 - 30/33 pt: 1 of meerdere serologische tests
 - 26/33 pt: EMB voor APO
 - ↳ 5/26 pt. ook EMB PCR
 - 13/33 pt: PCR CMV en EBV op bloed
 - 19/33 pt: PCR op respiratoire stalen: panel
- Einddiagnose myocarditis: obv kliniek, beeldvorming, biochemie en APO (indien EMB afgenomen)
- Opbrengst serologische testen?
- Correlatie serologie – moleculair onderzoek?

Aanvraagpatroon

- Aangevraagde serologie:

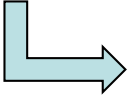
- 57% (17/30) PVB19, CMV, EBV + toxoplasma, borrelia, HSV, VZV, HCV, HIV en/of coxsackievirus B
- 20% (6/30) PVB19, CMV, EBV, HSV en VZV
- 7% (2/30) enkel PVB19
- 7% (2/30) CMV en EBV
- 3% (1/30) PVB19, CMV en EBV
- 3% (1/30) PVB19 en HHV6 (indirecte immunofluorescentie)
- 3% (1/30) CMV, HSV, VZV en toxoplasma

Infectieus agens	Aantal patiënten	%
PVB19	27/30	90
CMV	27/30	90
EBV	26/30	87
HSV	17/30	57
VZV	15/30	50
Toxoplasma	14/30	47
Borrelia	12/30	40
HCV	8/30	27
HIV	8/30	27
Coxsackie B virus	8/30*	27
HHV6	1/30	3

Verdeling van de aangevraagde serologische testen

Resultaten

- 4 patiënten met positieve serologie (IgM + IgG):
 - Patiënt 1: CMV IgM zwak positief (net boven cut-off); CMV IgG sterk positief. CMV IgM en IgG onveranderd 2 maand later.
-> Voorafgaande CMV immuunstatus onbekend
 - Patiënt 2: CMV IgM en IgG zwak positief + onveranderd 1 maand later
-> PCR CMV op bloed negatief
-> Voorafgaande CMV immuunstatus onbekend
 - Patiënt 3: HHV6 IgM positief; HHV6 IgG zwak positief (via indirecte immunofluorescentie)
 - Patiënt 4: CMV en PVB19 IgM positief; CMV IgG zwak positief + oplopend
-> PCR CMV op bloed zwak positief (< 5000 kopieën/mL)

- 26/33 patiënten: EMB
 - 10/26 (38%) APO positief met klassieke histologie
 - Bij 5/26: virale PCR op EMB:
 - Patiënt 1: adeno- en enterovirus.
APO: chron. myocarditis
Sero: CMV, EBV, PVB19, HSV, VZV negatief
 - Patiënt 2: adeno-, enterovirus en PVB19.
APO: normaal
Sero: PVB19 negatief
 - Patiënt 3: adenovirus, PVB19, CMV, EBV en HHV6.
APO: normaal
Geen sero
 - Patiënt 4 : adeno-, enterovirus, PVB19, CMV en EBV
APO: acute myocarditis
Sero: CMV, EBV, PVB19, Borrelia, toxoplasma negatief
 - Patiënt 5: adeno-, enterovirus, PVB19, CMV en EBV
APO: normaal
Sero: CMV, EBV, PVB19, Borrelia, toxoplasma negatief
-  Alle PCR op EMB negatief

- Weinig patiënten (periode 9 jaar)
- Geen standaard aanvraagpatroon
- Serologie: weinig toegevoegde waarde?
- Lage sensitiviteit en specificiteit:
 - Laattijdige opkomst IgM (EV infecties)
 - Snelle daling/verdwijning PVB-19 IgM
 - Aanhouden IgM respons maanden na acute fase van de infectie (EV)
 - Kruisreactiviteit: EBV <-> CMV of coxsackie B3 <-> niet-cardiotrope enterovirussen
 - Nood aan opvolgstalen!
 - Hoge prevalentie van cardiotrope virussen in de populatie (PVB-19, HHV, EBV IgG)



European Heart Journal (2011) **32**, 897–903
doi:10.1093/eurheartj/ehq493

CLINICAL RESEARCH

Myocardial disease

Virus serology in patients with suspected myocarditis: utility or futility?

Felix Mahfoud^{1*}, Barbara Gärtner², Michael Kindermann¹, Christian Ukena¹, Katharina Gadomski¹, Karin Klingel³, Reinhard Kandolf³, Michael Böhm¹, and Ingrid Kindermann¹

- 124 patiënten
- Serologie + EMB (histologie, IHC en PCR)

Table 2 Two by two table of virus serology and direct viral detection in EMB

	Biopsy negative	Biopsy positive	P
All patients, <i>n</i> = 124			
Serology negative	51	53	0.04
Serology positive	15	5	
IHC positive, <i>n</i> = 54			
Serology negative	18	30	0.17
Serology positive	4	2	
Time from initial symptoms to EMB ≤ 1 month, <i>n</i> = 76			
Serology negative	31	32	0.19
Serology positive	9	4	

EMB, endomyocardial biopsy; IHC, immunohistology; P, Fisher's exact test.

Sensitiviteit: 6–11%

Specificiteit: 77–82%

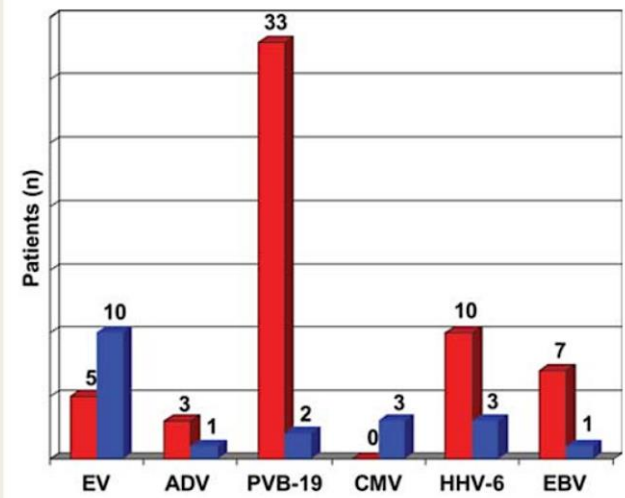
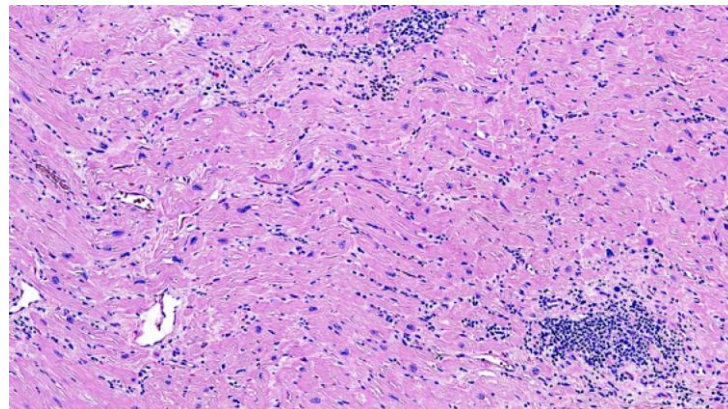
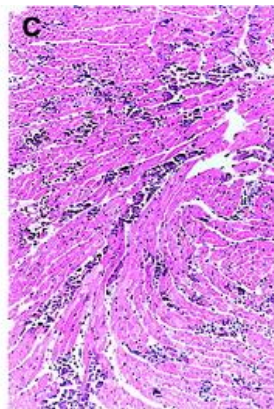
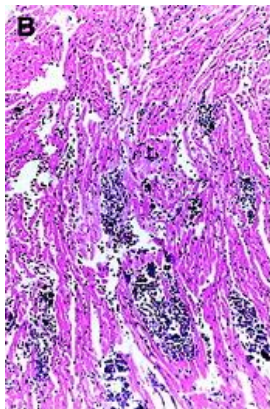


Figure 2 Prevalence of RNA- and DNA viral infection in cardiac tissue (red) and serology (blue) in patients with suspected myocarditis. EV, enterovirus (RNA); ADV, adenovirus (DNA); PVB-19, parvovirus B19 (DNA); CMV, cytomegalovirus (DNA); HHV-6, human herpesvirus (DNA) 6; EBV, Epstein-Barr virus (DNA).

- Geen correlatie aangetoond tussen virale serologie en EMB
- Serologie wel bruikbaar in vermoeden van myocarditis veroorzaakt door HCV, Lyme, HIV-1

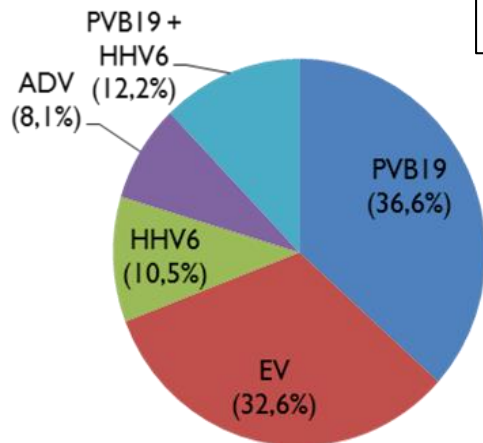
EMB

- = Gouden standaard?
- APO: klassieke histologie (Dallas criteria)
Sensitiviteit 20-30%
- Immunohistochemie: monoclonale Ab (anti-CD3, anti-CD68, anti-HLA-DR, C3d, C4d...)
Sensitiviteit beperkt ↑ tot 40-50%
- Scattered lesions



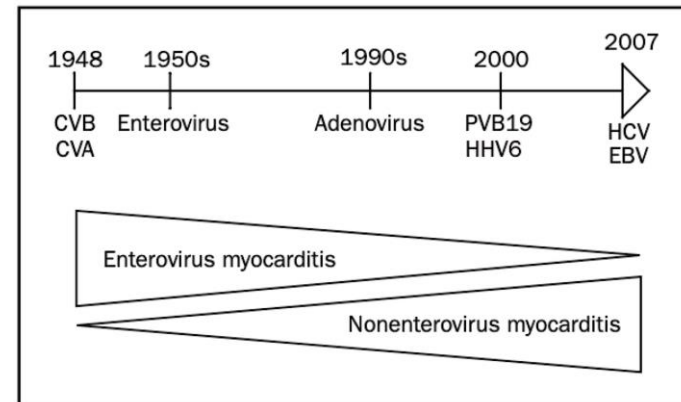
Moleculair onderzoek

- Verdeling virale verwekkers = cardiotrope virussen
 - Enterovirus (coxsackie B3), adenovirus, Parvo B19, HHV6, CMV, EBV, Influenza A en B
- Parvo B19: meest gedetecteerd
- 'Slapende' virussen (HHV6, EBV)
- Co-infecties (PVB19 + HHV6)!



N=172

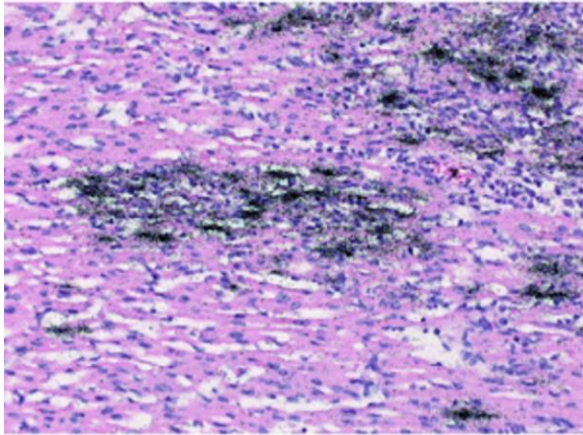
Kühl et al. Circulation 2005



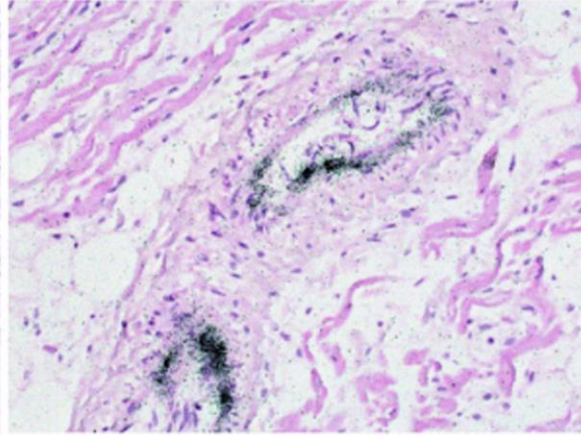
Belang virale etiologie?

1. Pathofysiologische mechanismen bepalen klinisch verloop

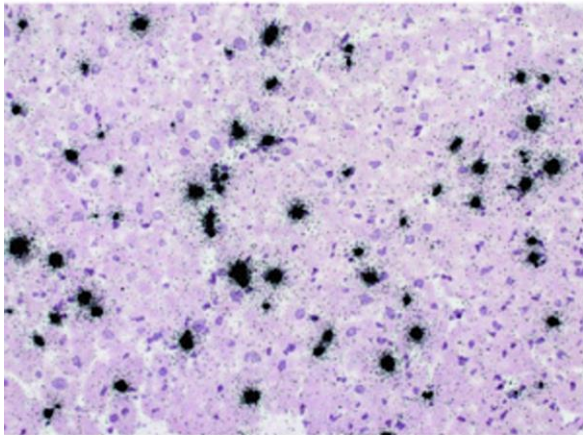
Localization of viral genomes in the heart by in situ hybridization



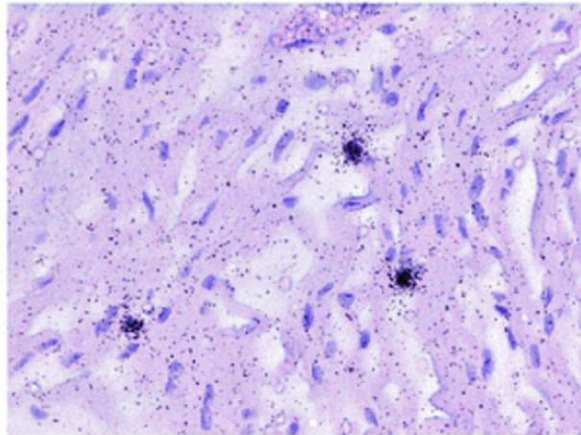
Cocksackievirus



Parvovirus B19



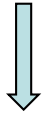
Epstein-Barr virus



Human herpesvirus 6

2. Impact op behandeling?

Virus-positieve EMB



- ✧ IVIG
- ✧ Gerichte antivirale therapie?
 - IVIG: acute enterovirus-, CMV-, EBV- en PVB19-infecties
 - Val-/ganciclovir: HHV6 myocarditis
 - IFN- β : enterovirus myocarditis.

Virus-negatieve EMB



- ✧ Corticosteroiden
- ✧ Azathioprine, cyclosporine
- +/-90% myocarditis-patiënten met goede respons op immunosuppressiva = virus-negatief
- 85% niet-responders = virus-positief

Besluit

- Beperkingen virale PCR op EMB:
 - Voldoende evidence? Performantie? Correlatie PCR met APO?
 - Sampling error door focale inflammatie?
 - Betekenis zwak positief signaal?
Bijv. PVB19 -> ongoing myocarditis?!
- Meerwaarde antivirale therapie nog steeds ter discussie:
 - Fase 3 en 4 klinische studies op lange termijn en op grotere schaal ontbreken
 - Meerderheid patiënten beantwoordt aan supportieve hartfalen therapie
 - Patiënten presenteren vaak laat: virale replicatie is niet de boosdoener, wel de ongecontroleerde, excessieve inflammatie + eventuele aanwezigheid van autoantistoffen
 - Research: nieuwe diagnostische tools?

Critically Appraised Topic

- Waarom is de laboratoriumdiagnostiek voor virale myocarditis zo complex en de meerwaarde van serologie gering?
- Hoe kunnen we in het labo microbiologie in het OLVZ Aalst onze adviezen over de best aan te vragen onderzoeken optimaliseren binnen een breder, klinisch-diagnostisch algoritme?
 - To do's / Actions
 - Voorstel klinisch-diagnostische workflow