

Diagnostic et traitement des infections à cytomégalovirus après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ou transplantation d'organe solide

Diagnosis and treatment of cytomegalovirus infections after allograft of hematopoietic stem-cells or solid organ transplantation

M.C. Mazon*

Le cytomégalovirus (CMV), herpès virus ubiquitaire, infecte 90 à 100 % des individus dans certaines régions du monde, et moins de 50 % en France. Après la primo-infection, des infections secondaires par réactivation du virus latent endogène ou réinfection par une nouvelle souche peuvent survenir. Au cours de l'infection, le virus dissémine par voie sanguine et atteint ses organes cibles. Bénéignes chez les individus immunocompétents, les infections à CMV sont potentiellement sévères chez les sujets immunodéprimés, et le CMV reste un agent opportuniste majeur chez les receveurs d'allogreffe. Des stratégies de prévention de ces infections sont proposées. Elles reposent sur la mise en œuvre de méthodes diagnostiques performantes, mais sont limitées par le nombre restreint de molécules antivirales actuellement disponibles, leur toxicité et l'émergence de la résistance.

dans divers sites, ou s'accompagner de manifestations cliniques signant la maladie à CMV, comme une fièvre isolée ou une symptomatologie correspondant à une atteinte viscérale. Elle survient le plus souvent en l'absence de traitement préventif, dans les 3 mois qui suivent la greffe. Les manifestations cliniques dépendent du type de greffe, du traitement immunosuppresseur administré et du statut sérologique du donneur et du receveur. En greffe d'organe, la primo-infection est la situation la plus à risque (*tableau I*) [1]. Après allogreffe de CSH, le facteur de risque majeur est la séropositivité du receveur (*tableau II*). Outre ses effets directs, l'infection à CMV, par l'effet immunosuppresseur et pro-inflammatoire qu'elle induit, est associée aux réactions du greffon contre l'hôte (GVH), au rejet de greffe, et elle favorise l'émergence d'infections virales (virus d'Epstein-Barr [EBV], BK virus, HHV6), bactériennes et fongiques (2).

Conséquences cliniques de l'infection chez les receveurs d'allogreffe

Après une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) ou une transplantation d'organe, l'infection active à CMV peut se limiter, en l'absence de symptômes, à des marqueurs de réplication virale

Diagnostic de l'infection

Détection et quantification des génomes viraux

Les méthodes de détection et de quantification de l'ADN viral par PCR en temps réel sont actuellement largement répandues. Le génome viral est recherché dans le sang (sang total ou plasma) et, en fonction

* Université Paris Diderot, Pres Sorbonne Paris Cité, Inserm U941, laboratoire associé au Centre national de référence du cytomégalovirus ; laboratoire de microbiologie, hôpital Saint-Louis, Paris.

Points forts⁺⁺

» Le diagnostic de l'infection à cytomégalo­virus (CMV) a bénéficié ces dernières années de la mise à disposition de techniques par PCR en temps réel, techniques standardisées et automatisées qui assurent un diagnostic précoce de l'infection, et de l'utilisation d'un standard international qui permet une meilleure comparaison des résultats entre techniques différentes.

» De nouvelles molécules antivirales actuellement à l'étude ont montré des résultats prometteurs dans les essais de phase II et pourraient occuper une place de choix dans les stratégies de prévention.

» Le suivi de l'infection à CMV chez les receveurs d'allogreffe devrait s'enrichir dans l'avenir de l'évaluation de la réponse immunitaire cellulaire, permettant de mieux cibler l'administration des traitements préventifs, en particulier l'immunothérapie adoptive.

Mots-clés

Cytomégalo­virus
Transplantation
Antiviraux
Immunité cellulaire
PCR

Tableau I. Principaux facteurs de risque de l'infection à CMV après transplantation d'organe (1).

Facteur de risque	Conséquences
Sérologie D/R D+/R- D+/R+ et D-/R+ D-/R-	Primo-infection chez 50 % (réplication et/ou maladie) Réplication et/ou maladie chez 15 à 20 % des R+ Risque très faible d'infection
Organe transplanté	Niveau de risque décroissant en fonction du type d'organe : intestin > poumon > pancréas > cœur > rein/foie
Rejet aigu de la greffe	Réplication et/ou maladie favorisée
Traitement reçu	Infection/maladie favorisée par : AC anti-CD3 (OKT3) ou SAL Alemtuzumab en traitement du rejet MMF à une posologie > 2g/j
Absence de reconstitution immunitaire CMV spécifique	Absence de contrôle de l'infection

D : donneur ; R : receveur ; - : CMV séronégatif ; + : CMV séropositif ; AC : anticorps ; SAL : sérum antilymphocytaire ; MMF : mycophénolate mofétil.

Tableau II. Principaux facteurs de risque de l'infection à CMV après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Facteur de risque	Conséquences
Sérologie D/R R+ D-	Réactivation virale chez 60 à 70 % des R+ Risque d'infection prolongée chez les R+
Relation D/R	Risque accru d'infection si D non apparenté ou D familial avec incompatibilité HLA
Type de greffon	Infection sévère favorisée après greffe à partir de sang de cordon
GVH aiguë ou chronique	Infection/maladie favorisée si la GVH requiert un traitement
Traitement reçu	Infection favorisée par : - corticostéroïdes ≥ 1 mg/kg - alemtuzumab en conditionnement ou traitement de la GVH
Absence de reconstitution immunitaire CMV spécifique	Absence de contrôle de l'infection

D : donneur ; R : receveur ; - : CMV séronégatif ; + : CMV séropositif ; GVH : réaction du greffon contre l'hôte ; HLA : Human Leucocyte Antigen.

du contexte clinique, dans divers prélèvements (sécrétions pharyngées, liquide de lavage broncho-alvéolaire, liquide cébrospinal, biopsies, liquide de ponction, urine). L'utilisation de trousse commercialisées qui, pour certaines, sont adaptées à une automatisation complète, améliore la standardisation des résultats (3). La disponibilité depuis 2010 d'un standard international (*WHO International Standard*) permet l'expression des résultats en unités inter-

nationales (UI) par ml de prélèvement (sang total, plasma, liquide de ponction) ou million de cellules et facilite ainsi la comparaison des résultats obtenus dans des laboratoires différents (4). La charge virale circulante peut être mesurée à partir du sang total ou du plasma. Les niveaux de charge virale sont plus élevés dans le sang total que dans le plasma. Le suivi de la charge virale chez les patients doit s'effectuer à partir de la même matrice.

Highlights

» *Diagnosis of CMV infection has recently benefited from the availability of standardized and automated real-time PCR techniques that provide an early diagnosis of infection, and the use of an international standard that allows a better comparison of results between different techniques.*

» *New antiviral drugs currently under study have shown promising results in Phase II trials and could occupy a major place in prevention strategies.*

» *The monitoring of CMV infection in allograft recipients should include in the future the evaluation of the cellular immune response to better target preventive treatment especially adoptive immunotherapy.*

Keywords

Cytomegalovirus
Transplantation
Antiviral drug
Cellular immunity
PCR

Détection des antigènes viraux

La détection de l'antigénémie pp65 tend à être remplacée par les techniques de PCR, plus sensibles et automatisées. Le niveau d'antigénémie est indiqué par le nombre de polynucléaires exprimant la phosphoprotéine pp65 (ppUL83) pour 2×10^5 leucocytes examinés. Il existe une correspondance entre le niveau d'antigénémie pp65 et la charge virale mesurée dans le sang total ou le plasma. Ce test est en défaut chez les patients atteints d'aplasie (5). La mise en évidence des antigènes garde tout son intérêt pour caractériser les cellules infectées sur coupes de tissus.

Approches thérapeutiques

Molécules antivirales disponibles

Le **ganciclovir** (Cyme­van®), son promédicament le **valganciclovir** (Rovalcyte®), le **foscarnet** (Foscavir®) et le **cidofovir** (Vistide®) sont des inhibiteurs de l'ADN polymérase virale sans effet sur le virus latent. Le ganciclovir, molécule la plus utilisée, est un analogue de la désoxyguanosine, actif dans les cellules infectées sous forme triphosphate. La première phosphorylation est catalysée par la protéine kinase virale pUL97, les phosphorylations suivantes par des kinases cellulaires. Son dérivé L-valyl-ester, le valganciclovir, est administré par voie orale et permet d'atteindre des concentrations plasmatiques de ganciclovir équivalentes à celles obtenues avec le ganciclovir par voie intraveineuse (i.v.). Le foscarnet, analogue des pyrophosphates, est actif sans métabolisme préalable. Le cidofovir, analogue nucléotidique de la cytidine, est actif dans la cellule infectée après 2 phosphorylations par des enzymes cellulaires. Les effets toxiques de ces molécules (hématologiques pour le ganciclovir et le cidofovir, rénaux pour le foscarnet et le cidofovir) en limitent l'emploi.

Nouvelles molécules antivirales

•Le **maribavir**, benzimidazole L-riboside, qui interagit avec la protéine kinase UL97, inhibe efficacement in vitro la réplication du CMV. Cette molécule peu toxique, directement active dans la cellule infectée, est administrée par voie orale. Les essais de phase III n'ont pas montré d'efficacité du maribavir à une posologie faible (100 mg \times 2/j) en prévention de l'infection à CMV chez des receveurs de CSH et des

receveurs de greffe de foie. Il est administré à des posologies supérieures (400 à 800 mg \times 2/j) chez des patients en impasse thérapeutique, avec une efficacité variable et parfois la sélection de mutations de résistance (6). Deux essais de phase II actuellement conduits chez des receveurs de greffe testent des posologies plus élevées (400, 800, 1 200 mg \times 2/j) de maribavir en prévention et en traitement d'infections réfractaires.

•Le **brincidofovir**, conjugué lipidique du cidofovir, a une activité antivirale plus puissante que celle du cidofovir, associée à une absence de toxicité rénale et à une biodisponibilité élevée. Du fait de sa longue demi-vie, il est administré 1 ou 2 fois par semaine. Son efficacité et sa tolérance ont été évaluées chez des receveurs de cellules souches hématopoïétiques en prévention de l'infection à CMV (7). Cette molécule est actuellement en essais de phase III.

•Le **letermovir** est un représentant d'une nouvelle classe d'inhibiteurs non nucléosidiques, les 3-4-dihydroquinazolines. Il inhibe le complexe viral terminase. Ce produit qui est bien toléré est actuellement en essai de phase III en prophylaxie de l'infection à CMV chez des receveurs de CSH (8). La sélection très rapide in vitro de mutations de résistance suggère une barrière génétique faible de cette molécule (9).

Autres molécules à activité antivirale

•L'**artésunate**, un antipaludéen, inhibe in vitro la réplication du CMV en bloquant la synthèse de protéines transactivatrices cellulaires NF- κ B et Sp1. L'efficacité de l'artésunate en traitement anticipé (préemptif) de l'infection à CMV chez des receveurs de CSH (essai de phase III) est variable (10). Quelques patients, en échec thérapeutique, ont reçu de l'artésunate, et une réduction de la charge virale a été observée chez certains d'entre eux.

•Le **léflunomide**, utilisé dans le traitement de l'arthrite rhumatoïde, a des propriétés immunosuppressives et anti-inflammatoires. Son activité anti-CMV, démontrée in vitro, résulte d'une interférence avec l'assemblage du virion. Une activité antivirale variable a été observée chez des patients traités.

•Le **sirolimus** et l'**évérolimus** sont des immunodépresseurs, inhibiteurs de mTOR pouvant être proposés en prévention du rejet après greffe. Leur administration est associée à une moindre incidence de l'infection à CMV chez les receveurs d'allogreffe d'organe ou de CSH et à une diminution de la charge virale du CMV.

Transfert de cellules du système immunitaire

Chez les receveurs de CSH, l'immunothérapie adoptive par transfert du donneur au receveur de lymphocytes T réactifs vis-à-vis du CMV fait l'objet d'essais de phases I et II. Ces essais très limités montrent la restauration immunitaire en l'absence d'effets toxiques majeurs et un faible risque d'induction de la GVH. Une autre approche consiste à utiliser des lymphocytes T spécifiques de plusieurs virus, notamment adénovirus et EBV. Ce type de traitement expérimental est onéreux et encore difficilement accessible (11).

Vaccin

La mise au point d'un vaccin a pour but de réduire le nombre d'infections congénitales et de limiter chez les receveurs d'allogreffe le recours aux traitements antiviraux. Un candidat-vaccin sous forme de glycoprotéine B recombinante administré à des patients avant allogreffe de rein ou de foie avait permis une réduction de la durée des épisodes de virémie et du traitement antiviral. Un vaccin thérapeutique constitué de 2 plasmides codant respectivement la glycoprotéine B et la pp65 a fait l'objet d'un essai randomisé de phase II chez des receveurs de CSH séropositifs pour le CMV (12). La première dose du vaccin a été administrée avant greffe, et les suivantes à 1, 3 et 6 mois après greffe. Les épisodes de réactivation ont été moins nombreux chez les patients vaccinés. Malgré cet effet, aucune différence n'a été observée entre les receveurs vaccinés et le groupe témoin en ce qui concerne la nécessité d'un traitement antiviral. Ce vaccin fait actuellement l'objet d'un essai de phase III.

Prévention de l'infection ou de la maladie

Stratégies proposées

Deux stratégies font l'objet de recommandations internationales réactualisées régulièrement. La prophylaxie consiste à administrer un traitement antiviral après la greffe pour prévenir l'infection active. Le traitement anticipé dit "préemptif" est instauré dès que le niveau de la charge virale atteint un seuil prédéfini, indiquant un risque élevé de

survenue de manifestations cliniques. Cette stratégie nécessite une surveillance virologique régulière du receveur et impose de définir les seuils d'antigénémie ou d'ADNémie pour chaque type de greffe, afin d'instaurer sans retard le traitement. Le choix des stratégies ne fait pas l'objet d'un consensus. La prophylaxie a considérablement amélioré le pronostic des transplantations d'organe. Cependant, elle peut générer le traitement par excès de patients à faible risque et elle retarde la maturation des défenses immunitaires anti-CMV et l'apparition des manifestations cliniques.

Greffe d'organe

La prophylaxie antivirale est recommandée chez les patients à haut risque de maladie à CMV, notamment après greffe cœur + poumons, lorsque le receveur est séronégatif et le donneur séropositif (D+/R-), et pour les patients recevant des immunoglobulines antilymphocytaires ou un conditionnement très immunosuppresseur (1, 13). Une durée de prophylaxie de 3 mois expose le receveur au risque de maladie tardive (survenant au-delà du centième jour après greffe). Chez les D+/R-, il est proposé de prolonger la durée à 6 mois pour les greffes de rein, de foie et de cœur, et de 6 à 12 mois pour les greffes de poumon. Chez les R+, quel que soit le statut du donneur, la durée de 3 mois est habituelle pour les greffes de rein, de foie, de pancréas et de cœur. Elle peut être prolongée chez les patients qui reçoivent un traitement immunosuppresseur puissant et chez les receveurs de greffe d'intestin ou de poumon. Le valganciclovir (900 mg/j) est la molécule de choix pour la prophylaxie. L'alternative, pour les R+, à moindre risque de maladie à CMV, est le traitement anticipé. Chez les receveurs de greffe de rein ou de foie, les recommandations consensuelles actuelles sont d'utiliser indifféremment traitement anticipé ou prophylaxie (tableau III, p. 74) [13]. Chez les D-/R- qui sont à faible risque d'infection à CMV, la prophylaxie n'est pas recommandée.

Greffe de cellules souches hématopoïétiques

La toxicité hématologique du ganciclovir n'en permet pas l'utilisation en prophylaxie. Le valaciclovir (Zelitrex®), qui a une activité inhibitrice modeste sur le CMV, est utilisé en prophylaxie, en alternative au ganciclovir. Cette prophylaxie est

Tableau III. Prévention de l'infection ou de la maladie à CMV après transplantation d'organe (13).

	Organe transplanté					
	Rein	Foie	Cœur	Poumon	Pancréas	Intestin
D+/R-						
Stratégie	PrU ou TP	PrU ou TP	PrU	PrU	PrU	PrU
Durée PrU (mois)	6	6	6	12	6	6
R+						
Stratégie	PrU ou TP	PrU ou TP	PrU ou TP	PrU	PrU	PrU
Durée PrU (mois)	3	3	3	6	3	6
Tr ID puissant	PrU	PrU	PrU	PrU	PrU	PrU

D+ : donneur CMV séropositif; R- : receveur CMV séronégatif; R+ : receveur CMV séropositif; PrU : prophylaxie universelle; TP : traitement anticipé (préemptif); Tr ID : traitement immunodépresseur.

associée à une stratégie de prévention par traitement anticipé (14). Le ganciclovir et le foscarnet sont proposés en première ligne, le cidofovir en deuxième ligne. Le valganciclovir, administré à dose curative (900 mg × 2/j), est utilisé chez des receveurs qui ont un risque moindre de développer des manifestations sévères de maladie à CMV. Après la greffe, plusieurs facteurs concourent à l'altération ou au retard de maturation des défenses cellulaires spécifiques, comme le traitement immunosuppresseur et l'infection à CMV elle-même.

Suivi immunologique

Le contrôle de l'infection dépend de la restauration de l'immunité cellulaire spécifique. L'évaluation de la réponse immunitaire cellulaire spécifique CD4+ et CD8+ pourrait permettre de reconnaître les patients le plus à risque de maladie sévère et guider les modalités et la durée des traitements préventifs. Les méthodes utilisées sont très diverses et souvent non commerciales; elles explorent soit une seule population lymphocytaire CD4+ ou CD8+, soit les 2, avec ou sans distinction entre CD4+ et CD8+. La méthode QuantiFERON®-CMV n'explore que la population CD8+. De larges études sont nécessaires pour définir les seuils de lymphocytes spécifiques qui permettraient d'établir une stratification des risques (15).

Traitement de la maladie à CMV

Il consiste en première intention en l'administration de ganciclovir i.v. (5 mg/kg/12 h), associée si possible, en cas d'atteinte sévère, à une diminution

de l'intensité du traitement immunosuppresseur. Le foscarnet est administré si le ganciclovir est contre-indiqué. Chez les receveurs de greffe de CSH, le traitement de la pneumopathie interstitielle associe le ganciclovir i.v. à l'administration de gammaglobulines polyvalentes à 0,5 g/kg. Le valganciclovir est une alternative au ganciclovir i.v. Cependant, les doses de valganciclovir à utiliser chez les patients ayant des troubles de l'absorption, ainsi que l'efficacité des traitements à dose réduite après adaptation posologique en cas d'insuffisance rénale restent à définir. La durée du traitement est déterminée par le suivi de la charge virale. D'une durée minimale de 14 jours, le traitement est poursuivi jusqu'à ce que la charge virale soit indétectable ou inférieure au seuil de quantification à partir de 1 ou 2 prélèvements consécutifs.

Résistance aux antiviraux

L'émergence de la résistance du CMV aux antiviraux est favorisée par des traitements de longue durée, un haut niveau de charge virale associé à une immunodépresseion sévère et la persistance de la réplication sous traitement, induite par un manque de puissance antivirale du traitement et/ou par la sévérité de l'immunodépresseion de l'hôte. Chez les receveurs d'organe solide, l'incidence de la résistance est habituellement de 5 à 10 % et peut atteindre 27 % chez les receveurs de poumon séronégatifs avant greffe (16). Les souches résistantes bien caractérisées ont été isolées au cours de primo-infections à de rares exceptions près. Chez les receveurs de CSH, l'incidence de la résistance est voisine de 2 à 3 % en dehors des receveurs de greffe haplo-identique chez lesquels elle atteint 14,5 % (17). Le risque d'émergence de la résistance après traitement prophylactique chez

les receveurs d'organe est faible. La séquence des gènes d'intérêt, UL97 et UL54 (ADN polymérase) est la méthode de choix pour identifier les mutants résistants. Les mutations de UL97 induisent une résistance au ganciclovir. Elles sont les premières à apparaître sous pression de sélection par le ganciclovir, tandis que des mutations de UL54, en fonction de leur localisation, induisent une résistance à 1, à 2

ou aux 3 antiviraux. Ces résistances croisées, associées à la toxicité des antiviraux, conduisent parfois à des impasses thérapeutiques. Les techniques de séquençage profond qui se développent sont capables d'identifier des sous-populations de mutants très minoritaires (1 % de la population totale) et peuvent permettre d'anticiper l'émergence de mutants majoritaires et donc l'échec du traitement (16). ■

L'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

Références bibliographiques

- Lumbreras C, Manuel O, Len O, ten Berge IJ, Sgarabotto D, Hirsch HH. Cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect* 2014;20 (Suppl 7):19-26.
- Freeman RB Jr. The indirect effects of cytomegalovirus infection. *Am J Transplant* 2009;9(11):2453-8.
- Schnepf N, Scieux C, Resche-Riggon M et al. Fully automated quantification of cytomegalovirus (CMV) in whole blood with the new sensitive Abbott RealTime CMV assay in the era of the CMV international standard. *J Clin Microbiol* 2013;51(7):2096-102.
- Freyer JF, Heath AB, Anderson R, Minor PD, WHO Expert Committee on Biological Standardization 2010. Collaborative study to evaluate the proposed 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus (HCMV) for Nucleic Acid Amplification (NAT)-based assays. WHO/BS/10.2138. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Breda G, Almeida B, Carstensen S et al. Human cytomegalovirus detection by real-time PCR and pp65-antigen test in hematopoietic stem cell transplant recipients: a challenge in low and middle-income countries. *Pathog Glob Health* 2013;107(6):312-9.
- Alain S, Revest M, Veyer D et al. Maribavir use in practice for cytomegalovirus infection in French transplantation centers. *Transplant Proc* 2013;45(4):1603-7.
- Marty FM, Winston DJ, Rowley SD et al. CMX001 to prevent cytomegalovirus disease in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2013;369(13):1227-36.
- Chemaly RF, Ullmann AJ, Stoelben S et al. Letermovir for cytomegalovirus prophylaxis in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2014;370(19):1781-9.
- Chou S. Rapid in vitro evolution of human cytomegalovirus UL56 mutations that confer letermovir resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59(10):6588-93.
- Wolf DG, Shimoni A, Resnick IB et al. Human cytomegalovirus kinetics following institution of artesunate after hematopoietic stem cell transplantation. *Antiviral Res* 2011;90(3):183-6.
- Boeckh M, Murphy WJ, Peggs KS. Recent advances in cytomegalovirus: an update on pharmacologic and cellular therapies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21(1):24-9.
- Kharfan-Dabaja MA, Boeckh M, Wilck MB et al. A novel therapeutic cytomegalovirus DNA vaccine in allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect Dis* 2012;12(4):290-9.
- Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation* 2013;96(4):333-60.
- Ljungman P, de la Camara R, Cordonnier C et al. Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. *Bone Marrow Transplant* 2008;42(4):227-40.
- Manuel O, Husain S, Kumar D et al. Assessment of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity for the prediction of cytomegalovirus disease in high-risk solid-organ transplant recipients: a multicenter cohort study. *Clin Infect Dis* 2013;56(6):817-24.
- Lurain N, Chou S. Antiviral drug resistance of human cytomegalovirus. *Clin Microbiol Rev* 2010;23(4):689-712.
- Shmueli E, Or R, Shapira MY et al. High rate of cytomegalovirus drug resistance among patients receiving preemptive antiviral treatment after haploidentical stem cell transplantation. *J Infect Dis* 2014;209(4):557-61.