

UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté de Médecine

ANNÉE 2013

THÈSE N°

Incidence et facteurs de risque de résistance du CMV au sein d'une cohorte de patients transplantés rénaux

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement

le 16 septembre 2013

par

Anne-Laure FEDOU

née le 06/09/1985, à Mazamet (81)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Mr le Professeur Jean-Claude ALDIGIERPrésident

Mme le Professeur Marie ESSIG..... Directrice de thèse

Mme le Professeur Sophie ALAIN Juge

Mr le Dr Nicolas PICHON Juge

Mr le Dr Jean-Philippe REROLLE Juge

**Incidence et facteurs de risque de résistance du CMV
au sein d'une cohorte de patients transplantés rénaux**

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement

le 16 septembre 2013

par

Anne-Laure FEDOU

née le 06/09/1985, à Mazamet (81)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Mr le Professeur Jean-Claude ALDIGIER.....Président

Mme le Professeur Marie ESSIGDirectrice de thèse

Mme le Professeur Sophie ALAIN Juge

Mr le Dr Nicolas PICHON..... Juge

Mr le Dr Jean-Philippe REROLLE Juge

UNIVERSITE de LIMOGES
FACULTE de MEDECINE

TITRES des PROFESSEURS et MAITRES de CONFERENCES des UNIVERSITES pour la REDACTION des DEDICACES

ABOYANS Victor	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CARDIOLOGIE
ACHARD Jean-Michel	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PHYSIOLOGIE
ADENIS Jean-Paul	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier OPHTALMOLOGIE
ALAIN Sophie	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
ALDIGIER Jean-Claude	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier NEPHROLOGIE
ARCHAMBEAUD Françoise	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier MEDECINE INTERNE Responsable de service
ARNAUD Jean-Paul	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et TRAUMATOLOGIQUE
AUBARD Yves	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE Responsable de service
AUBRY Karine	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier O.R.L.
BEDANE Christophe	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier DERMATOLOGIE-VENEREOLOGIE Responsable de service
BERTIN Philippe	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier THERAPEUTIQUE Responsable de service de RHUMATOLOGIE
BESSEDE Jean-Pierre	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier O.R.L. Responsable de service
BONNAUD François	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PNEUMOLOGIE Doyen Honoraire
BORDESSOULE Dominique	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier HEMATOLOGIE Responsable de service d'HEMATOLOGIE CLINIQUE et THERAPIE CELLULAIRE
CHARISSOUX Jean-Louis	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et TRAUMATOLOGIQUE
CLAVERE Pierre	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier RADIOTHERAPIE Responsable de service

CLEMENT Jean-Pierre	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PSYCHIATRIE d'ADULTES Responsable de service
COGNE Michel	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier IMMUNOLOGIE Responsable de service
COLOMBEAU Pierre	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier UROLOGIE
CORNU Elisabeth	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE
COURATIER Philippe	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier NEUROLOGIE Responsable de service
DANTOINE Thierry	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier GERATRIE et BIOLOGIE du VIEILLISSEMENT Responsable de service
DARDE Marie-Laure	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE Responsable de service
DAVIET Jean-Christophe	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION
DESCAZEAUD Aurélien	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier UROLOGIE
DESSPORT Jean-Claude	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier NUTRITION
DRUET-CABANAC Michel	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier MEDECINE et SANTE au TRVAIL Responsable de service
DUMAS Jean-Philippe	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier UROLOGIE Responsable de service
ESSIG Marie	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier NEPHROLOGIE Responsable de service
FAUCHAIS Anne-Laure	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier MEDECINE INTERNE Responsable de service
FEISS Pierre	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
FEUILLARD Jean	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier HEMATOLOGIE Responsable de service du Laboratoire d'HEMATOLOGIE
FOURCADE Laurent	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CHIRURGIE INFANTILE Responsable de service

FUNALOT Benoît	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
GAINANT Alain	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CHIRURGIE DIGESTIVE
GUIGONIS Vincent	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PEDIATRIE
JACCARD Arnaud	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier HEMATOLOGIE
JAUBERTEAU-MARCHAN M. Odile	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier IMMUNOLOGIE
LABROUSSE François	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier ANATOMIE et CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES Responsable de service
LACROIX Philippe	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier MEDECINE VASCULAIRE
LASKAR Marc	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE Responsable de service Asseseur
LIENHARDT-ROUSSIE Anne	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PEDIATRIE Responsable de service
LOUSTAUD-RATTI Véronique	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier HEPATOLOGIE
MABIT Christian	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier ANATOMIE Responsable de service d'ORTHOPEDIE-TRAUMATOLOGIE
MAGY Laurent	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier NEUROLOGIE
MARQUET Pierre	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE Responsable de service
MATHONNET Muriel	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CHIRURGIE DIGESTIVE
MELLONI Boris	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PNEUMOLOGIE Responsable de service
MERLE Louis	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PHARMACOLOGIE CLINIQUE
MONTEIL Jacques	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE Responsable de service
MOREAU Jean-Jacques	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier NEUROCHIRURGIE Responsable de service Asseseur

MOULIES Dominique	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CHIRURGIE INFANTILE
MOUNAYER Charbel	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
NATHAN-DENIZOT Nathalie	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier ANESTHESIOLOGIE-RENIMATION Responsable de service
PARAF François	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier MEDECINE LEGALE et DROIT de la SANTE Responsable de service
PLOY Marie-Cécile	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE Responsable de service
PREUX Pierre-Marie	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION Responsable de service du SIME Assesseur
ROBERT Pierre-Yves	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier OPHTALMOLOGIE Responsable de service
SALLE Jean-Yves	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION Responsable de service
SAUTEREAU Denis	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier GASTRO-ENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE Responsable de service
STURTZ Franck	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE Responsable de service
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier ENDOCRINOLOGIE, DIABETE et MALADIES METABOLIQUES
TREVES Richard	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier RHUMATOLOGIE
TUBIANA-MATHIEU Nicole	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CANCEROLOGIE Responsable de service
VALLAT Jean-Michel	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier NEUROLOGIE
VALLEIX Denis	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier ANATOMIE Responsable de service de CHIRURGIE DIGESTIVE et ENDOCRINIENNE Doyen
VERGNENEGRE Alain	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
VERGNE-SALLE Pascale	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier THERAPEUTIQUE

VIDAL Elisabeth	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier MEDECINE INTERNE
VIGNON Philippe	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier REANIMATION Responsable de service
VINCENT François	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier PHYSIOLOGIE
VIROT Patrice	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CARDIOLOGIE Responsable de service
WEINBRECK Pierre	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier MALADIES INFECTIEUSES Responsable de service
YARDIN Catherine	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier CYTOLOGIE et HISTOLOGIE Responsable de service
BUCHON Daniel	Professeur des Universités MEDECINE GENERALE
BUISSON Jean-Gabriel	Professeur associé à mi-temps MEDECINE GENERALE
DUMOITIER Nathalie	Professeur associé à mi-temps MEDECINE GENERALE
PREVOST Martine	Professeur associé à mi-temps MEDECINE GENERALE
AJZENBERG Daniel	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE
ANTONINI Marie-Thérèse	Maître de Conférence des Universités-Praticien Hospitalier PHYSIOLOGIE Responsable de service
BOURTHOUMIEU Sylvie	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier CYTOLOGIE et HISTOLOGIE
BOUTEILLE Bernard	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE
CHABLE Hélène	Maître de Conférence des Universités-Praticien Hospitalier BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
DURAND-FONTANIER Sylvaine	Maître de Conférence des Universités-Praticien Hospitalier ANATOMIE
ESCLAIRE Françoise	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier BIOLOGIE CELLULAIRE
HANTZ Sébastien	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
LAROCHE Marie-Laure	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier PHARMACOLOGIE CLINIQUE

LE GUYADER Alexandre	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE
MARIN Benoît	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
MOUNIER Marcelle	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE
PICARD Nicolas	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE
QUELVEN-BERTIN Isabelle	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE
TERRO Faraj	Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier BIOLOGIE CELLULAIRE
MENARD Dominique	Maître de Conférences associé à mi-temps MEDECINE GENERALE
BONNETBLANC Jean-Marie	Professeur des Universités Emérite
DENIS François	Professeur des Universités Emérite
SAUVAGE Jean-Pierre	Professeur des Universités Emérite
VANDROUX Jean-Claude	Professeur des Universités Emérite

Le 15 Janvier 2013

ASSISTANTS HOSPITALIERS UNIVERSITAIRES

BELLIER Rémy	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
COUVÉ-DEACON Elodie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE (Centre d'Investigation Clinique)
CROS Jérôme	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
FILLOUX Matthieu	IMMUNOLOGIE
FREDON Fabien	ANATOMIE
HODLER Charles	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
NEGRIER Laurent	BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE
PHILIPPE Grégory	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
RIZZO David	HEMATOLOGIE
ROGER Lucie	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
THOMAS Céline	ANATOMIE (Service de Chirurgie Digestive, Générale et Endocrinienne)
VERGNENEGRE Guillaume	ANATOMIE (Service d'Orthopédie Traumatologie)
WOILLARD Jean-Baptiste	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

CHEFS DE CLINIQUE - ASSISTANTS DES HOPITAUX

ABRAHAM Julie	HEMATOLOGIE
AUBOUR Marine	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
AYOUB David	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE (Chef de clinique associé du 01-11-2012 au 31-10-2013)
BALLOUHEY Quentin	CHIRURGIE INFANTILE
BARREAU Germain	OPHTALMOLOGIE
BEDIN Bertrand	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et TRAUMATOLOGIQUE
BEGOT Emmanuelle	REANIMATION
BEHRA-MARSAC Aurélie	RHUMATOLOGIE

BENACQUISTA Marie	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
BENHAMI Ali	CHIRURGIE DIGESTIVE
BERGER Julien	UROLOGIE
BILAND Guillaume	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE
BORDAS Mathieu	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE
BOUYGUES Antoine	GASTRO-ENTEROLOGIE
CALVET Benjamin	PSYCHIATRIE d'ADULTES
CAUTRES Thomas	CARDIOLOGIE
CHAMBARAUD Tristan	NEPHROLOGIE
CHAMPY Pauline	REANIMATION
CERRIERE Sylvain	O.R.L.
CYPIERRE Anne	MALADIES INFECTIEUSES
DELMAS Juliette	OPHTALMOLOGIE
DONADEL Lorène	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
DURAND Lise-Marie	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
EGENOD Thomas	PNEUMOLOGIE
ENESCU-FLORICA Eléna-Cécilia	DERMATOLOGIE-VERERELOGIE
ETTAIF Hind	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
FAUGERAS Frédéric	NEUROLOGIE
GANTOIS Clément	NEUROCHIRURGIE
GARDET Emmanuel	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE
GARUCHET-BIGOT Angéline	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
HAMONET TORNAY Julia	MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION
LANOE Matthieu	UROLOGIE
LAYRE Brice	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
LERAT Justine	O.R.L.
MAAZI Nizar	CARDIOLOGIE
MARTEL Clothilde	MEDECINE INTERNE A
MATHIEU Pierre-Alain	CHIRURGIE INFANTILE
MONNIER Grégory	PSYCHIATRIE d'ADULTES
NANDILLON Aurélie	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE

NASSOURI Adjoa-Sika	MEDECINE INTERNE B
NEGRIER Franck	RADIOTHERAPIE
PAGES Pierre-Alain	CARDIOLOGIE
PELISSIER Maxime	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et TRAUMATOLOGIQUE
PONOMARJOVA Sanita	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE (Chef de clinique associé du 01-11-2012 au 31-10-2013)
PONSONNARD Anne	PEDOPSYCHIATRIE
RABIN Magalie	NEUROLOGIE
TCHALLA Achille	GERIATRIE et BIOLOGIE du VIEILLISSEMENT
THOUY François	MEDECINE INTERNE A
VANDEIX Elodie	CANCEROLOGIE
VINCENT Magalie	GASTRO-ENTEROLOGIE

CHEF DE CLINIQUE – MEDECINE GENERALE

LAUCHET Nadège

DROITS D'AUTEURS

Droits d'auteurs réservés.

Toute reproduction sans accord exprès de l'auteur à des fins autres que strictement personnelles est prohibée.

REMERCIEMENTS

A notre Maître et Président du jury,

Monsieur le Professeur Jean-Claude Aldigier,

De me faire l'honneur de présider ce jury après ces quatre années d'internat passées à vos côtés. Merci pour votre accueil chaleureux et paternel dans le service de Néphrologie.

A notre Maître et Directrice de thèse,

Madame le Professeur Marie Essig,

Pour m'avoir encadrée tout au long de cette thèse. Merci pour votre disponibilité en toutes circonstances et votre aide précieuse pour la rédaction de ce travail. Grâce à votre amour pour la néphrologie, vous donnez envie aux plus jeunes de découvrir cette belle spécialité.

A nos juges,

Madame le Professeur Sophie Alain,

Pour avoir accepté de juger ce travail et m'avoir fait partager vos connaissances. J'espère avoir été à la hauteur du travail que vous m'avez confiée.

Monsieur le Docteur Nicolas Pichon,

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse. J'espère que tu liras avec autant d'attention cette thèse que tu relis mes courriers. Merci de m'apprendre au quotidien la rigueur et la persévérance. Merci de me laisser mon autonomie pour m'apprendre à faire mes propres choix ... bons ou mauvais.

Monsieur le Docteur Jean-Philippe Rérolle,

Pour une nouvelle fois revêtir le fameux « costume » de membre du jury. Merci de m'avoir fait découvrir ce monde qu'est la transplantation. Merci pour tes précieux conseils que cela soit pour cette thèse ou pendant toutes ces années d'internat.

A **Monsieur le Docteur Bruno François**, de m'avoir fait découvrir ce monde... initialement obscur... de la réanimation. Après la peur et le stress, est venue la curiosité, celle de continuer à découvrir un autre univers. Vos conseils m'ont fortement influencé dans mes choix professionnels, j'espère maintenant être à la hauteur. Le chemin ne sera terminé que quand j'aurai trouvé la recette parfaite des crêpes Suzette.

A **Monsieur le Professeur Philippe Vignon**, d'avoir accepté mon entrée tardive dans le DESC de réanimation médicale et de me soutenir dans cette voie.

A **Monsieur le Docteur Marc Clavel**, après un début timide, je pense avoir rattrapé les choses entre nous, compte tenu du nombre récent de nos gardes ensemble ! Merci pour tous tes conseils et pour ta confiance au quotidien.

A **Monsieur le Docteur Jean-Bernard Amiel**, merci pour nous enseigner à tous la rigueur. J'ai maintenant compris pourquoi beaucoup d'internes voulaient travailler à tes côtés.

A **Emmanuelle**, pour m'avoir guidée pas à pas dans cette aventure aussi bien médicalement qu'humainement. Merci pour tous les bons moments passés à tes côtés, pour nos soirées-gardes-pizzas entre deux polytraumatisés. Au plaisir de partager un bureau avec toi !

A **Rémy**, merci de m'enseigner sagesse et patience. Roi des conseils visés, et toujours plein d'humour, travailler avec toi a été un pur bonheur.

A **Céline**, d'avoir été et d'être encore un modèle. Tu as été bien plus qu'une chef de clinique pour nous toutes.

Au **Docteur Boudet**, pour son accueil chaleureux dans le service de Brive. Merci de m'avoir intégré dans cette grande et très sympathique famille briviste.

Au **Docteur Chamberlain**, mon plus grand regret sera de n'avoir jamais pu travailler avec toi comme chef de pique-nique. Merci de m'avoir rassuré dans les moments de panique de fin d'écriture. N'oublie pas de payer ton ardoise qui t'attend toujours au Box 2.

Au **Docteur Mausset**, pour m'avoir fait aimer sa spécialité qu'est la diabétologie, pour son soutien inconditionnel pendant ses six mois au Cluzeau.

A toute l'équipe de **Réanimation et de Néphrologie**, ainsi qu'à **Caroline Pichon**, merci de m'avoir accompagnée et soutenue tout au long de ces semestres. Vous êtes ma deuxième famille à l'hôpital !

A **Bénédicte**... en arrivant dans une nouvelle ville, on se demande bien comment va se dérouler la suite. Et puis, on tombe sur des personnes comme toi qui nous confirme que l'on a fait le bon choix. Merci pour ton soutien inconditionnel ces derniers mois ! Merci d'être pour moi beaucoup plus qu'une co-interne.

A **Marie**, là encore une très belle rencontre, presque une évidence ! Toujours les bons mots d'encouragements... et surtout cette musique entraînante dans ma tête qui résonne depuis ce jour du Fast Good...

A **Dorra**, pour ton amitié sans faille, pour nos futures vacances au soleil, pour toutes ces questions métaphysiques de méthodologies statistiques, de mise en page et bibliographie. La ville rose a vraiment de la chance de t'avoir retrouvée.

A **Mathilde**, pour être toujours en phase avec moi !

A **Nelly**, d'être ma sœur de cœur !

A **Perrine**, pour ces six mois entre co-interne et partenaire de sport !

A **Tiffany, Thomas, Roxana et Céline**, pour toutes nos longues discussions à huit clos dans ce fameux bureau.

Et bien évidemment,

A ma **maman**, merci de m'avoir soutenue depuis toutes ces années. Sans toi à mes côtés, je ne saurais pas aujourd'hui la personne que je suis devenue. Merci pour ton amour inconditionnel.

Et surtout,

Comme l'ont prédit les bouquets... A mon **futur mari**, pour ta patience et ta tendresse.

Et surtout pour tous nos beaux projets ensemble !

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
ACV	Aciclovir
AP	<i>Assembly protein</i> ou protéine d'assemblage
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	ARN messenger
CDV	Cidofovir
CI50	Concentration Inhibitrice 50%
CI90	Concentration Inhibitrice 90%
CMH	Complexe majeure d'histocompatibilité
CMV	Cytomegalovirus
D+/-	Donneur séropositif/séronégatif
E	<i>Early</i> ou précoce
EBV	<i>Epstein Barr Virus</i>
ECP	Effet cytopathique
gB/H/M/N	Glycoprotéine B/H/M/N
gC	<i>Glycoprotein complex</i> ou complexe glycoprotéique
GCV	Ganciclovir
Gp	Glycoprotéine
h	heure
HGPO	Hyperglycémie provoquée orale
HHV	<i>Human herpes virus</i> ou herpes virus humain
HSV	Herpes simplex virus
IE	<i>Immediate Early</i> ou très précoce
IFN	Interferon
IgG/M	Immunoglobuline G/M
IL	Interleukine

IV	Intra-veineux
IMC	Immunité à médiation cellulaire
j	jour
L	<i>Late</i> ou tardif
MBV	Maribavir
Mcp	<i>minor capsid protein</i> ou protéine mineure de la capside
MCP	<i>Major capsid protein</i> ou protéine majeure de la capside
NK	Natural Killer
pac	<i>Cis-acting packaging element</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> ou réaction de polymérisation en chaîne
PFA	Foscarnet
PO	Per os
R+/-	Receveur séropositif/séronégatif
SCP	<i>Smallest capsid protein</i> ou petite protéine de capside
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise
TR	<i>Terminal repeat</i>
UL	Segment unique long (unique long)
US	Segment unique short (unique court)
VCV	Valaciclovir
VGCV	Valganciclovir
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VZV	Virus de la varicelle et du zona

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figure 1 : Classification des herpes virus.....	12
Figure 2 : Structure du CMV.....	13
Figure 3 : Génome du CMV.....	15
Figure 4 : Cycle de réplication du CMV.....	17
Figure 5 : Réplication et encapsidation de l'ADN viral.....	18
Figure 6 : Physiopathologie de l'infection à CMV.....	18
Figure 7 : Réponse immunitaire anti-CMV.....	20
Figure 8 : Conséquences de l'infection materno-fœtale à CMV.....	23
Figure 9 : Effets directs et indirects du virus.....	25
Figure 10 : Antigénémie pp65 positive.....	29
Figure 11 : Mécanismes d'action des inhibiteurs de l'ADN polymérase virale.....	31
Figure 12 : Effets du Probenécide sur l'accumulation du Cidofovir dans les cellules proximales.....	34
Figure 13 : Cinétique de l'émergence des mutants résistants.....	38
Figure 14 : Mécanisme de résistance du CMV aux anti-viraux.....	40
Figure 15 : Localisation des mutations de UL97.....	41
Figure 16 : Localisation des mutations de UL54.....	41
Tableau 1 : Incidence de l'infection à CMV en fonction de l'organe greffé.....	23
Tableau 2 : Recommandations pour le dépistage et le suivi de l'infection à CMV.....	24
Tableau 3 : Définitions internationales pour la maladie à CMV en transplantation d'organe.....	26

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	2
LISTE DES ABREVIATIONS.....	5
LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX	7
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	10
Virus CMV	11
1.1. Historique	11
1.2. Classification	11
1.3. Structure virale	12
1.3.1. La nucléocapside.....	12
1.3.2. Les protéines du tégument.....	13
1.3.3. L'enveloppe virale	13
1.3.4. Le génome viral	13
Infection à CMV	15
2.1. Epidémiologie	15
2.2. Multiplication du virus.....	15
2.3. Physiopathologie	17
2.3.1. Tropisme cellulaire.....	18
2.3.2. Dissémination sanguine	18
2.3.3. Latence et réactivation.....	18
2.3.4. Réponse immunitaire	19
Manifestations cliniques	21
3.1. Chez le sujet immunocompétent.....	21
3.2. Chez l'immunodéprimé : cas du transplanté rénal.....	22
3.2.1. Epidémiologie	22
3.2.2. Facteurs de risque.....	23
3.2.3. Présentation clinique.....	23
3.2.3.1. Effets directs de l'infection à CMV.....	24
3.2.3.2. Effets indirects de l'infection à CMV.....	25
Diagnostic.....	28
4.1. Diagnostic direct.....	28
4.1.1. Détection de l'ADN génomique	28
4.1.2. Détection des antigènes viraux	28
4.1.3. Culture pour isolement viral	29
4.1.4. Examen cytologique	29
4.2. Diagnostic indirect.....	29
Traitement	30
5.1. Molécules anti-virales	30
5.1.1. Analogues nucléosidiques	30
5.1.1.1. Ganciclovir (GCV) et valganciclovir (VGCV).....	30

5.1.1.2.	Aciclovir (ACV) et valaciclovir (Val-ACV)	31
5.1.2.	Autres drogues	31
5.1.2.1.	Foscarnet (PFA).....	32
5.1.2.2.	Cidofovir (CDV).....	32
5.1.3.	Nouvelles molécules.....	33
5.1.3.1.	Maribavir	33
5.1.3.2.	Artesunate.....	34
5.2.	Stratégies thérapeutiques	34
5.2.1.	Traitement curatif.....	34
5.2.2.	Traitement préventif : prophylactique/pré-emptif	35
Mécanismes de résistance		37
6.1.	Généralités	37
6.2.	Définitions	38
6.3.	Epidémiologie	38
6.4.	Facteurs de risque.....	38
6.5.	Mécanismes moléculaires.....	39
6.5.1.	Analyse génotypique.....	39
6.5.2.	Analyse phénotypique.....	41
6.6.	Algorithme décisionnel.....	41
6.7.	Récurrence virale	42
ETUDE EXPERIMENTALE		43
INTRODUCTION.....		44
MATERIEL ET METHODES		45
RESULTATS		48
Population d'étude.....		48
Prophylaxie		50
Incidence de la réplication virale		51
Incidence de la résistance virologique.....		52
Mutations UL97 et UL54		52
Comparaison des caractéristiques clinico-biologiques R+/R-		53
Evolution en cas de résistance virologique.....		58
Résistance clinique		61
Mortalité globale à 1 an		64
Rejets dans la première année post greffe		64
DISCUSSION.....		65
CONCLUSION		73
BIBLIOGRAPHIE		74

Etude bibliographique

VIRUS CMV

1.1. HISTORIQUE

En 1904, Ribbert, Jesionek et Kiolemenoglou décrivent pour la première fois la présence de grandes cellules à inclusions intra-nucléaires en œil de hibou dans les reins, les poumons, le foie ainsi que la parotide de fœtus et d'enfants morts nés. Dans les années 20, Cole et Kuttner envisagent l'origine virale de cette affection alors nommée « maladie des inclusions cytomégaliqes » en montrant un rapprochement de ces lésions avec les cellules de lésions cutanées de la varicelle ainsi que l'étude histologique de glandes salivaires de cochons d'Inde infectés. Son isolement a été réalisé par la suite dans les années 50 par 4 groupes indépendants. Cependant, l'agent responsable de la maladie ne sera isolé sur des fibroblastes humains cultivés in vitro qu'en 1956 par Smith. Weller propose dès 1960 de nommer cet agent « cytomégalovirus » en raison de la morphologie des cellules infectées. Par la suite, des études sérologiques montreront que l'infection à CMV est largement répandue dans le monde, et confirmeront son rôle étiologique dans les syndromes mononucléotiques. L'étude structurale et génomique du virus a permis de le classer dans la famille des *Herpesviridae*.

1.2. CLASSIFICATION

Le Cytomégalovirus humain ou herpès virus humain 5 appartient à la famille des *Herpesviridae* dans laquelle on dénombre 8 virus infectant l'homme. Ils sont classés en trois sous familles (alpha-, bêta-, et gamma herpes viridae) selon la structure de leur génome viral, et les modalités du cycle répliatif.

Type	Synonyme	Sous-famille	Genre
HHV-1	Virus herpes simplex type 1 (VHS-1)	<i>Alpha (α)</i>	Simplexvirus
HHV-2	Virus herpes simplex type 2 (VHS-2)	<i>Alpha (α)</i>	Simplexvirus
HHV-3	Virus varicelle-zona (VZV)	<i>Alpha (α)</i>	Varicellovirus
HHV-4	Epstein-Barr (EBV)	<i>Gamma (γ)</i>	Lymphocryptovirus
HHV-5	Cytomegalovirus humain (HCMV)	<i>Beta (β)</i>	Cytomégalovirus
HHV-6, -7	Virus de la roséole	<i>Beta (β)</i>	Roséolovirus
HHV-8	Virus associé au sarcome de Kaposi	<i>Gamma (γ)</i>	Rhadinovirus

Figure 1 : Classification des herpes virus

Son réservoir est strictement humain, et du fait de sa fragilité, la transmission se fait par contact étroit avec tous les fluides biologiques. Il se caractérise par une étroite spécificité d'hôte, un cycle répliatif long, et une capacité à persister à l'état latent dans de nombreux tissus tels que les monocytes du sang périphérique, les cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse, ou les tissus glandulaires.

1.3. STRUCTURE VIRALE

Virion de 150 à 200nm de diamètre, sa structure est commune à l'ensemble des virus de la famille des herpes viridae.

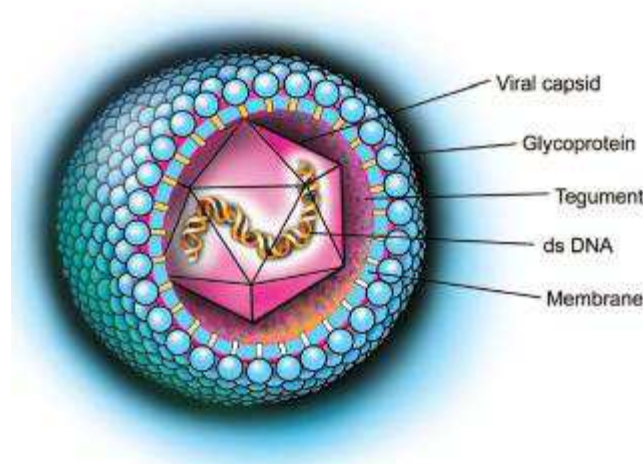


Figure 2 : Structure du CMV (1)

Le CMV est un virus à ADN double brin de très longue taille (environ 248kpb). Cette double hélice est protégée par une capside icosaédrique de 100nm de diamètre constituée de 162 capsomères, elle-même séparée de l'enveloppe glycoprotéique par une matrice phosphoprotéique appelée tégument.

1.3.1. LA NUCLEOCAPSIDE

La nucléocapside est composée de 7 protéines :

- La protéine majeure de la capside ou **MCP** (Major Capsid Protein) est codée par le gène UL86. Elle est le constituant principal des pentamères et hexamères de la structure icosaédrique de la capside.
- La protéine mineure de capside ou **mCP** (minor Capsid Protein) est codée par le gène UL85. Localisée sur la face interne de la capside, elle permet l'ancrage de l'ADN à la capside.

- La protéine mineure de fixation de la capside ou protéine **mC-BP** (minor Capsid-Binding Protein) est codée par le gène UL46. Majoritairement présente sous forme de triplex, elle assure le maintien des pentamères et des hexamères entre eux.
- La petite protéine de capside, **SCP** (Smallest Capsid Protein), aussi nommée protéine UL48/49, participerait à la cohésion de la capside en tapissant les extrémités des hexamères.
- Trois protéines dérivent du peptide de 708 acides aminés codés par le gène UL80, parmi lesquelles la **protéine AP** (Assembly Protein), qui joue un rôle important dans l'étape d'encapsidation de l'ADN viral.

1.3.2. LES PROTEINES DU TEGUMENT

La majorité des protéines du tégument sont des protéines phosphorylées. Deux semblent jouer un rôle important dans la régulation des gènes viraux et dans la réplication virale : pp65 ou ppUL83 et pp150 ou ppUL32. La protéine pp65 représente environ 95% des protéines du tégument. Elle comporte des signaux de transfert nucléaire expliquant sa localisation dans les noyaux des cellules infectées quelques minutes seulement après l'infection. Bien d'autres protéines existent mais leur fonction reste pour la plupart indéterminée.

1.3.3. L'ENVELOPPE VIRALE

L'enveloppe virale est une bicouche lipidique d'origine cellulaire. Elle possède à sa surface une multitude de glycoprotéines virales dont les mieux connues sont gB, gH, gL, gO, gM, gN. Elles jouent un rôle essentiel dans la transmission du virus de cellule à cellule, la pénétration du virus dans la cellule hôte et dans la formation du syncytia. La glycoprotéine gB est très immunogène et constitue une cible majeure pour les anticorps neutralisants. L'enveloppe confère au virion une sensibilité particulière aux solvants des lipides, au pH bas et à la chaleur.

1.3.4. LE GENOME VIRAL

Le génome est une molécule d'ADN linéaire bicaténaire de 229 354 pb soit près de 155.10^6 Da, enroulée autour d'un noyau de protéines ou core. C'est le génome le plus long parmi celui de tous les herpes viridae.

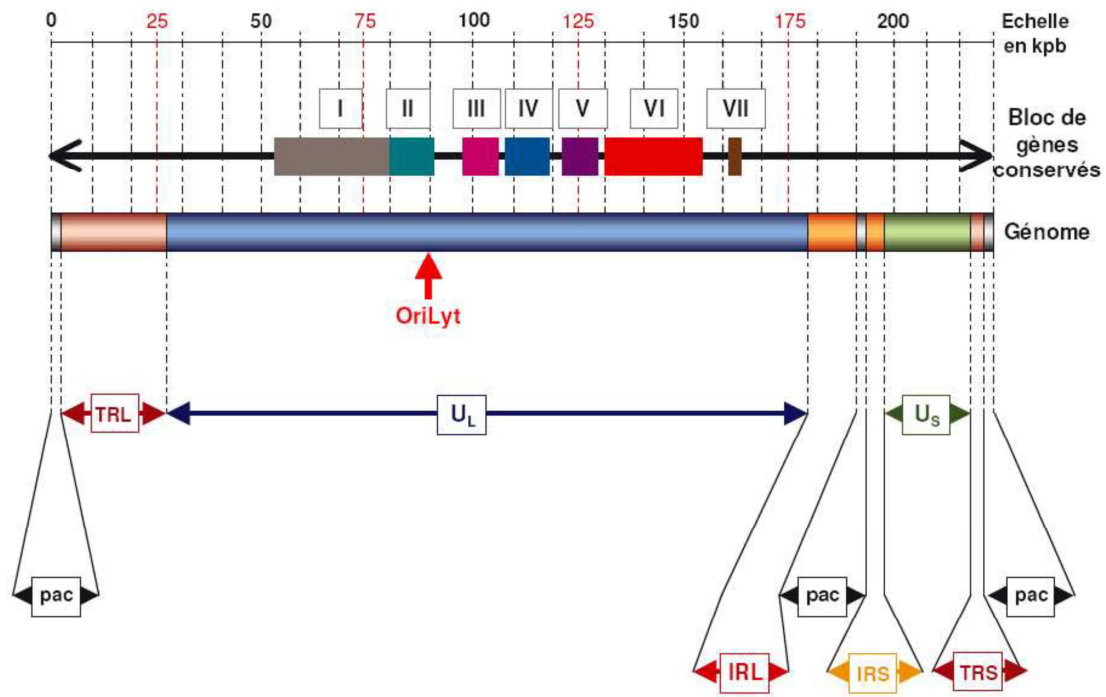


Figure 3 : Génome du CMV

Il est constitué de deux régions uniques et non répétées : une région longue (UL : Unique Long) correspondant à 82% du génome et une région courte (US : Unique Short). Chacune de ses régions est flanquée de séquences répétitives (TR : Terminal Repeat) appelées TRL à l'extrémité de la séquence UL, TRS à l'extrémité de la séquence US, et nommées IRL et IRS à l'intersection des deux segments. Cette structure est elle-même flanquée de signaux d'empaquetage ou séquences « pac » (de part et d'autre du génome et entre IRL et IRS). Ces séquences sont impliquées dans l'encapsidation de l'ADN viral. L'étude du génome des herpes virus a prouvé l'existence de sept groupes de gènes notés I à VII dans le segment unique long. Les 229 354 paires de bases du génome de la souche de référence AD169 ont été complètement séquencées et codent plus de 208 gènes répartis sur la totalité du génome. Les gènes sont nommés selon leur localisation au sein des régions UL et US (UL1, UL2 ...). Exprimés en cascade au cours du cycle viral, ils sont classés en trois groupes correspondant aux trois phases de la transcription et de la traduction.

- ✓ Les gènes très précoces ou IE (Immediate Early) ou gènes alpha codent les protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire.
- ✓ Les gènes précoces ou E (Early) ou gènes bêta codent les protéines intervenant dans la réplication virale.
- ✓ Les gènes tardifs ou L (Late) ou gènes gamma codent pour les protéines de capsid, les protéines de l'enveloppe et les protéines du tégument.

INFECTION A CMV

2.1. EPIDEMIOLOGIE

L'infection à CMV est endémique sans recrudescence saisonnière. Elle est acquise dans la petite enfance, en particulier dans les collectivités. Ce sont souvent les nourrissons infectés qui contaminent les femmes enceintes qui n'ont jamais rencontré le virus, les exposant ainsi à une primo-infection et à une atteinte fœtale (2). Elle est ubiquitaire mais est favorisée par des conditions socio-économiques précaires : le pourcentage d'adultes ayant des anticorps vis-à-vis du CMV est inférieur à 50% en France, ou dans les classes moyennes aux Etats Unis, alors qu'il atteint 90 à 100% dans certains pays en voie de développement d'Afrique et d'Asie. Son réservoir est strictement humain. La transmission sexuelle de l'infection est objectivée par un deuxième pic de séroconversion chez l'adolescent et l'adulte jeune. La séropositivité est alors en rapport avec le nombre de partenaires sexuels et l'âge du premier rapport. Principal agent opportuniste viral, 80% des patients infectés par le VIH sont également infectés par le CMV. La transmission par les tissus greffés est fréquente, puisque la moitié des donneurs sont séropositifs et hébergent le virus. La présence du virus dans les leucocytes du sang périphérique était à l'origine de transmission par les produits sanguins labiles, avant l'utilisation du sang déleucocyté.

Du fait de sa fragilité dans le milieu extérieur et de sa grande spécificité d'hôte, la transmission est essentiellement interhumaine. Le CMV est sensible aux pH acides, détruit par les solvants et ne résiste pas à la chaleur. Il perd rapidement son pouvoir infectieux à la surface d'objets ou de supports inertes. La transmission se fait donc par contact étroit ou intime avec les larmes, la salive, les urines, le lait maternel, le sperme ou les sécrétions génitales de personnes répliquant activement le virus.

Dans les pays développés, le CMV représente la première cause d'infection congénitale virale. En France, l'incidence de la primo-infection au cours de la grossesse est estimée entre 0.3 et 1.4% (3) (4) (5) alors qu'elle est de 4% pour les infections secondaires (6). La prévalence de l'infection congénitale à CMV est quant à elle estimée à 1%. La transmission materno-fœtale in utero est hématogène transplacentaire ; elle a lieu au cours d'une virémie maternelle. Elle peut aussi être périnatale avec exposition au virus lors du passage des voies génitales ou post natale en cas d'allaitement maternel.

2.2. MULTIPLICATION DU VIRUS

Son cycle répliatif n'est complet que dans les cellules d'origine humaine. Les fibroblastes humains sont les cellules de choix car ils permettent in vitro une production de virions en grande quantité. La réplication virale se traduit par un effet cytopathique (ECP) caractéristique constitué de cellules augmentées de volume et réfringentes.

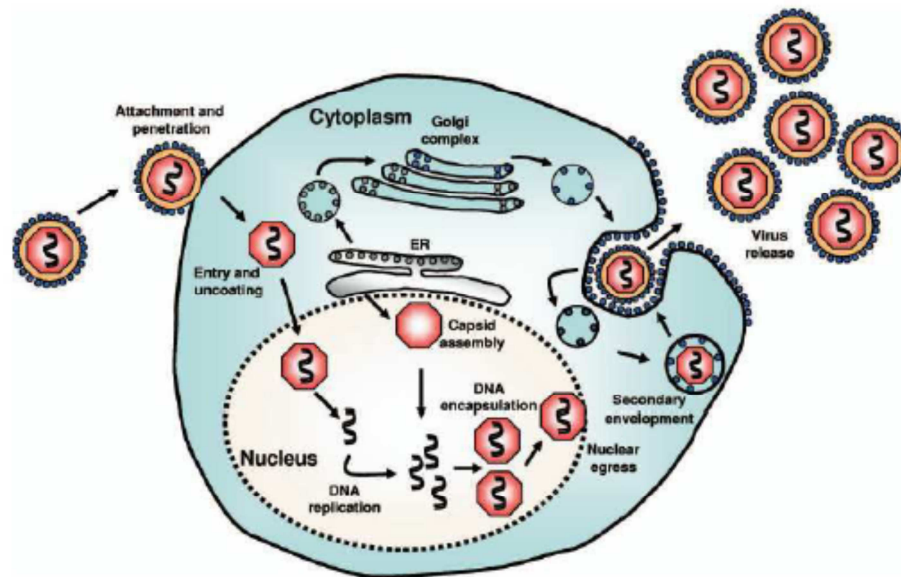


Figure 4 : Cycle de réplication du CMV (1)

Le contact initial du virion avec la cellule fait intervenir l'héparane-sulfate, à la surface cellulaire. L'attachement du virion à ses récepteurs (encore mal connus) est rapidement suivi de la fusion de l'enveloppe avec la membrane cellulaire. Le processus d'entrée requiert les glycoprotéines gB, gH-gL et probablement gO et gM-gN. Les protéines du tégment qui sont impliquées dans la régulation du cycle cellulaire sont libérées dans le cytoplasme. La nucléocapside est immédiatement transportée vers le noyau et l'ADN viral est libéré au niveau des pores nucléaires. La transcription et la traduction des gènes viraux se déroulent en trois phases coordonnées en cascade : très précoce ou IE, précoce ou E et tardive ou L.

La phosphoprotéine du tégment ppUL82 apportée par le virion stimule la transcription des gènes IE. Les gènes très précoces IE1 et IE2 sont abondamment transcrits à partir d'un promoteur-activateur puissant. Les protéines très précoces majeures sont impliquées dans l'activation et la répression des gènes viraux et cellulaires et régulent la transcription de leur propre promoteur. Leur expression permet le détournement du métabolisme cellulaire au profit de la réplication virale, l'inhibition de la réplication de l'ADN cellulaire et le déclenchement de la phase précoce.

La phase précoce correspond à la synthèse de protéines nécessaires à la réplication du génome, notamment l'ADN polymérase UL54, et sa protéine accessoire UL44, une hélicase et une DNAase. La synthèse de l'ADN viral s'effectue selon le modèle du cercle roulant. L'ADN viral est synthétisé sous forme de concatémères, longues molécules d'ADN constituées d'une succession d'unités de génome, séparées par des séquences « pac ».

Pendant la phase tardive, qui suit le début de la réplication de l'ADN viral, sont synthétisées les protéines structurales du virion. Les concatémères sont clivés au niveau des séquences « pac » et empaquetés dans les capsides. L'ensemble de ce processus nommé encapsidation a lieu dans le noyau.

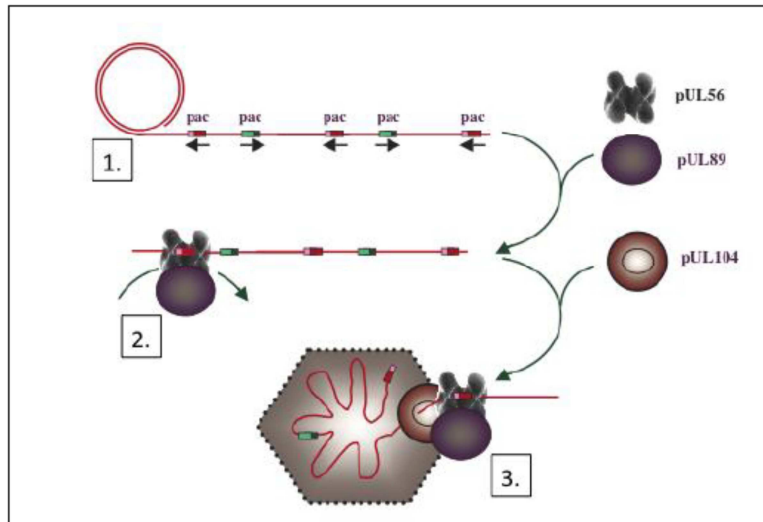


Figure 5 : Réplication et encapsidation de l'ADN viral (7)

En quittant le noyau, la nucléocapside s'enveloppe dans la membrane interne du noyau. Cette enveloppe provisoire est ensuite perdue dans le cytoplasme. Pendant la phase tardive, sont également produites des phosphoprotéines dont pp65, pp150, UL28 et UL71. La protéine pp65 peut se complexer pour former des agrégats protéiques qui formeront la substance amorphe autour de la capsid qui constituera le tégument. L'enveloppe définitive et les protéines virales de l'enveloppe sont acquises au niveau de l'ergastoplasme et/ou appareil de Golgi et la particule enveloppée sort de la cellule par fusion des membranes des vésicules intra-cellulaires avec la membrane de la cellule.

2.3. PHYSIOPATHOLOGIE

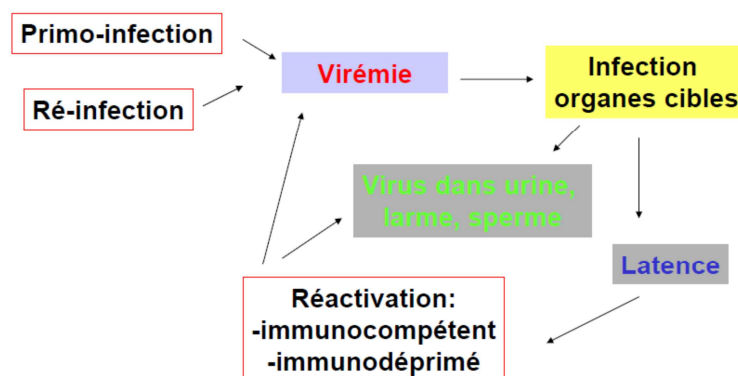


Figure 6 : Physiopathologie de l'infection à CMV (d'après Alain, 2008)

2.3.1. TROPISME CELLULAIRE

L'acquisition du virus par voie respiratoire, sexuelle, sanguine ou materno-fœtale est suivie d'une phase de dissémination sanguine transitoire qui permet au virus d'atteindre ses organes cibles. Cette capacité à disséminer dans tout l'organisme est liée à la multiplicité des types cellulaires que le virus peut infecter (cellules endothéliales, épithéliales et fibroblastiques). Une fois ces cellules cibles atteintes, la diffusion du virus se fait de cellule à cellule. Les épithéliums forment l'interface entre l'organisme et son environnement, et interviennent dans la pénétration et l'excrétion du virus. Les fibroblastes sont une cible essentielle de l'infection permettant sa propagation dans de nombreux organes comme le placenta, le poumon ou l'intestin. Une réplication virale intense dans le tissu conjonctif peut affecter l'intégrité structurale des tissus. L'infection des cellules stromales de la moelle osseuse est associée à une inhibition de l'hématopoïèse.

2.3.2. DISSEMINATION SANGUINE

Les cellules endothéliales infectées, capables de répliquer abondamment le virus, constituent l'interface entre les différents organes et la circulation sanguine. Elles libèrent des particules virales ou des cellules infectées dans la circulation et participent ainsi à l'infection d'autres tissus. De plus, elles recrutent les polynucléaires circulants par la sécrétion de chimiokines (en particulier IL8 et GROalpha). Ces polynucléaires acquièrent par contact direct de cellule à cellule des virions matures et la protéine pUL83 (pp65) qui se localise au noyau du fait de son ciblage nucléaire. Ils ne sont pas permissifs pour la réplication virale mais participent à la dissémination de l'infection. Les cellules endothéliales infectées transmettent le virus aux monocytes circulants, eux-mêmes capables de transmettre le virus à des cellules non infectées. Les monocytes deviennent capables de répliquer le virus lorsqu'ils se différencient en macrophages, qui peuvent disséminer le virus dans les tissus. Les cellules endothéliales infectées peuvent induire elles-mêmes l'infection d'un organe lorsqu'elles se détachent, circulent et sont séquestrées du fait de leur taille dans les capillaires.

2.3.3. LATENCE ET REACTIVATION

Après la primo-infection, le CMV persiste à l'état latent dans l'organisme. Les sites de latence sont multiples, notamment les cellules endothéliales, épithéliales, les progéniteurs médullaires, les monocytes circulants ou les cellules du muscle lisse. Actuellement, la capacité d'héberger naturellement le virus à l'état latent n'a été démontrée que pour les monocytes du sang périphérique et les progéniteurs CD34+ de la moelle osseuse. Le génome y est présent sous forme épisomale. Les mécanismes moléculaires de maintien de latence sont peu connus. Des transcrits sens et anti-sens des

régions très précoces majeures ont été décrits dans les progéniteurs de la moelle osseuse au cours de la phase de latence, alors qu'ils sont absents des cellules qui répliquent le virus.

Le virus se réactive périodiquement à la faveur d'une baisse de l'immunité de l'hôte d'où l'existence d'une excrétion virale intermittente au niveau du pharynx, des urines, ou du sperme constituant une source potentielle de transmission.

2.3.4. REPOSE IMMUNITAIRE

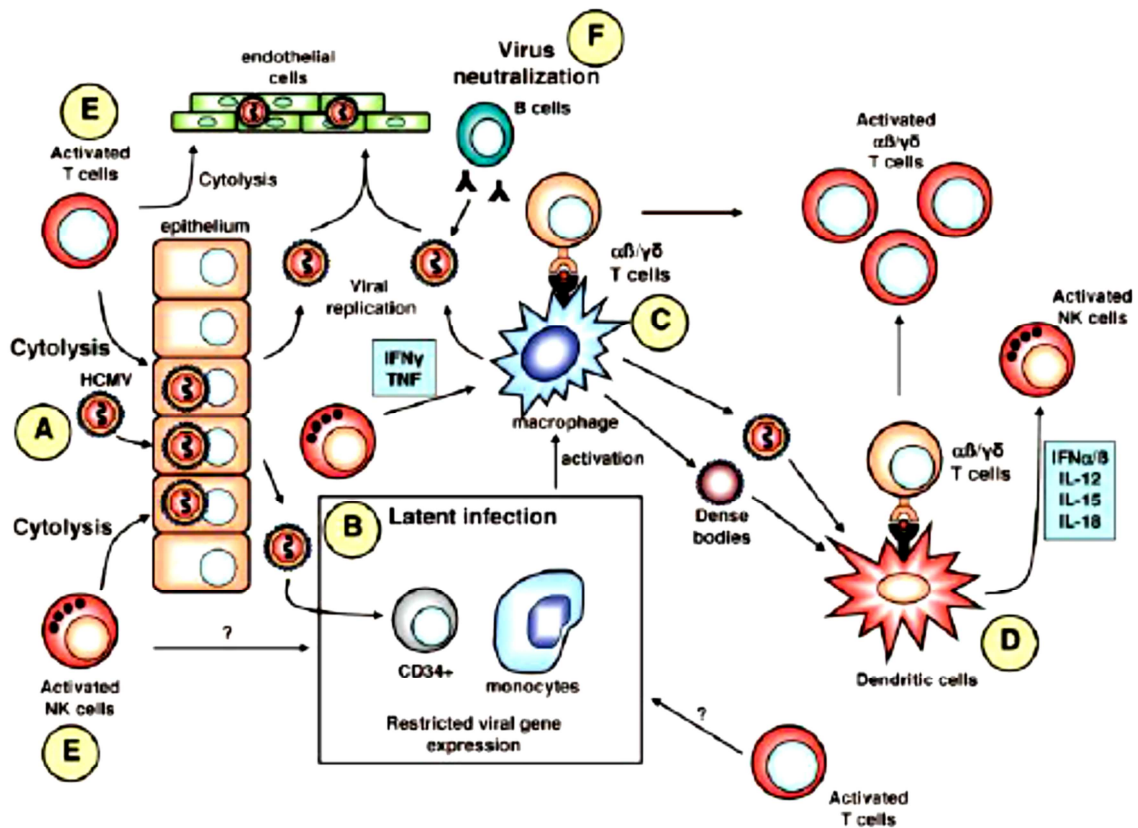


Figure 7 : Réponse immune anti-CMV (1)

2.3.4.1. ROLE DE L'IMMUNITE INNEE

L'activation du système immunitaire inné induit une sécrétion de cytokines inflammatoires et engendre l'activation des cellules dendritiques, des macrophages ainsi que des cellules NK. Les cellules NK lysent directement les cellules infectées tandis que les macrophages et cellules dendritiques activent une réponse immunitaire adaptative.

2.3.4.2. ROLE DE L'IMMUNITE ADAPTATIVE

Une réponse humorale précoce de type IgM est détectable dans le sérum 4 à 7 semaines après la primo-infection. Cette réponse est dirigée contre un nombre limité de protéines virales, les plus immunogènes étant les protéines du tégument ppUL32 (pp150), ppUL83 (pp65), ppUL99 (pp28). Des IgM spécifiques sont détectées dans un cas sur deux au cours de l'infection secondaire. La protéine UL44, protéine accessoire de l'ADN polymérase, en est la cible principale. Les lymphocytes B sécrètent des anticorps neutralisants avec pour cible principale la glycoprotéine d'enveloppe gB.

La réponse dépendant des lymphocytes T reste le mécanisme prédominant du contrôle de l'infection à CMV, comme en témoigne la sévérité de la maladie à CMV chez les patients qui ont un déficit de l'immunité cellulaire. Les CD4 reconnaissent dans le contexte du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II les antigènes viraux à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (glycoprotéines d'enveloppe gB et gH, des protéines très précoces IE1, IE2 et UL69, et de la protéine du tégument pUL83). Les lymphocytes T CD4+ activés produisent des cytokines qui activent la réponse cytotoxique CD8+ ou induisent la réponse anticorps via l'activation des lymphocytes B. Par ailleurs, ils possèdent une activité cytotoxique vis à vis des cellules qui expriment les épitopes viraux dans le CMH de classe II.

L'immunité cellulaire et humorale ne protègent pas des réinfections ou des réactivations mais en diminuent les conséquences cliniques. Le CMV, virus parfaitement adapté à son hôte, a développé des stratégies complexes d'échappement au système immunitaire par dissimulation, action antagoniste et détournement du système immunitaire au profit de la dissémination virale. Les principaux mécanismes sont :

- ✓ La perturbation de la maturation des cellules dendritiques marquée par une baisse d'expression des molécules de co-stimulation CD80/CD86 et des complexes CMH I aboutissant à une anergie des lymphocytes T CMV spécifiques
- ✓ L'expression d'une protéine virale à action immunosuppressive
- ✓ L'inhibition de l'activité cytotoxique des cellules NK par une protéine codée par UL-18.

MANIFESTATIONS CLINIQUES

3.1. CHEZ LE SUJET IMMUNOCOMPÉTENT

L'infection est asymptomatique dans 90% des cas. Les manifestations cliniques et biologiques apparaissent après une incubation prolongée (30 jours) et traduisent le plus souvent une primo-infection. La forme la plus typique chez l'adulte se traduit essentiellement par une fièvre prolongée accompagnée d'un syndrome mononucléotique. Cependant, dans de rares cas, la primo-infection à CMV peut donner des tableaux graves tels que des pneumopathies interstitielles, des hépatites aiguës, des anémies hémolytiques, des atteintes cardiaques (myocardite, péricardite), digestives (colite, gastrite hypertrophique), ou neurologiques (encéphalite, méningite aseptique, polyradiculonévrite de Guillain Barré) (8). Une fois infecté, le sujet reste porteur du virus à l'état latent. Des réactivations de même que des ré-infections peuvent survenir mais restent asymptomatiques.

L'infection maternelle primaire est en général asymptomatique ou bien se manifeste par des signes peu spécifiques. Dans leur étude rétrospective, Revello et al ont décrit les signes présentés par des femmes enceintes développant une primo-infection à CMV : fièvre (53%), asthénie (50%), céphalées (30%), signes fonctionnels respiratoires (30%), malaise (25%) (9). L'infection maternelle du 1^{er} trimestre entraîne plus de séquelles (36%) que celle du deuxième (25%) et surtout celle du 3^{ème} trimestre (8%). Les signes d'infection in utero sont majoritairement mis en évidence par l'échographie. Les signes les plus évocateurs sont : un retard de croissance global, des anomalies cérébrales (microcéphalie, dilatation ventriculaire...), une hépato-splénomégalie, un hydramnios, une hyperéchogénicité du grêle (10) (11).

Les nouveaux nés infectés peuvent être symptomatiques (10% des cas) ou non. Parmi les nouveau-nés asymptomatiques, on considère qu'environ 5 à 10% d'entre eux développeront ultérieurement des séquelles neurosensorielles de gravité variable.

Un nouveau-né symptomatique est défini par l'existence de signes cliniques et/ou biologiques et/ou radiologiques. Les signes cliniques les plus fréquents sont : pétéchies (76%), ictère (67%), hépato-splénomégalie (60%), et microcéphalie (53%) (12).

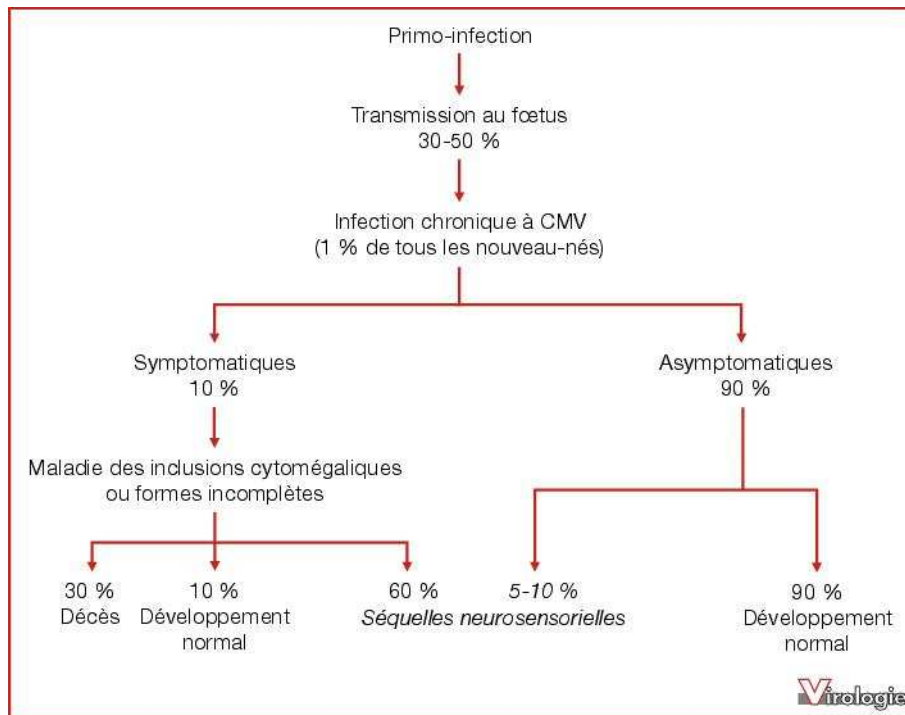


Figure 8 : Conséquences de l'infection materno-foetale à CMV (13)

3.2. CHEZ L'IMMUNODEPRIME : CAS DU TRANSPLANTE RENAL

3.2.1. EPIDEMIOLOGIE

En transplantation d'organe, l'infection à CMV est une pathologie opportuniste fréquente et grave, responsable d'une morbi-mortalité importante. Le risque d'infection varie en fonction du type d'organe greffé. L'incidence de l'infection à CMV chez les greffés rénaux est estimée entre 8 et 32% (14) ; elle s'élève à près de 70% à 3 mois post greffe en absence de prophylaxie dans les groupes à risque (D+/R- ou D+/R+) (15).

Organ transplanted	Frequency of CMV disease (%) ^a	Organ predisposed to infection
Kidney	8-32	
Liver	22-29	Liver
Heart	9-35	
Kidney-pancreas	50	Pancreas
Small bowel	22	Intestine
Heart-lung	39-41	Lung

Tableau 1 : Incidence de l'infection à CMV en fonction de l'organe greffé (14)

En l'absence de prophylaxie, l'infection se manifeste le plus souvent entre le 1^{er} et le 4^{ème} mois post greffe, au moment où l'immunosuppression est la plus importante. Cependant, grâce à l'utilisation du traitement prophylactique, l'infection apparaît désormais plus tardivement dans la première année. C'est pourquoi, chez les patients à risque (D+/R- ou R+), il est recommandé de réaliser une surveillance mensuelle du CMV durant la 1^{ère} année post-greffe.

Summary of recommendations for CMV screening, monitoring and reporting

- Screening
 - Donor and recipient should be screened by CMV serology prior to transplant.
- Monitoring
 - Immunosuppression trials should include a laboratory monitoring strategy for CMV for all risk groups except D-/R- patients.
 - Monitoring once a month (using a quantitative viral load assay) for the first year post-transplant is recommended. However, the duration and frequency may vary depending on the type of trial and the type of CMV prevention strategy.
- Reporting
 - Standard definitions for CMV infection and disease should be agreed upon prior to initiation of the study

Tableau 2 : Recommandations pour le dépistage et la surveillance de l'infection à CMV (16)

3.2.2. FACTEURS DE RISQUE

Les facteurs de risque d'infection à CMV sont :

- ✓ le statut sérologique (D+/R-) qui représente le facteur de risque le plus important (17)
- ✓ l'utilisation de sérum anti-lymphocytaire ou d'anticorps monoclonaux anti-CD3 (18)
- ✓ l'âge élevé du receveur (19)
- ✓ le rejet aigu ou chronique du greffon via la production de TNF α (20) (21)
- ✓ les situations de stress infectieux par le biais de la production de catécholamines et de TNF α (22).

3.2.3. PRESENTATION CLINIQUE

Les conséquences de l'infection à CMV peuvent être divisées en deux catégories : les effets directs du virus et les effets indirects (23).

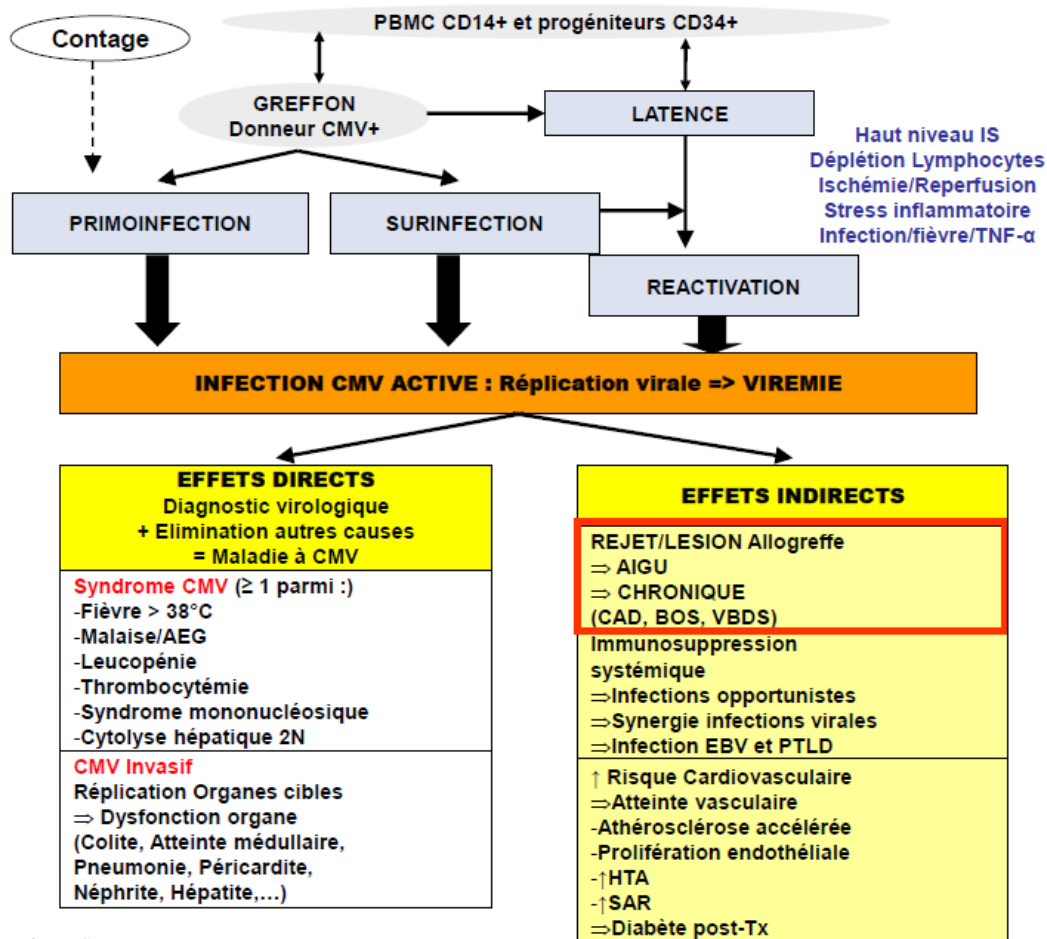


Figure 9 : Effets directs et indirects de l'infection à CMV (23)

3.2.3.1. EFFETS DIRECTS DE L'INFECTION A CMV

L'infection à CMV peut-être symptomatique, allant du syndrome CMV, tableau viral aspécifique associant fièvre, altération de l'état général, leucopénie, thrombopénie, perturbation du bilan hépatique, à la maladie à CMV touchant un ou plusieurs organes (poumon, tube digestif, foie...). La biopsie tissulaire doit retrouver le virus pour porter le diagnostic d'infection d'organe à CMV. L'infection peut également être asymptomatique uniquement détectable par les techniques virologiques (PCR, antigénémie, culture).

Disease type	Probable	Definite
CMV syndrome	One or more of the following: 1. Fever >38°C for at least 2 days 2. New or increased malaise 3. Leukopenia 4. ≥5% atypical lymphocytes 5. Thrombocytopenia 6. Elevation of hepatic transaminases (ALT or AST) to 2 × upper limit of normal (applicable to nonliver transplant recipients) plus evidence of CMV in blood by viral culture, antigenemia or a DNA/RNA-based assay	Clinical and laboratory findings as in "probable" case and no other cause of symptoms/signs identified
Pneumonia ¹	Signs and/or symptoms of pulmonary disease in the absence of other documented cause plus evidence of CMV in blood and/or ³ bronchoalveolar lavage (BAL) fluid by viral culture, antigenemia or a DNA/RNA-based assay	Signs and/or symptoms of pulmonary disease plus detection of CMV in lung tissue by culture, immunohistochemical analysis or <i>in situ</i> hybridization ⁴ with or without evidence of CMV in blood or BAL fluid by viral culture, antigenemia (BAL) or a DNA/RNA-based assay
Gastrointestinal disease	Symptoms of upper or lower gastrointestinal disease plus macroscopic mucosal lesions on endoscopy plus evidence of CMV in blood or biopsy tissue by viral culture, antigenemia or an RNA/DNA-based assay	Symptoms or signs of upper or lower gastrointestinal disease plus detection of CMV in gastrointestinal tissue by culture, immunohistochemical analysis or <i>in situ</i> hybridization ⁴
Hepatitis	Elevation of bilirubin and/or hepatic enzymes in the absence of other documented cause of hepatitis ² plus evidence of CMV in blood by anti-genemia or a DNR/RNA-based assay	Elevation of bilirubin and/or hepatic enzymes plus detection of CMV in liver tissue by culture, immunohistochemical analysis or <i>in situ</i> hybridization ⁴
CNS disease	CNS symptoms in the absence of other documented cause plus evidence for CMV in CSF samples by viral culture or DNA-based assay	CNS symptoms plus detection of CMV in CNS tissue by culture, immuno-histochemical analysis or <i>in situ</i> hybridization ⁴
Retinitis	Not applicable	Lesions typical of CMV retinitis must be confirmed by an ophthalmologist
Other tissue invasive disease (nephritis, cystitis, myocarditis, pancreatitis, etc.)	Evidence of organ dysfunction in the absence of other documented cause ² plus evidence of CMV in blood by viral culture, antigenemia or DNA/RNA-based assay	Symptoms/signs of organ dysfunction plus detection of CMV in affected tissue by culture, immunohistochemical analysis or <i>in situ</i> hybridization ⁴

¹Superinfection or coinfection with other pathogens may occur and should be noted when present.

²If affected organ is the allograft, acute rejection must be excluded as a cause for the clinical symptoms.

³The detection of CMV in both BAL and peripheral blood strengthens the evidence for probable CMV pneumonitis.

⁴Although, immunohistochemistry and *in situ* hybridization techniques are more sensitive for the detection of CMV-infected cells than morphologic examination, the presence of typical cytomegalovirus inclusions should be considered evidence of definite disease.

Tableau 3 : Définitions internationales pour la maladie à CMV en transplantation d'organe (16)

3.2.3.2. EFFETS INDIRECTS DE L'INFECTION A CMV

Outre ces effets directs sur les organes cibles, le CMV est responsable d'une morbidité élevée de par ses effets indirects. Ceux-ci surviennent quel que soit le niveau de réplication virale et résultent d'une action immunomodulatrice du virus sur le système immunitaire.

SURVIE DU GREFFON :

Le rôle délétère de l'infection à CMV sur la survie du greffon est bien établi. En 1999, Legendre et al ont montré qu'une prophylaxie anti-CMV chez des patients greffés rénaux, D+/R-, diminuait le taux

de rejet aigu de 50% comparativement à ceux recevant un placebo (24). Plus récemment, dans une étude prospective de près de 500 patients greffés rénaux, D+/R-, ne recevant pas de prophylaxie anti-CMV, l'infection asymptomatique à CMV durant les 3 premiers mois post greffe était responsable d'une diminution de la survie du greffon après un suivi de plus de 6 ans. De même, la maladie à CMV durant les 3 premiers mois de la transplantation, était associée à une diminution de la survie du greffon (25).

Le CMV peut également induire une vasculopathie d'allogreffe marquée par un épaissement intimal (26), et favoriser le développement de lésions de fibrose interstitielle atrophie tubulaire (FIAT) (27). Des lésions glomérulaires (inclusions cytoplasmiques épithéliales, rétrécissement ou oblitération de la lumière des capillaires, hypertrophie endothéliale) ont également été rapportées (28).

COMPLICATIONS INFECTIEUSES :

Le CMV entraîne un état d'immunodépression responsable d'un risque accru d'infections opportunistes. Peu d'études chez le greffé rénal ont été réalisées comparativement aux transplantés hépatiques. La combinaison de différentes études rapportées par Hudson en 2005 a montré que le risque d'infections virales (HSV, VZV), bactériennes et parasitaires était significativement diminué par l'utilisation d'une prophylaxie anti-CMV chez une population de patients transplantés d'organes (29).

COMPLICATIONS METABOLIQUES :

Dans une étude menée chez 124 patients transplantés rénaux, la réactivation asymptomatique du CMV était corrélée à un risque accru de développement d'un diabète dans les 3 mois post-greffe, après ajustement pour l'ensemble des facteurs confondants (30). Dans cette même étude, il a été démontré que la sécrétion d'insuline après une épreuve d'HGPO était significativement plus faible dans le groupe de patients infectés par le CMV. Le virus pourrait infecter directement les cellules insulaires pancréatiques. Il pourrait également entraîner une auto-réactivité lymphocytaire T vis-à-vis des îlots B pancréatiques, en particulier l'antigène GAD65.

RISQUE CARCINOGENE :

Des études récentes ont mis en évidence au sein de certaines tumeurs malignes, notamment les tumeurs coliques et les gliomes, certaines protéines et séquences d'acides nucléiques du CMV lui conférant ainsi un rôle dans la pathogénèse des processus néoplasiques (31) (32). Cependant, ces données sont contre-balançées par d'autres études. En cas d'infection à CMV, différentes analyses ont montré l'émergence d'un répertoire lymphocytaire T $\gamma\delta$ (33). Dans une étude rétrospective menée par Couzi et al, il existe une association significative entre un nombre élevé de ce même répertoire

lymphocytaire et un faible taux d'incidence de cancers dans une population de patients transplantés rénaux ayant déjà rencontré le virus en pré ou post greffe (34), conférant ainsi un rôle plutôt protecteur de l'infection virale vis-à-vis du risque de cancer.

DIAGNOSTIC

Le diagnostic virologique a considérablement évolué durant la dernière décennie. On peut recourir à des méthodes de diagnostic direct recherchant le virus par culture, ou ses constituants antigéniques ou génomiques. Il est également possible de rechercher les stigmates sérologiques de la primo-infection par la détection des anticorps anti-CMV par technique immunoenzymatique (ELISA) ou par mesure de l'avidité des IgG anti-CMV.

4.1. DIAGNOSTIC DIRECT

4.1.1. DETECTION DE L'ADN GENOMIQUE

Elle est réalisée par des techniques de biologie moléculaire après amplification par PCR. Facile et rapide à mettre en œuvre, les résultats peuvent être obtenus 3 heures après extraction. Cette technique, applicable à tous les types de prélèvements, présente l'avantage d'être réalisable de manière différée sur des prélèvements congelés et d'être automatisable. En 2007, Deback et al (35) ont montré que la PCR CMV se positivait en moyenne 14 jours plus tôt que l'antigénémie pp65 et qu'elle demeurait positive plus longtemps. La détection de l'ADN viral par PCR est actuellement la technique de référence pour le diagnostic d'infection à CMV.

4.1.2. DETECTION DES ANTIGENES VIRAUX

Cette technique permet de détecter et de quantifier la virémie à CMV. La présence du virus dans les leucocytes est révélée par immunofluorescence à l'aide d'anticorps monoclonaux dirigés contre la protéine du tégument pp65. Les cellules positives présentent une fluorescence nucléaire caractéristique. Les résultats sont exprimés en nombre de cellules positives pour $2 * 10^5$ leucocytes examinés.

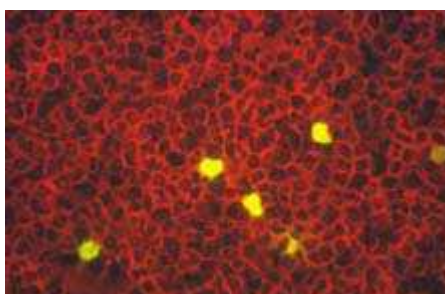


Figure 10 : Antigénémie pp65 positive : fluorescence jaune + (d'après Mammette, 2002)

Cette méthode a l'avantage d'être quantitative, cependant, les résultats peuvent être pris en défaut chez les patients neutropéniques, et de par sa lecture « subjective », cette technique est désormais beaucoup moins performante que la PCR (36).

4.1.3. CULTURE POUR ISOLEMENT VIRAL

La culture virale consiste à inoculer les prélèvements sur des fibroblastes embryonnaires humains. Pour révéler la présence du virus, il existe deux méthodes : d'une part, la culture classique et d'autre part la culture rapide. Avec la technique classique, il faut attendre 1 à 3 semaines avant de voir l'effet cytopathique caractéristique de la présence du CMV. De par sa lenteur et son manque de sensibilité, cette technique n'est pas assez performante pour le diagnostic d'infection à CMV. Avec la culture rapide, les prélèvements sont inoculés sur des puits de cellules fibroblastiques. La culture est arrêtée précocement après 24 à 48h d'incubation. Les protéines très précoces du virus sont révélées par réaction immunoenzymatique ou en immunohistochimie. Cette technique de culture rapide permet d'obtenir des résultats plus rapides et plus sensibles que la culture classique.

4.1.4. EXAMEN CYTOLOGIQUE

Les cellules infectées se caractérisent par leur grande taille et la présence d'inclusion intranucléaire et intra-cytoplasmique réalisant l'aspect en œil de hibou.

4.2. DIAGNOSTIC INDIRECT

La recherche du statut immunitaire vis-à-vis du CMV est recommandé chez l'immunocompétent, la femme enceinte, chez le donneur et le receveur dans le cadre d'une transplantation d'organe solide ou de moelle. Le diagnostic de séroconversion est porté sur l'apparition des anticorps sériques spécifiques du CMV entre deux sérums consécutifs prélevés à 7 voire 15 jours d'intervalle. L'indice d'avidité des IgG permet de distinguer les IgG de faible avidité synthétisées lors d'une primo-infection, des IgG de forte avidité synthétisées lors des infections secondaires. Les IgM sont quant à eux aussi bien présents lors d'une primo-infection que lors d'une infection secondaire.

Chez les patients immunodéprimés, le diagnostic de maladie à CMV repose sur la mise en évidence directe du virus ou de ses structures dans l'organe atteint associé à la recherche directe du virus dans le sang témoignant d'une dissémination sanguine.

TRAITEMENT

5.1. MOLECULES ANTI-VIRALES

En raison de leur mode d'action sur l'ADN polymérase virale, ces molécules sont uniquement virostatiques puisqu'elles ne sont actives que sur les virus en cours de multiplication. Elles ne permettent pas d'éliminer le virus mais limitent les conséquences de l'infection et peuvent prévenir la survenue des réactivations.

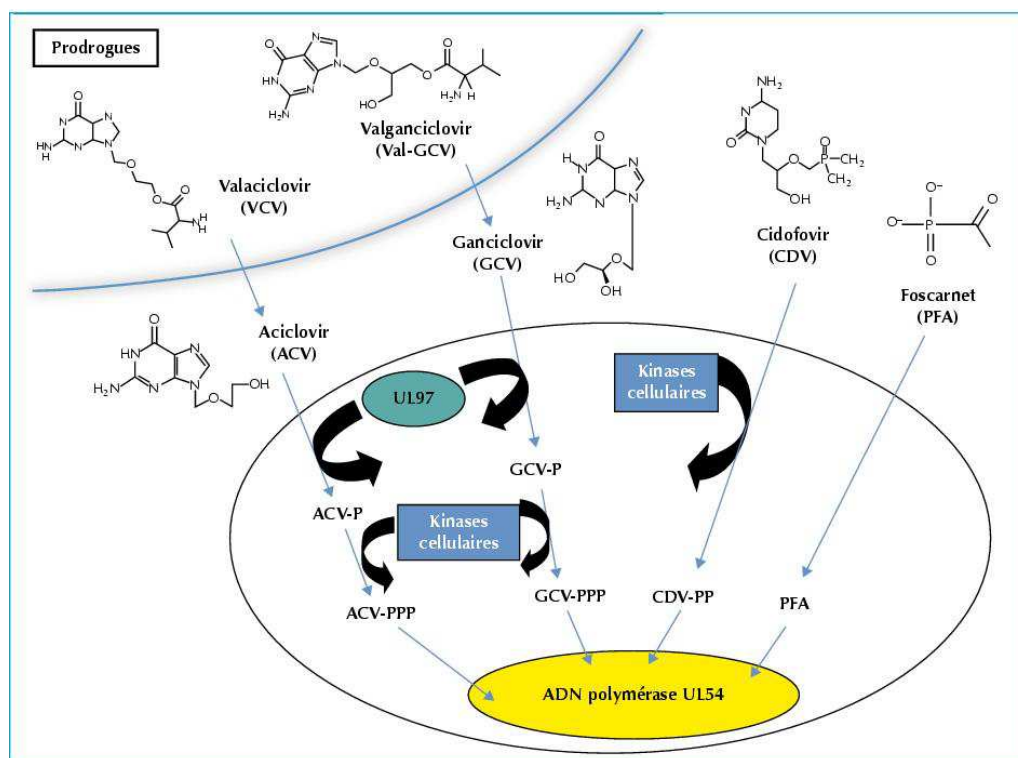


Figure 11 : Mécanismes d'action des inhibiteurs de l'ADN polymérase virale (37)

5.1.1. ANALOGUES NUCLEOSIDIQUES

5.1.1.1. GANCICLOVIR (GCV) ET VALGANCICLOVIR (VGCV)

Commercialisé en France depuis 1988, le Ganciclovir ou 9-(1,3 dihydroxy-2-propoxyméthyl)-guanine est un analogue acyclique de la déoxyguanosine qui présente une activité inhibitrice sur tous les herpès virus et plus particulièrement le CMV. La primo-phosphorylation du GCV est réalisée par une sérine/thréonine kinase d'origine virale, la phosphoprotéine UL97. Ce GCV monophosphate (GCV-P) est alors pris en charge par des kinases cellulaires, la guanylate kinase et la phosphoglycérate

kinase pour être di- puis tri-phosphorylé en sa forme triphosphate active (GCV-PPP). L'effet virostatique du GCV-PPP résulte de l'inhibition de l'ADN polymérase virale à deux niveaux : inhibition de l'activité polymérase par compétition avec les nucléosides, substrats naturels de l'enzyme, et inhibition de l'élongation de la molécule d'ADN en cours de synthèse par blocage du site catalytique. La demi-vie du GCV est de 12h. Sa biodisponibilité orale est faible de l'ordre de 10% justifiant son utilisation préférentielle par voie intraveineuse. Éliminé à 90% dans les urines sous forme inchangée, une adaptation de doses est nécessaire chez le sujet insuffisant rénal.

Sa prodrogue, le Valganciclovir (VGCV) a une biodisponibilité orale de 60%. Le GCV et le VGCV présentent principalement une toxicité hématologique : une neutropénie et/ou une thrombopénie surviennent dans plus de 20% des cas. Des troubles digestifs à type de diarrhée, vomissements, douleur abdominale sont fréquemment rapportés de même que des effets sur le système nerveux central (céphalées, tremblements, vertiges).

5.1.1.2. ACICLOVIR (ACV) ET VALACICLOVIR (VAL-ACV)

Tout comme le GCV, l'aciclovir ou 9-(3-hydroxy-2-propoxyméthyl)-guanine est un analogue acyclique de la désoxyguanosine. Il n'est actif que sous sa forme triphosphate. Il nécessite donc d'être monophosphorylé par la kinase virale UL97, puis d'être bi- puis tri-phosphorylé par des kinases cellulaires. Inhibiteur compétitif, spécifique et irréversible de l'ADN polymérase virale, l'ACV bloque définitivement le site catalytique des polymérases auxquelles il se fixe, empêchant l'élongation de l'ADN viral. Alors qu'il est très efficace pour le traitement des infections à HSV ou VZV, l'ACV a une efficacité moindre vis-à-vis du CMV. L'ACV et sa prodrogue le Valaciclovir sont administrés par voie orale avec une biodisponibilité respectivement de 15% et 54%. Leur demi-vie plasmatique est de 2 à 3 heures. L'élimination est rénale sous forme inchangée, ce qui nécessite une adaptation posologique en fonction de la clairance de la créatinine. Généralement bien toléré, l'administration d'ACV peut entraîner des effets secondaires digestifs (nausées, vomissements, diarrhée) et neurologiques (céphalées, hallucinations, confusion).

5.1.2. AUTRES DROGUES

Les analogues non nucléosidiques sont peu utilisés en raison de leur mauvaise tolérance. Ils sont administrés en cas de non efficacité des analogues nucléosidiques.

5.1.2.1. FOSCARNET (PFA)

Le Foscarnet ou phosphonoformate est un analogue de pyrophosphate inorganique. Il inhibe de manière compétitive, sélective et irréversible l'ADN polymérase virale. Il n'est administré que sous forme intra-veineuse du fait de sa biodisponibilité orale très faible. Sa demi-vie plasmatique est courte et varie entre 2.4 et 6 heures. L'élimination rénale se fait sous forme inchangée. L'effet secondaire limitant son utilisation est en premier lieu l'insuffisance rénale. En effet, le Foscarnet est responsable d'une insuffisance rénale aigue par une nécrose tubulaire aigue dans 25% des cas et ce, par néphrotoxicité directe sur les cellules tubulaires proximales (38). Il a également été rapporté une atteinte tubulaire distale avec diabète insipide néphrogénique et acidose tubulaire. Quelques cas de lésions glomérulaires (glomérulonéphrites extra-capillaires, croissants cellulaires) ont également été décrits (39). L'hypothèse d'une agression directe par la présence dans les capillaires glomérulaires de cristaux, formés de Foscarnet trisodique et de sels composites de calcium et de sodium, a été avancée pour expliquer la formation de ces lésions prolifératives. Une hydratation correcte avec du sérum salé isotonique est de ce fait recommandée afin de limiter sa toxicité. L'insuffisance rénale est le plus souvent réversible à l'arrêt du traitement lorsqu'elle est prise en charge précocement. Les autres effets secondaires fréquents sont des troubles digestifs (vomissements, pancréatites), et neurologiques (paresthésies des extrémités).

5.1.2.2. CIDOFOVIR (CDV)

Le Cidofovir ou 1-(3-hydroxy-2-phosphonylméthoxypropyl)-cytosine est un analogue nucléotidique de la cytidine. Pour être actif, le CDV doit être sous forme di-phosphorylé. Il inhibe de manière compétitive l'ADN polymérase virale pUL54. Utilisé uniquement par voie intraveineuse, sa demi-vie est longue (17 à 65 jours) justifiant des administrations espacées. Les effets indésirables sont par contre très nombreux : neutropénie, hyperthermie, éruptions cutanées et troubles digestifs. Éliminé exclusivement par voie rénale, la néphrotoxicité de ce médicament semble être dose dépendante et à l'origine de lésions tubulaires voire de néphropathies interstitielles survenant à distance des signes d'atteinte proximale. La glycosurie normoglycémique semble être un signe précoce, sensible et spécifique qui précède l'augmentation de la créatinine plasmatique. Pour limiter sa toxicité rénale, il est recommandé d'administrer du sérum physiologique par voie IV associé à du Probenécide per os. En effet, ce dernier, par inhibition compétitive de l'entrée du Cidofovir au niveau de son transporteur OAT1, diminue la pénétration intracellulaire tubulaire du CDV et donc son accumulation intracellulaire.

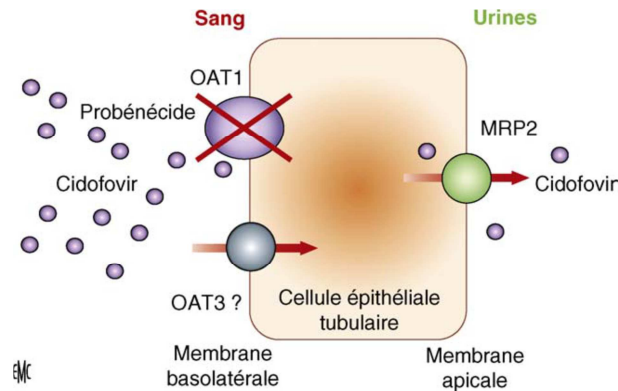


Figure 12 : Effets du Probenécide sur l'accumulation du Cidofovir dans les cellules proximales (40)

5.1.3. NOUVELLES MOLECULES

5.1.3.1. MARIBAVIR

Agent antiviral appartenant à la famille des benzimidazolés, le maribavir ou 2-isopropylamino-5,6-dichloro-1-(b-L-ribofuranosyl) benzimidazole, inhibe directement la protéine kinase UL97. Puissant inhibiteur de la réplication virale, son efficacité semble être in vitro 7 à 10 fois supérieure à celle du GCV (41). Avec peu d'effets indésirables rapportés si ce n'est des troubles digestifs et une dysgueusie, et avec une bonne biodisponibilité orale, ce nouvel agent anti-viral pourrait être une alternative de choix en cas de souches résistantes.

Dans une étude de phase 1 menée chez 70 patients VIH+ avec une excrétion virale (dans le sperme et dans les urines) CMV asymptomatique, l'utilisation de Maribavir pendant 28 jours diminuait le taux d'excrétion virale dans le sperme (42).

Basé sur ces données préliminaires, Winston et al ont voulu, lors d'un essai de phase 2, randomisé, multicentrique, comparer l'efficacité anti-virale et la tolérance du Maribavir utilisé en traitement préventif chez des patients receveurs de cellules souches avec un statut R+ (43). 111 patients ont été enrôlés dans cette étude et répartis en 4 groupes homogènes pour recevoir soit : le médicament placebo, soit le maribavir à posologies différentes (100mg deux fois par jour, 400mg une fois par jour, ou 400mg deux fois par jour). L'incidence de l'infection à CMV détectée par PCR était significativement plus faible dans le groupe Maribavir quel que soit la posologie donnée (7%, $p=0.001$; 11%, $p=0.007$; 19%, $p=0.038$) comparée au groupe placebo (46%).

Plus récemment, dans une étude de phase 3, le Maribavir (100mg 2 fois par jour) a été comparé à l'utilisation du GCV oral (1000mg 3 fois par jour) dans une population de transplantés

hépatiques D+/R- . Au terme de l'essai, la non infériorité du Maribavir comparé au GCV en traitement préventif n'a pu être démontrée (44).

5.1.3.2. ARTESUNATE

L'Artésunate, dérivé hémi synthétique de l'artémisinine, est généralement utilisé pour les accès palustres graves à Plasmodium Falciparum. Ce traitement antipaludéen a également montré une activité antivirale in vitro contre des souches animales et humaines de CMV, avec de plus un effet additif en association avec d'autres molécules anti-virales (GCV, CDV, PFA) (45). Bien que son mécanisme d'action ne soit pas clairement élucidé, il semblerait qu'il agisse sur la voie NF-κB. Récemment, son action in vivo a été démontrée sur un jeune patient receveur de cellules souches, infecté par une souche résistante (46).

5.2. STRATEGIES THERAPEUTIQUES

5.2.1. TRAITEMENT CURATIF

Les stratégies thérapeutiques de la maladie à CMV varient en fonction de la sévérité des manifestations cliniques. VGCV et GCV sont les deux agents utilisés en première ligne.

Pour les infections modérées à sévères, le traitement oral par VGCV est le traitement de choix. En 2007, l'étude VICTOR, étude randomisée, multicentrique et internationale, a démontré qu'en cas de maladie modérée à CMV, le VGCV oral (900mg * 2 par jour) n'était pas inférieur au GCV IV (5mg/kg * 2 par jour) dans une cohorte de patients transplantés d'organe, dont 73.8% étaient des transplantés rénaux. L'éradication virale était complète au 21^{ème} jour de traitement (PCR < 600 copies/ml) chez 45.1% des patients traités par VGCV oral contre 48.4% des patients traités par GCV IV. Par ailleurs, les deux médicaments étaient aussi bien tolérés avec un taux d'effets indésirables et d'observance similaire dans les deux bras (47). Après un an de suivi, les résultats étaient équivalents dans les deux groupes aussi bien en terme d'éradication virale, de taux de récurrence virale (30%), d'émergence de résistance (< 3%) que de décès (6%) (48).

Pour les infections sévères le GCV IV doit être préféré en absence de données équivalentes concernant le VGCV. Utilisé à la dose de 5mg/kg/12h, sa posologie doit être adaptée à la fonction rénale pour une durée classiquement admise de 14 à 21 jours.

La surveillance hebdomadaire de la charge virale est recommandée et l'arrêt du traitement ne se fait qu'après 2 dosages négatifs à 1 semaine d'intervalle.

Un autre volet important dans le traitement curatif est la diminution de l'immunosuppression notamment en cas de maladie invasive.

5.2.2. TRAITEMENT PREVENTIF : PROPHYLACTIQUE/PRE-EMPTIF

Le traitement prophylactique consiste en l'administration de molécules anti-virales chez les patients à risque. Le traitement est généralement débuté dans les 10 jours après la transplantation et poursuivi 100 jours. Des données nouvelles suggèrent un bénéfice à l'allongement de la durée de prophylaxie à 200 jours chez les patients D+/R-. En effet, l'étude IMPACT (Improved Protection Against Cytomegalovirus in Transplant) comparant l'efficacité de 100 jours de VGCV versus 200 jours chez 326 patients transplantés rénaux D+/ R- a montré une incidence de la maladie à CMV durant la 1^{ère} année post transplantation plus faible chez les patients ayant reçu 200 jours de prophylaxie (16.1% versus 36.8%). De plus, l'extension de la prophylaxie est cliniquement très bien tolérée (49). Le traitement prophylactique, outre la diminution de la maladie à CMV, a démontré une diminution du risque d'infections virales (HSV, VZV, EBV, HHV-8), bactériennes et fongiques. Cependant, ces inconvénients sont également non négligeables : coût élevé, effets toxiques (leucopénie au VGCV) et un risque important d'infection tardive à CMV.

Le traitement pré-emptif consiste quant à lui à l'instauration d'un traitement dès lors qu'une répllication virale (PCR CMV ou antigénémie pp65) est détectée ce qui implique une surveillance très régulière et donc coûteuse. Le but de cette stratégie est d'une part l'instauration précoce d'un traitement avant le développement de signes cliniques et d'autre part, la limitation à l'exposition aux agents anti-CMV. Néanmoins, l'inconvénient principal de cette stratégie est qu'elle ne prévient pas les effets indirects liés à une répllication virale à bas bruit.

Les avantages et les inconvénients de chaque stratégie sont détaillés dans le tableau suivant (50) :

Effect	Prophylaxis	Preemptive
CMV disease	+++	+++
More Late CMV disease	++	-
CMV relapse/treatment failure	++	++
Fewer opportunistic infections	+++	+
Improved graft survival	++	-
Prevention of rejection	++	-
Survival	++	-
Other viruses	+	-
Posttransplant lymphoma	+	-
Kaposi sarcoma	+	-
Safety	++	+++
Easier logistics	+++	+
Lower drug cost	+	+++
Lower monitoring cost	+++	+
Resistant CMV	++	+

Les recommandations internationales sont favorables à un traitement prophylactique plus qu'à un traitement pré-emptif notamment chez les patients à haut risque (D+/R-) devant les meilleurs résultats cliniques (moindre taux d'infections opportunistes, meilleure survie du greffon) (51). Les infections tardives sont reconnues comme étant fréquentes en cas de traitement prophylactique d'où la proposition récente d'étendre la prophylaxie à 6 mois de traitement au lieu de 3 chez les patients D+/R- (49).

Les résistances aux molécules anti-virales apparaissent principalement chez les patients D+/R- avec une incidence entre 5 et 10%, l'exposition prolongée aux drogues anti-virales étant reconnu comme un facteur de risque d'émergence de résistance. Un pic de charge virale ($> 5.25 \log_{10}$ copies/ml) semble également être un facteur de risque (52), tout comme une charge virale initiale $> 10\,000$ copies/ml.

MECANISMES DE RESISTANCE

6.1. GENERALITES

Plusieurs cas de résistance au GCV ont pour la première fois été décrits dans les années 1980 chez des patients immunodéprimés, la majorité d'entre eux étaient atteints du VIH et recevaient un traitement antiviral prolongé pour une rétinite à CMV (53). A cette même période, l'incidence de la résistance dans la population de transplantés d'organes était faible. Avec l'intensification de l'utilisation des molécules anti-virales et des immunosuppresseurs, l'apparition de la résistance du CMV aux drogues anti-virales est maintenant un problème d'actualité non négligeable.

Emery et Griffiths ont pu, dans les années 2000, expliquer *in vitro* la cinétique de l'émergence des virus mutants résistants grâce à l'utilisation d'un modèle mathématique (54). En effet, en absence de tout traitement, les virus mutants et les virus sauvages cohabitent. Cependant, en présence de GCV, et tout particulièrement en cas de sous dosage, le traitement bloque la réplication des souches sensibles alors que parallèlement les virus mutants continuent de se répliquer devenant ainsi la population majoritaire.

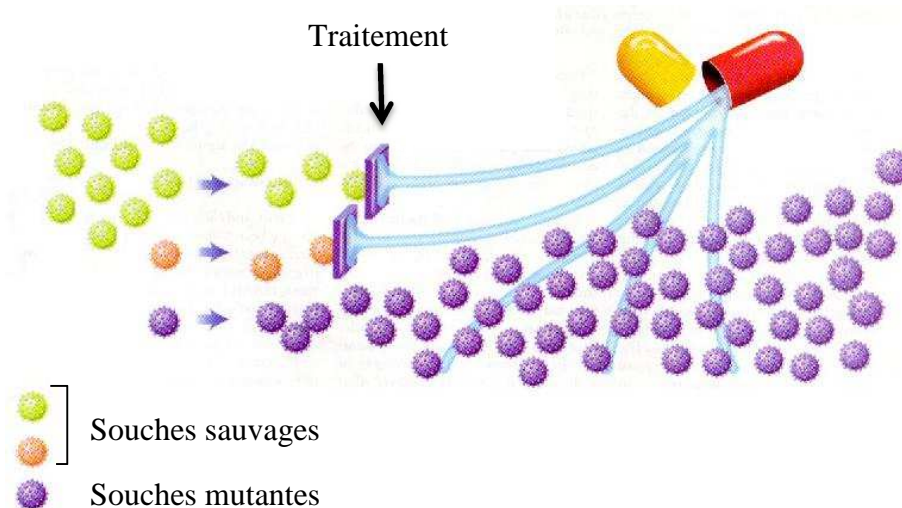


Figure 13 : Cinétique de l'émergence des mutants résistants (54)

D'importantes implications cliniques découlent de ce modèle :

- ✓ Une charge virale élevée favorise la sélection des mutants résistants
- ✓ La résistance au GCV se développe rarement après une durée courte d'exposition
- ✓ La résistance aux anti-viraux apparaît plus fréquemment en cas d'utilisation orale qu'intraveineuse
- ✓ Les méthodes de détection de résistance phénotypique peuvent sous-estimer la vraie prévalence de la résistance.

6.2. DEFINITIONS

La persistance d'une répllication virale sous traitement bien conduit pendant plus de 21 jours définit la résistance clinique. La mise en évidence d'une souche résistante par l'étude du phénotype ou du génotype définit la résistance virologique. La résistance clinique et la résistance virologique ne sont pas toujours liées, même si la résistance virologique est rapportée dans plus de 50% des cas de résistance clinique (55) (56).

La résistance aux antiviraux (essentiellement au GCV) est préoccupante car :

- ✓ elle augmente la fréquence des épisodes de virémie (symptomatiques ou non),
- ✓ elle accélère le développement de la maladie à CMV (53),
- ✓ elle augmente le risque de rejet,
- ✓ ainsi que la mortalité.

6.3. EPIDEMIOLOGIE

Chez les patients transplantés, l'incidence de la résistance au GCV varie selon les études entre 0 et 13% (57), elle apparaît plus fréquemment en cas de greffe pulmonaire (58), de double greffe rein-pancréas ou de rein seul (0 à 5%). Les manifestations cliniques sont larges pouvant aller d'un patient totalement asymptomatique à une vraie forme invasive et sévère de la maladie. Le taux de décès chez les patients présentant une résistance aux anti-viraux est estimé à 19%.

La résistance antivirale apparaît en moyenne 198 jours après la transplantation. La majorité des patients a eu une exposition prolongée aux anti-viraux, environ 118 jours avant que la résistance ne soit documentée.

6.4. FACTEURS DE RISQUE

Sont significativement associés au risque de résistance :

- ✓ Le type de transplantation (pulmonaire > rein-pancréas > rein),
- ✓ Le statut sérologique D+/R- (56),
- ✓ Le nombre de récurrences d'infection à CMV,
- ✓ L'utilisation de sérum anti-lymphocytaire,
- ✓ Une charge virale initiale élevée,
- ✓ Une exposition prolongée au traitement anti-viral dans un but préventif ou curatif,
- ✓ Le sous dosage des anti-viraux (59),
- ✓ La persistance d'une virémie positive après 21 jours de traitement bien conduit (60).

6.5. MECANISMES MOLECULAIRES

Deux gènes sont impliqués dans la résistance aux inhibiteurs de la réplication de l'ADN viral : *UL54* et *UL97*.

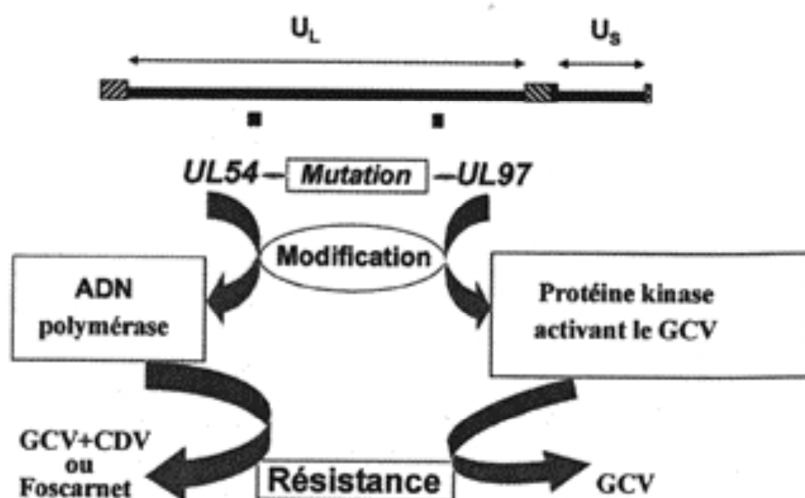


Figure 14 : Mécanismes de résistance du CMV aux anti-viraux (61)

UL 97 est une sérine-thréonine kinase codée par le gène UL97. Elle assure la primo-phosphorylation du GCV qui est ensuite di- puis tri-phosphorylé par des enzymes cellulaires en sa forme triphosphate active (GCV-PPP). Les virions synthétisés à partir des souches mutantes présentent des défauts de morphologie et de maturation. Les mutations de UL97 sont les premières à apparaître. Elles confèrent un niveau de résistance variable selon les mutations. Plus de 70 % des mutations de résistance portent sur les acides aminés 460 ou 520 ou sur la région 590 à 607, qui correspond au domaine d'interaction avec le GCV

UL 54 est une ADN polymérase ADN dépendante. Exprimée en phase précoce du cycle viral, elle assure la réplication de l'ADN viral. Les mutations de UL54 apparaissent plus tardivement. Réparties sur la totalité du gène, elles diminuent fortement la capacité répliquative du virus, et créent une résistance croisée au GCV et au Cidofovir.

6.5.1. ANALYSE GENOTYPIQUE

Elle consiste en la recherche de mutations connues associées à une résistance clinique par le séquençage des gènes UL 97 et UL54.

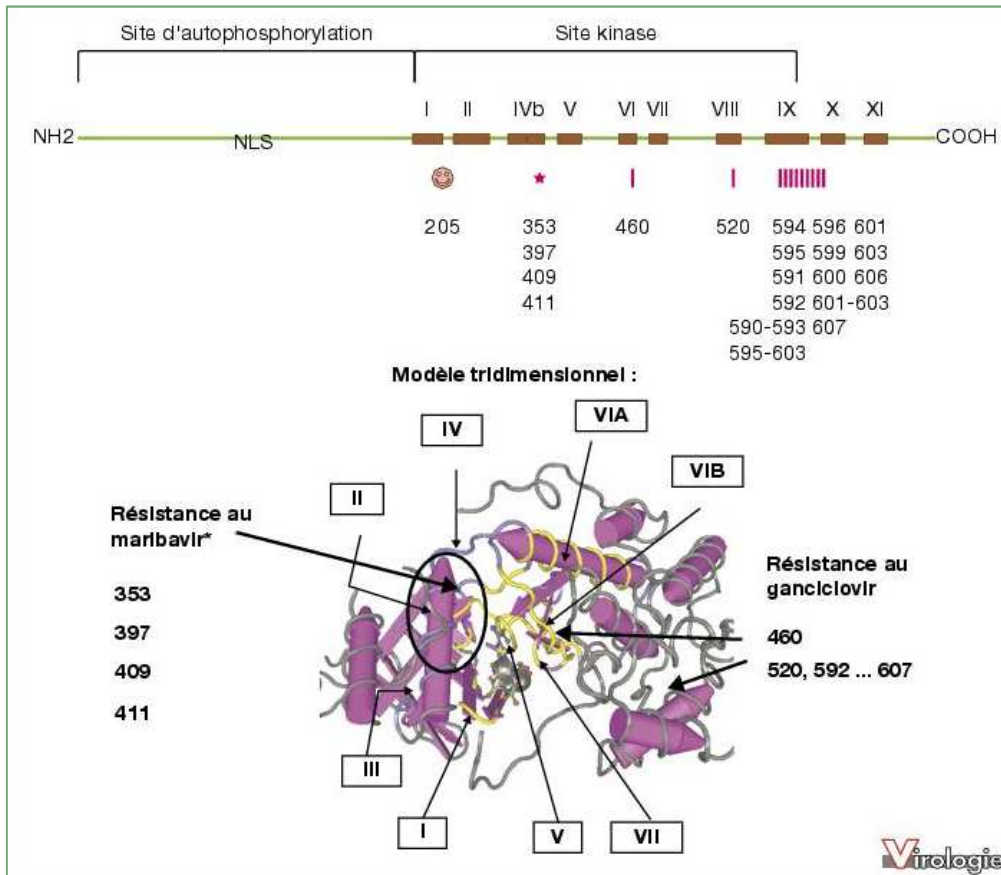


Figure 15 : Localisation des mutations de UL97 (37)

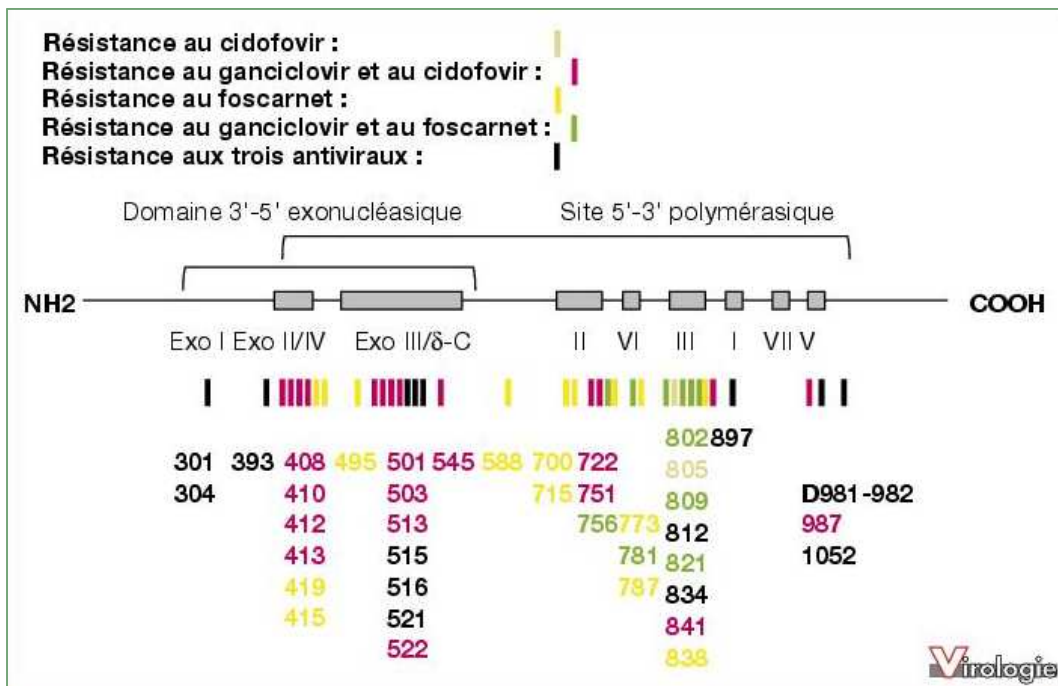
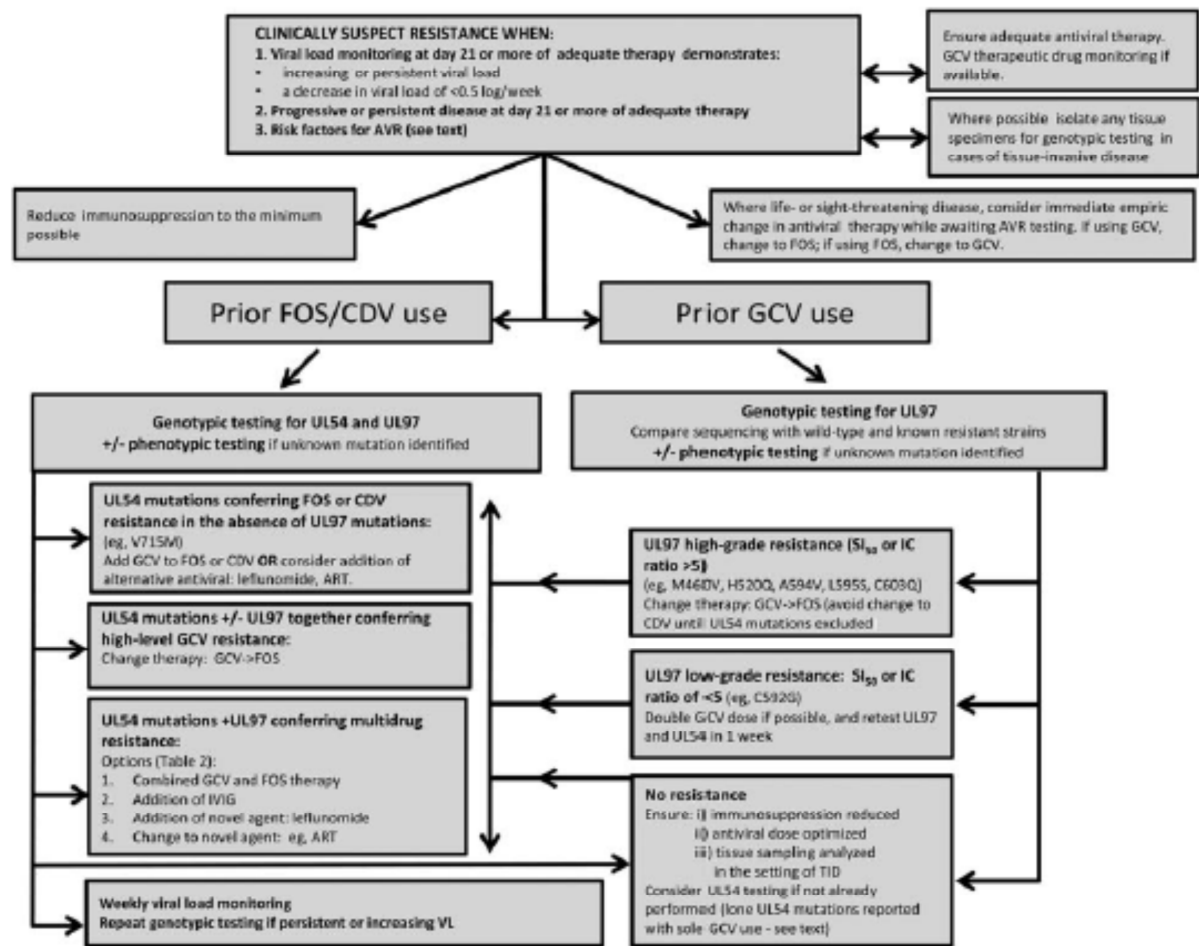


Figure 16 : Localisation des mutations de UL54 (37)

6.5.2. ANALYSE PHENOTYPIQUE

Elle consiste en la mesure de l'inhibition de la réplication virale in vitro en présence de concentrations croissantes d'anti-viral. Elle permet ainsi de déterminer les CI50 et CI90, soit les concentrations inhibant respectivement 50% et 90% de la croissance des souches. Cette étude phénotypique permet de déterminer l'efficacité des nouvelles molécules anti-virales mais aussi analyser les effets synergiques ou antagonistes des molécules. En pratique, un index de sensibilité (CI50 de la souche à tester/CI50 de la souche de référence AD169) permet d'uniformiser les résultats. Si cet index est supérieur à 3, la souche est considérée comme résistante.

6.6. ALGORITHME DECISIONNEL



6.7. RECURRENCE VIRALE

Malgré un traitement bien conduit, le risque de récurrence est non négligeable puisque estimé entre 25 et 30 % selon les études (62)(63). Celle-ci est définie par une infection à CMV (symptomatique ou non) apparaissant plus de 3 mois après la transplantation et après éradication virale d'une précédente infection active à CMV. Les facteurs de risque sont nombreux mais controversés. Une cinétique de décroissance lente de la charge virale sous traitement est prédictive du risque de récurrence d'infection à CMV (64).

Etude expérimentale

INTRODUCTION

L'infection à CMV est un problème actuel en matière de transplantation rénale. Afin de limiter les effets directs et indirects du virus sur l'organisme mais aussi sur le greffon, les recommandations internationales encouragent un traitement prophylactique universel plus qu'un traitement pré-emptif chez les patients à haut risque (D+/R-). De cette exposition parfois prolongée aux molécules anti-virales découle une problématique de plus en plus décrite : l'émergence de mutants résistants aux anti-viraux. Les résistances au GCV et à sa pro-drogue, le VGCV, sont les plus couramment décrites car ce sont les drogues utilisées en première ligne thérapeutique. Certains sites de mutations au niveau des gènes UL97 et UL54 sont bien décrits et bien connus comme conférant un haut degré de résistance. Plus récemment, de nouvelles mutations de UL97 ont été recensées comme conférant une résistance au Maribavir. La résistance aux anti-viraux est préoccupante car d'une part, elle accélère la progression de la maladie à CMV, accroît le nombre d'épisodes de virémie, augmente le risque de rejet du greffon et d'autre part, car elle est associée à un taux plus important de décès.

Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude rétrospective monocentrique au sein du CHU de Limoges dont le but est d'étudier les facteurs de risque de résistance du cytomégalo virus aux antiviraux chez les patients transplantés rénaux. L'objectif principal est de déterminer l'incidence de l'infection à CMV et l'incidence de la résistance virologique dans cette population à 18 mois post greffe et d'évaluer la tendance évolutive sur cinq ans. Les objectifs secondaires sont d'identifier et de hiérarchiser les facteurs cliniques et pharmacologiques de l'émergence de résistance, de recenser les différentes mutations conférant une résistance et d'analyser la morbi-mortalité liée à la résistance clinique et virologique.

MATERIEL ET METHODES

PATIENTS

Ont été inclus, de manière rétrospective, les patients transplantés rénaux entre le 1^{er} janvier 2007 et le 31 décembre 2011, suivis au CHU de Limoges, et présentant durant les 18 mois post greffe un prélèvement (antigénémie pp65, culture virale, PCR) sanguin ou autre, positif à CMV.

Ont été exclus :

- ✓ les patients de moins de 17 ans,
- ✓ les patients greffés rénaux suivis sur Limoges mais transplantés dans un autre centre,
- ✓ les patients ayant nécessité une double greffe rein-pancréas,
- ✓ les patients ayant eu des prélèvements positifs au-delà des 18 mois post greffe.

INFECTION A CMV / RESISTANCE

Les recherches de CMV sanguin ou tissulaire par antigénémie pp65, PCR CMV ou culture virale ont été réalisées par le CNR (Centre National de Référence du cytomégalovirus) du CHU de Limoges.

Les recherches de résistances virales ont été effectuées à la demande des cliniciens en cas de persistance d'une répllication virale sous traitement et/ou de persistance de signes cliniques en lien avec l'infection. La caractérisation des mutations de résistance des souches est basée sur le génotypage des gènes UL97 et UL 54. Une fois l'ADN extrait à partir du prélèvement réalisé (prélèvement sanguin, liquide broncho-alvéolaire, biopsie pulmonaire ou digestive), les deux gènes ont été amplifiés puis entièrement séquencés. Ces séquences ont ensuite été comparés avec l'ADN de la souche de référence AD169. Des mutations déjà connues ont ainsi pu être mis en évidence et de nouvelles mutations ont été décrites. La résistance phénotypique est définie par un index de sensibilité (SI50) qui est l'IC50 de l'échantillon, c'est-à-dire la concentration d'anti-viral nécessaire pour inhiber 50% de la croissance virale, divisé par l'IC50 de la souche de référence. Si l'IS50 était supérieur à 3, alors la souche était considérée comme résistante.

Les définitions suivantes ont été utilisées. Elles sont basées sur les dernières recommandations internationales de 2013 concernant le suivi du CMV en transplantation d'organe.

- ✓ « infection à CMV » : mise en évidence d'une répllication virale chez un patient asymptomatique
- ✓ « maladie à CMV » : infection à CMV avec des signes imputables au virus, avec une distinction entre :

- «syndrome viral » : dissémination sanguine du virus associée à au moins un des critères suivants : fièvre persistante (\geq à 38°C plus de 2 jours) ou un malaise nouveau ou persistant, ou leucopénie ($<$ 3000 leucocytes/mm³) ou thrombopénie (plaquettes $<$ 75000/mm³) ou augmentation des lymphocytes atypiques au-delà de 5% sur la formule sanguine ou élévation des enzymes hépatiques (\geq 2 fois la limite supérieure de la normale) en absence d'autre cause clairement identifiée
 - « maladie invasive » avec la preuve d'une infection localisée à CMV par biopsie ou autre échantillon et des symptômes appropriés ou des signes de dysfonctionnement d'organe (le rejet étant exclu) associés ou non à un syndrome à CMV.
- ✓ Résistance clinique : persistance d'une répllication virale en absence de résistance virologique identifiée.
 - ✓ Résistance virologique : mise en évidence d'une résistance génotypique ou phénotypique.
 - ✓ Résistance phénotypique : index de sensibilité (SI50) $>$ 3. L'IS50 est l'IC50 de l'échantillon, c'est-à-dire la concentration d'anti-viral nécessaire pour inhiber 50% de la croissance virale, divisé par l'IC50 de la souche de référence.
 - ✓ Récurrence virale : infection à CMV (symptomatique ou non) apparaissant plus de 3 mois après la transplantation et après éradication virale d'une précédente infection active à CMV (en pratique, 2 PCR négatives à 1 semaine d'intervalle nécessaires).

RECUEIL DES DONNEES

Le recueil des données a été fait de manière rétrospective à l'aide du dossier médical informatisé CROSSWAY, des informations retrouvées au sein du dossier de greffe et de la base informatique CYBERLAB.

Les données collectées ont été les suivantes :

- ✓ Date de greffe,
- ✓ Age, sexe du receveur et du donneur,
- ✓ Néphropathie initiale et mode de suppléance s'il y a lieu,
- ✓ Statut immunitaire vis-à-vis du CMV,
- ✓ Prophylaxie anti-virale (molécule, durée, changement de dose),
- ✓ Immunosuppression initiale et au moment de l'infection,
- ✓ Durée ischémie froide,
- ✓ Quantification virale et caractère symptomatique,

- ✓ Données biologiques au moment de l'infection,
- ✓ Traitement curatif anti-CMV (molécules, durée),
- ✓ Résistance clinique et virologique.

ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel R. Les résultats des variables quantitatives sont présentés sous la forme de moyenne \pm écart type. Ceux des variables qualitatives sont exprimés en fréquence et en pourcentage. Les comparaisons des variables qualitatives entre les 2 groupes considérés ont été réalisées avec le test exact de Fisher. Les distributions des variables quantitatives ont été comparées avec le test t de Student. Le seuil de signification statistique retenu est de 0.05.

RESULTATS

POPULATION D'ETUDE

Entre le 1^{er} janvier 2007 et le 31 décembre 2011, 237 patients ont bénéficié d'une transplantation rénale au CHU de Limoges.

A partir de cette cohorte, on a recensé les patients qui ont présenté une répllication active elle-même définit par :

- ✓ une antigénémie ou une culture virale positive,
- ✓ ou 2 PCR CMV successives positives à 1 semaine d'intervalle,
- ✓ ou une PCR CMV > 1000 copies/ml,

Puis, parmi ces patients, on a recensé ceux chez lesquels une résistance virologique a été mise en évidence.

Sur ces 237 patients, 62 ont présenté une répllication virale CMV dans les 18 mois post greffe selon les définitions sus citées. Les techniques diagnostiques de répllication virale ont varié sur les 5 années de notre étude, la réalisation de la PCR CMV étant devenue la méthode de référence dès mars 2008. Auparavant, le dosage de l'antigénémie pp65 ou bien la recherche d'ADN viral par culture étaient les techniques utilisées. De même, les seuils diagnostiques se sont progressivement abaissés : une charge virale étant actuellement considérée comme négative si elle est inférieure à 75 copies/ml. Au total, parmi les 62 patients présentant une répllication virale active, 52 ont été diagnostiqués par PCR

L'ensemble des caractéristiques cliniques relatives au donneur, au receveur, de même que la nature de l'immunosuppression initiale sont résumés dans le Tableau 1.

Les patients présentant une répllication virale étaient plus âgés comparé à l'âge moyen de notre cohorte (56.9 ans vs 52.8 ans, $p = 0.0396$). L'ensemble des autres données cliniques concernant le receveur étaient similaires, hormis le statut sérologique vis-à-vis du CMV. En effet, le statut D+/R- était le statut majoritaire parmi les transplantés développant une infection à CMV (43.5% versus 22.8% dans la cohorte globale, $p = 0.002$). De plus, les patients les moins à risque de développer une infection étaient ceux présentant un statut D-/R- (3.2% versus 21.5%, $p = 0.003$). Les caractéristiques du donneur étaient quant à elles globalement similaires dans les deux groupes, de même que la durée moyenne d'ischémie froide.

	Total des cas (n=237)	Réplication active (n=62)	P value	IC à 95%
<i>RECEVEUR</i>				
Age moyen (ans)	52.8 ± 13.9	56.9 ± 13.7	0.0396	[-8.01 ; -0.2]
Sexe (M/F)	62.4/37.6 (148/89)	56.5/43.5 (35/27)	0.464	[0.70 ; 2.34]
Statut sérologique				
D+/R+	29.1 (69)	33.9 (21)	0.534	[0.427 ; 1.54]
D-/R-	21.5 (51)	3.2 (2)	0.0003	[2.04 ; 71.36]
D+/R-	22.8 (54)	43.5 (27)	0.002	[0.21 ; 0.72]
D-/R+	26.6 (63)	19.4 (12)	0.323	[0.73 ; 3.32]
Néphropathie initiale				
NAS	9.7 (23)	9.7 (6)	1	[0.37 ; 3.16]
Diabète	8.4 (20)	6.5 (4)	0.795	[0.42 ; 5.58]
Polykystose	14.8 (35)	12.9 (8)	0.840	[0.49 ; 3.09]
Glomérulaire/IgA	23.6/13.1 (56/31)	19.3/16.1 (12/10)	0.883	[0.57 ; 1.99]
Interstitielle	8.4 (20)	4.8 (3)	0.432	[0.51 ; 9.83]
Indéterminée	14.8 (35)	22.6 (14)	0.176	[0.28 ; 1.30]
Autres	7.2 (17)	8.1 (5)	0.787	[0.30 ; 3.19]
Modalités de suppléance				
HD	85.2 (202)	85.5 (53)	1	[0.39 ; 2.25]
DP	6.4 (15)	9.7 (6)	0.401	[0.22 ; 2.08]
Greffe pré-emptive				
1 ^{ère} greffe	86.5 (205)	87.1 (54)	1	[0.36 ; 2.26]
2 ^{ème} greffe	13.1 (31)	11.3 (7)	0.832	[0.48 ; 3.35]
3 ^{ème} greffe	1.4 (1)	1.6 (1)	0.372	[0.003 ; 20.62]
<i>DONNEUR</i>				
Age moyen (ans)	51.4 ± 15.8	54.9 ± 15.9	0.124	[-8.03 ; 0.99]
Sexe (M/F)	58.2/41.8 (138/99)	50/50 (31/31)	0.253	[0.76 ; 2.54]
Donneur cadavérique/vivant	96.2/3.8 (228/9)	100/0 (62/0)	0.212	
<i>ISCHEMIE FROIDE</i> : durée moyenne (minutes)				
	992 ± 350	1021 ± 280	0.493	[-112 ; 54.56]
<i>IMMUNOSUPPRESSION</i>				
Simulect	80.2 (190)	74.2 (46)	0.299	[0.68 ; 2.80]
SAL	15.6 (37)	24.2 (15)	0.132	[0.28 ; 1.24]
Pas d'induction	4.2 (10)	1.6 (1)	0.470	[0.37 ; 118.45]
MMF	100 (237)	100 (62)	1	
Ciclosporine	34.2 (81)	48.4 (30)	0.054	[0.30 ; 1.02]
Tacrolimus	64.1 (152)	50 (31)	0.056	[0.98 ; 3.27]
Certican	1.7 (4)	1.6 (1)	1	[0.10 ; 52.41]
Corticoides	100 (237)	100 (62)	1	

Tableau 1 : Caractéristiques démographiques de la population d'étude

PROPHYLAXIE

Concernant la prophylaxie anti CMV, le traitement préventif utilisé était dans la totalité des cas un traitement prophylactique. Les schémas thérapeutiques ont été progressivement modifiés durant les 5 années de l'étude avec une majorité des patients recevant du VCV en 2007, puis une utilisation du VGCV majoritaire à partir de 2008 (Figure 1).

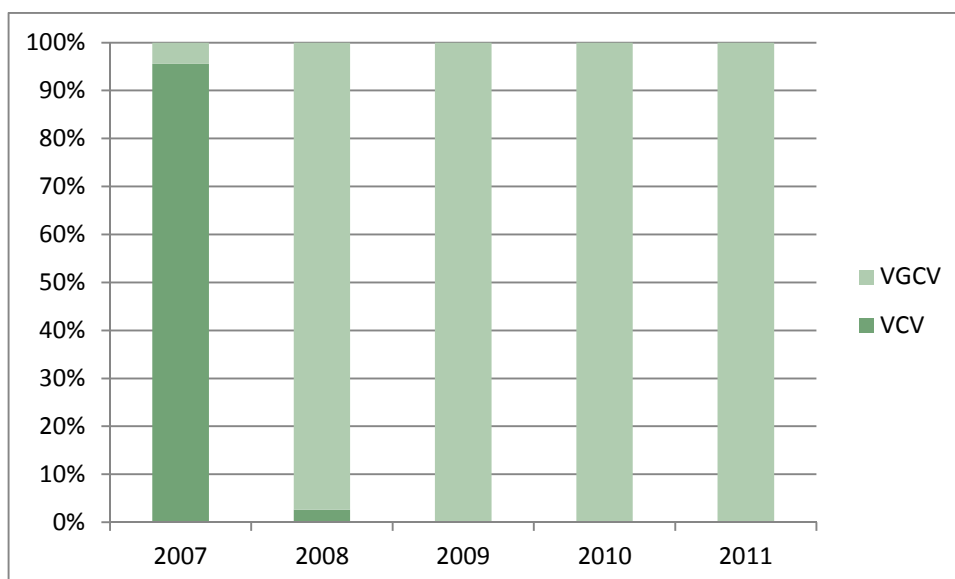


Figure 1 : Traitements prophylactiques anti-CMV administrés, fonction de l'année de greffe

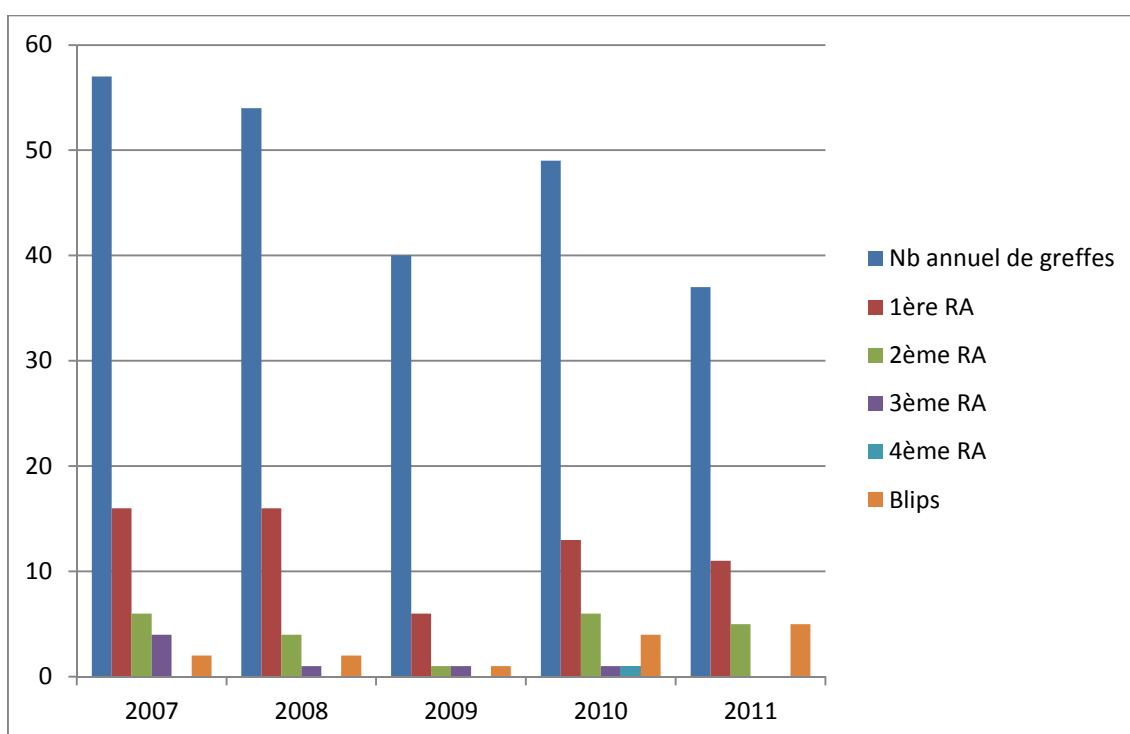


Figure 2 : Incidence de la réplication virale de 2007 à 2011

Le nombre de **première réplication active** (RA) à CMV dans les 18 mois post greffe est globalement stable sur les cinq années étudiées avec une incidence respectivement de 28.1% (16/57) en 2007, 29.6% (16/54) en 2008, 26.5% (13/49) en 2010 et 29.7% (11/37) en 2011. A noter un taux beaucoup plus faible en 2009 avec une incidence à 15% soit seulement 6 patients sur les 40 greffés cette année-là.

L'incidence de la **deuxième réplication active** a quant à elle diminué entre 2007 et 2009 avec une incidence respectivement à 10.5% (6/57), 7.4% (4/54) et 2.5% (1/40) sur l'ensemble de la population greffée annuelle. Elle augmente cependant à nouveau en 2010 avec une incidence à 12.2% (6/49) en 2010 et 13.5% (5/37) en 2011.

Quatre patients transplantés en 2007 ont présenté un **troisième épisode de réplication virale** soit 7% des 57 transplantés rénaux de cette année. De 2008 à 2010, on dénombre un seul patient présentant un 3^{ème} épisode de réplication active, soit une incidence de 1.85% pour l'année 2008, 2.5% pour 2009 et 2% pour les patients greffés en 2009.

2.5% des patients greffés en 2010 ont présenté un **quatrième épisode de réplication virale** dans les 18 mois post greffe soit 1 seul patient.

INCIDENCE DE LA RESISTANCE VIROLOGIQUE

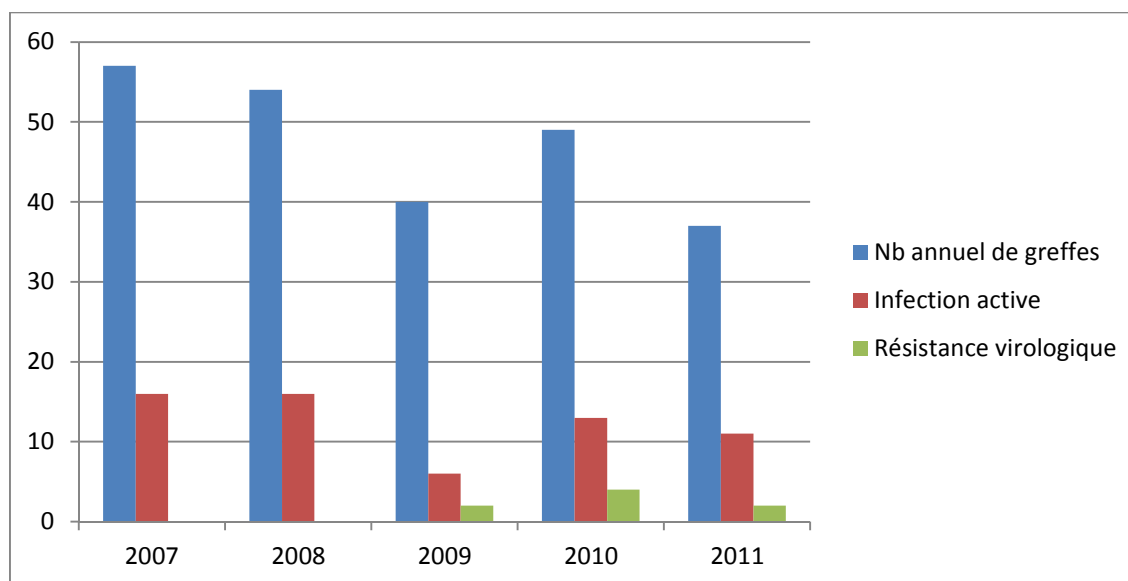


Figure 3 : Incidence de la résistance virologique de 2007 à 2011

L'incidence de la résistance virologique a augmenté entre 2007 et 2011. En effet, aucune résistance virologique n'a été documentée pour les patients greffés en 2007 et 2008, alors qu'en 2009, 2010 et 2011 on note respectivement : 5% (2/40), 8.2% (4/49) et 5.4% (2/37) patients pour lesquels une mutation génotypique a été mise en évidence. Par rapport au nombre annuel de répllication active, l'incidence de la résistance virologique chez les patients présentant une infection active à CMV dans les 18 mois post greffe est respectivement de 33.3% (2/6), 30.8% (4/13), 18.2% (2/11) pour les patients transplantés en 2009, 2010 et 2011.

MUTATIONS UL97 ET UL54

Des mutations du gène UL97 ont été retrouvées chez la totalité des patients présentant une résistance virologique, bien qu'une mutation détectée ne soit pas encore décrite comme étant à l'origine d'une résistance au GCV. Deux mutations distinctes ont été décrites sur deux échantillons différents du même patient, la première ayant été détectée à partir d'un prélèvement sanguin, alors que la deuxième a été retrouvée à partir d'une biopsie pulmonaire (Tableau 2).

Des mutations de UL54 ont été décrites en association avec les mutations de UL 97 dans 2 cas sur 8 (Tableau 2).

Patient	UL 97	UL 54
PA	Met 460 Ile	absence
LG	Ala 594 VAL	absence
DF	L595F	absence
BR	L595S	absence
	C603C/W	K513K/E
DV	Délétion aa601	absence
DG	A594V	A987G
SF	<i>Délétion codons 603, 604, 605*</i>	absence
LJ	Ala 594 Val	**

Tableau 2 : Mutations recensées pour les 8 cas de résistance virologique

* Présence d'une délétion des codons 603, 604 et 605 située au niveau de la zone de fixation du Ganciclovir. Bien que non décrite à ce jour, cette délétion est vraisemblablement associée à une résistance au Ganciclovir.

** Insertion d'une sérine après le codon 884. Insertion d'une thréonine à cette position décrite dans la littérature et non associée à une modification du phénotype de la souche. Mutation A692V non décrite à ce jour mais située entre 2 mutations de polymorphisme connue.

COMPARAISON CARACTERISTIQUES CLINICO-BIOLOGIQUES R+/R-

Les patients présentant une résistance virologique étaient en majorité des hommes : 75% versus 53.7% dans le groupe non résistants. L'âge moyen des patients dans les 2 groupes était globalement similaire, de même que le type de néphropathie initiale. En revanche, tous les patients résistants présentaient un statut sérologique D+/R-.

En terme de traitement immunosuppresseur, les patients résistants recevaient plus souvent du Tacrolimus sans que cela n'atteigne le seuil de signification statistique. De même, 50% des patients résistants ont reçu du SAL en induction contre 21.3% dans le groupe non résistants, mais là encore, cette différence n'est pas significative (Tableau 3).

	Non résistants N = 54	Résistants N = 8	P value	IC à 95%
<u>RECEVEUR</u>				
Age moyen	57.1 ± 13.8	56 ± 14.3	0.85	[-11.18 ; 13.21]
Sexe (M/F)	53.7/46.3 (29/25)	75/25 (6/2)	0.44	[0.036 ; 2.45]
Statut				
R-	38.9 (21)	100 (8)	0.001	
D-/R-	3.7 (2)	0 (0)	1	[0.0266 ; INF]
D+/R-	35.2 (19)	100 (8)	0.0006	
R+	61.1 (33)	0 (0)	0.001	[2.3343 ; INF]
D+/R+	38.9 (21)	0 (0)	0.04	[0.96 ; INF]
D-/R+	22.2 (12)	0 (0)	0.33	[0.41 ; INF]
Néphropathie initiale				
NAS	7.4 (4)	25 (2)	0.16	[0.028 ; 3.29]
Diabète	5.6 (3)	12.5 (1)	0.43	[0.029 ; 24.67]
Polykystose	14.8 (8)	0 (0)	0.58	[0.24 ; INF]
Glomérulaire	37 (20)	25 (2)	0.44	[0.38 ; 27.54]
Tubulo-interstitielle	5.6 (3)	0 (0)	1	[0.057 ; INF]
Indéterminée	24 (13)	12.5 (1)	0.67	[0.24 ; 107.56]
Autres	5.6 (3)	25 (2)	0.12	[0.017 ; 2.62]
Modalités de suppléance				
HD	85.2 (46)	87.5 (7)	1	[0.016 ; 8.05]
DP	11.1 (6)	0 (0)	1	[0.16 ; INF]
Greffe pré-emptive	3.7 (2)	12.5 (1)	0.34	[0.013 ; 18.13]
1 ^{ère} greffe	87 (47)	87.5 (7)	1	[0.019 ; 9.67]
2 ^{ème} greffe	11.1 (6)	12.5 (1)	1	[0.083 ; 45.93]
3 ^{ème} greffe	1.9 (1)	0 (0)	1	[0.004 ; INF]
<u>DONNEUR</u>				
Age moyen (ans)	55.2 ± 16.3	53 ± 14.6	0.70	[-10.34 ; 14.71]
Sexe (M/F)	48.1/51.9 (26/28)	62.5/37.5 (5/3)	0.70	[0.079 ; 3.23]
Donneur cadavérique	100 (54)	100 (8)	1	
<u>GREFFE</u>				
Durée ischémie froide (min)	1025	995.25	0.74	[-164.46 ; 223.96]
<u>IMMUNOSUPPRESSION</u>				
Induction				
Simulect	77.8 (42)	50 (4)	0.18	[0.55 ; 21.40]
SAL	20.3 (11)	50 (4)	0.08	[0.042 ; 1.65]
Pas d'induction	1.9 (1)	0 (0)	1	[0.004 ; INF]
MMF	100 (54)	100 (8)	1	
Ciclosporine	51.8 (28)	25 (2)	0.25	[0.508 ; 34.88]
Tacrolimus	46.3(25)	75 (6)	0.26	[0.027 ; 1.83]
Certican	1.9 (1)	0 (0)	1	[0.004 ; INF]
Corticoides	100 (54)	100 (8)	1	

Tableau 3 : Caractéristiques démographiques des patients résistants et non résistants

Le nombre de « CMV : maladie » n'était pas plus important au sein de groupe des patients résistants. De même, l'incidence des neutropénie ou lymphopénie était similaire dans les deux groupes de patients avec ou sans résistance virologique (Tableau 4).

La charge virale initiale était plus élevée dans le groupe de patients non résistants, alors que le pic de charge virale durant ce premier épisode infectieux était quant à lui plus élevé dans le groupe de patients résistants, mais ces variations n'ont pas de signification statistique (Tableau 4).

Tableau 4 : Caractéristiques cliniques et biologiques au moment de la découverte de l'infection virale

	Non résistants (n = 54)	Résistants (n = 8)	P value	IC à 95%
<u>CLINIQUE</u>				
CMV maladie	45.3 (25)	37.5 (3)	0.71	[0.27 ; 10.89]
CMV infection	50 (27)	62.5 (5)	0.71	[0.092 ; 3.76]
Données manquantes	3.7 (2)	0 (0)		
<u>BIOLOGIE (Moyenne)</u>				
Créatinine plasmatique (µmol/l)	155	277	0.17	[-309.77 ; 66.73]
GB	5713	7113	0.27	[-4076.26 ; 1276.45]
PNN	4036	5340	0.19	[-3391.25 ; 784.11]
Lymphocytes	991	1149	0.66	[-967.97 ; 651.84]
<u>METHODES DIAGNOSTIQUES</u>				
Antigénémie	(6)	-		
Culture virale ADN	(4)	-		
Biologie moléculaire (PCR)	(44)	100 (8)		
CV initiale (copies/ml)	125245	34822	0.172	[-221496.78 ; 40770.78]
Pic de CV (copies/ml)	217090	547538	0.196	[-198250.61 ; 859147.00]

Le délai moyen entre l'infection et la greffe et la durée moyenne de prophylaxie était plus faible dans le groupe des patients résistants avec l'apparition d'une infection à CMV sous prophylaxie beaucoup plus fréquente (Tableau 5).

Tableau 5 : Caractéristiques pharmacologiques (prophylaxie, traitement curatif et immunosuppression) des 2 groupes

	Non résistants N = 54	Résistants N = 8	P value	IC à 95%
<u>PROPHYLAXIE ANTI-VIRALE</u>				
VGCV	52	8		
Durée moyenne (j)	67.3 (35)	100 (8)	0.09	
Durée moyenne (j)	106.5 ± 47	55.625 ± 19	0.00003	[29.55 ; 72.29]
VCV	30.8 (16)	0 (0)	0.10	[0.658 ; INF]
Durée moyenne (j)	80.25	-		
VGCV + VCV	1.9 (1)	0 (0)	1	[0.004 ; INF]
Durée moyenne	62	-		
Nb moyen changement de dose	1.19	0.875	0.32	[-0.3328 ; 0.9674]
Réplication virale sous prophylaxie	11.5 (6)	87.5 (7)	0.00002	[0.0004 ; 0.19]
Délai entre greffe et infection (j)	173.11	62.25	0.0000003	[73.81 ; 147.91]
Délai entre fin de prophylaxie et Infection (j)	87.9	48		
<u>TRAITEMENT CURATIF INITIAL</u>				
Pas de traitement	7.4 (4)	0 (0)	1	[0.0901 ; INF]
VGCV	68.5 (37)	100 (8)	0.09	
GCV IV	20.4 (11)	0 (0)	0.33	[0.3674 ; INF]
Données manquantes	3.7 (2)	0 (0)		
<u>IMMUNOSUPPRESSION</u>				
MMF	94.4 (51)	100 (8)	1	
Ciclosporine	50 (27)	25 (2)	0.26	[0.47 ; 32.43]
Tacrolimus	42.6 (23)	75 (6)	0.13	[0.023 ; 1.58]
Certican	7.4 (4)	(0)	1	[0.0901 ; INF]
Corticoides	70.4 (38)	87.5 (7)	0.43	[0.007 ; 3.05]
Dose moyenne (mg)	14.6	19.6	0.58	[-25.80 ; 15.73]

La figure 4 illustre le délai d'apparition entre l'infection virale à CMV et la greffe pour chaque patient en fonction de la découverte ou non d'une résistance virologique ultérieure. La découverte de l'infection virale a eu lieu en moyenne 62 jours après la greffe dans le groupe de patients résistants contre 173 jours dans le groupe de patients non résistants ($p=0.000003$).

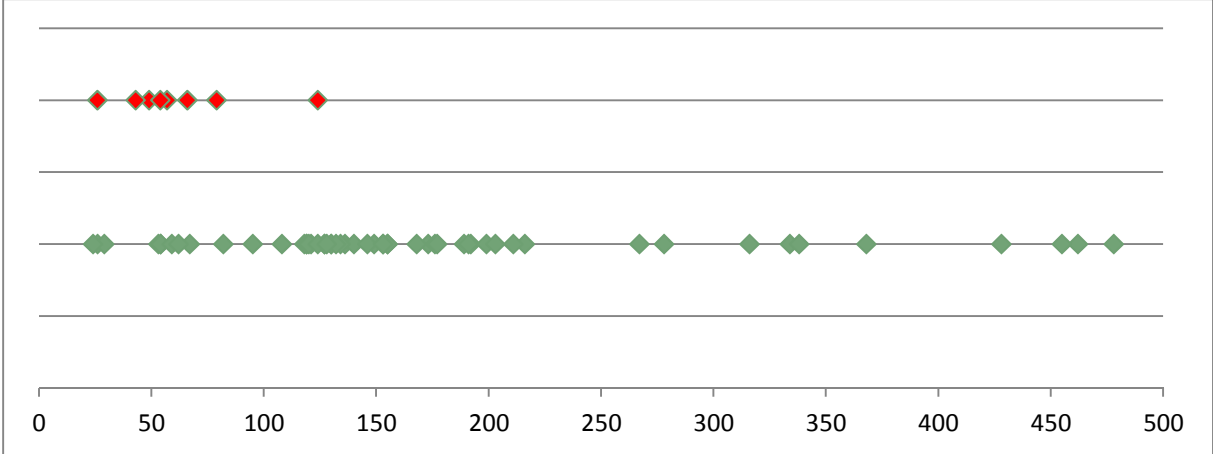


Figure 4 : Délai (jours) entre la greffe et la première infection virale à CMV, fonction de la découverte ultérieure d'une résistance virologique (♦) ou non (◆)

EVOLUTION EN CAS DE RESISTANCE VIROLOGIQUE

La résistance virologique a été mise en évidence après un délai moyen de 140 jours post greffe (85 – 178 jours) ou 78 jours (54 – 104 jours) après l'infection initiale chez 8 patients.

Tous les patients ayant une résistance virologique prouvée ont bénéficié tout d'abord :

- ✓ d'une **adaptation de l'immunosuppression** consistant en une diminution de 50% du MMF dans 4 cas sur 8 voire d'un arrêt total dans 50% des cas ;
- ✓ ainsi que de **l'instauration d'un traitement antiviral adapté**. Le Foscarnet a été le traitement instauré dès la mise en évidence d'une résistance dans la totalité des cas, relayé dans les formes les plus sévères par un traitement par Maribavir. Dans 3 cas, un traitement par IgIV a été introduit en complément.

En date du dernier suivi :

- ✓ 7 patients sur 8 ne présentent plus de symptômes cliniques en lien avec l'infection, mais 1 patient décrit une neuropathie périphérique des membres supérieurs imputables au Foscarnet.
 - Parmi eux, 6 ont encore un greffon fonctionnel, même si le patient SF a présenté plusieurs épisodes de rejets aigus cellulaires.
 - 1 patiente est retournée en hémodialyse du fait d'infections urinaires à répétition à germes multi-résistants
- ✓ 1 patiente est décédée d'une co-infection respiratoire : pneumopathie à CMV et pneumocystose pulmonaire.

Sur le plan infectieux :

- ✓ 2 patients sur 8 ont présenté un deuxième épisode de réplication virale active :
 - La patiente DV n'a pas reçu de nouveau traitement curatif compte tenu de l'altération sévère de sa fonction rénale
 - Un traitement par Foscarnet puis par des IgIV a été ré-introduit chez le patient DG en association avec une réduction profonde de l'immunosuppression permettant une négativation de la PCR CMV.

Patient	Statut	Délai entre infection à CMV et greffe	Clinique qd Résistance +	Délai entre résistance et greffe	Prophylaxie		Traitement curatif avant résistance		IS
					Drogue	Durée	Drogues (1ère,2ème ligne..)	Durée	
PA	D+/R-	79	Asymptomatique	155	VGCV	83	VGCV	64j	↘ MMF et ↘ CS
LG	D+/R-	49	Asymptomatique	106	VGCV	57	VGCV	40j	↘ CS
DF	D+/R-	57	Asymptomatique	133	VGCV	63	VGCV; GCV	45j; 29j	↘ MMF et Tacrolimus
BR	D+/R-	66	Asymptomatique	170	VGCV	64	VGCV	103 j	Stop MMF
DV	D+/R-	124	Asymptomatique	178	VGCV	67	VGCV	53j	Stop MMF
DG	D+/R-	54	Diarrhée	157	VGCV	50	VGCV, GCV, VGCV	16j ; 25j; 55j	↘ MMF
SF	D+/R-	43	Diarrhée	136	VGCV	41	VGCV, GCV et IGiV	76j ; 6j	Stop MMF, ↘ Advagraf et ↘ CS
LJ	D+/R-	26	Diarrhée	85	VGCV	20	VGCV	75j	Stop MMF

Tableau 6 : Caractéristiques cliniques, lignes thérapeutiques et évolution des 8 patients présentant une résistance virologique

Patient	Mutations détectées		Adaptation thérapeutique	Devenir clinique
	UL 97	UL54		
PA	+	-	Foscarnet (20j)	Favorable
LG	+	-	Foscarnet (29j)	Favorable
DF	+	-	Foscarnet (6j), puis Maribavir (30j), puis IgIV	Favorable
BR	+	(-)	Foscarnet (9j) puis passage réa	IU à germe multiR, pneumocystose pulmonaire + pneumopathie CMV, décès
DV	+	-	Foscarnet (33j) puis IgIV	Récurrence N°1 : diminution spontanée PCR, pas de ttt compte tenu Créat élevée IU à germes multiR + abcès de paroi récidivants, HD
DG	+	+	Foscarnet (33j)	Récurrence N°1 : \sphericalangle Prograf et \sphericalangle CS, ttt par Foscarnet (9j) + IgIV Asymptomatique
SF	+	-	Foscarnet (19j), Maribavir (47j), reprise Foscarnet (40j)+ Artesunate (29j) + Igiv	Asymptomatique Rejet cellulaire
LJ	+	(-)	Foscarnet (76j) puis IgIV	Neuropathie périphérique (imputabilité Foscarnet)

Tableau 6bis : Caractéristiques cliniques, lignes thérapeutiques et évolution des 8 patients présentant une résistance virologique

RESISTANCE CLINIQUE

Une résistance clinique, sans résistance virologique prouvée, a été identifiée chez 5 patients en 5 ans, soit chez 8.06 % (5/62) de notre échantillon après un délai moyen de 282 jours après la transplantation.

Pour ces 5 patients, l'adaptation thérapeutique a consisté en :

- ✓ Une diminution de l'immunosuppression dans 2 cas sur 5,
- ✓ Une majoration des doses de VGCV dans 2 cas (augmentation des posologies PO dans un cas, et passage à la forme IV dans l'autre),
- ✓ L'absence de modification thérapeutique dans 1 cas.

Sur le plan virologique :

- ✓ L'évolution fut favorable dans la totalité des cas avec une éradication virale complète sous traitement anti-viral bien conduit,
- ✓ Des PCR CMV réalisées durant le suivi des patients sont revenues positives (> 75 copies/ml) chez 3 patients sur 5, avec une négativation spontanée.

Sur les 5 patients suspects de résistance :

- ✓ Une patiente est décédée des suites d'un cancer broncho-pulmonaire de type neuro-endocrine découvert en novembre 2010, soit un mois après le début de l'infection à CMV.
- ✓ Des carcinomes cutanés multiples ont été diagnostiqués chez 1 patient.
- ✓ Une patiente a présenté plusieurs épisodes de rejets aigus cellulaires ayant conduit à une dysfonction chronique du greffon avec au dernier suivi, un DFG selon MDRD mesuré à 13.26ml/min/1.73 m² de surface corporelle. Me B est actuellement en cours de bilan pour une 2^{ème} transplantation.
- ✓ Deux patientes sont actuellement cliniquement asymptomatiques et n'ont présenté ni infections opportunistes, ni épisodes de rejets du greffon.

							Prophylaxie	
Patient	Statut	Délai entre infection CMV et greffe (jours)	Symptômes initiaux	Délai entre résistance clinique et greffe (jours)	Symptômes au moment résistance clinique	Drogue	Durée	
BM	D+/R-	67	fièvre + bicytopenie (leucopénie, thrombopénie)	67	Fièvre	VCV	56	
BS	D+/R+	455	Asymptomatique	469	toux + fièvre	VCGV	190	
RT	D+/R-	189	Fièvre + bicytopenie	206	Asymptomatique	VGCV	164	
MO	D+/R-	146	Asymptomatique	485	Asymptomatique	VGCV	123	
JJ	D+/R-	153	Asymptomatique	182	Diarrhée	VGCV	97	

Tableau 7 : Caractéristiques cliniques, lignes thérapeutiques et évolution des 5 patients présentant une résistance clinique

Traitement curatif avant suspicion résistance

Patient	Drogues	Durée	Adaptation thérapeutique	Devenir clinique
BM	GCV	14j	Poursuite GCV Pas de modification des IS	Carcinome cutané
BS	VGCV	6j	Poursuite VGCV ↘ MMF	Rejet cellulaire, Bilan 2ème greffe en cours
RT	GCV	16j	Poursuite GCV ↘ Prograf	Cancer broncho-pulmonaire Décès
MO	VGCV	264j (discontinu)	Pas de modification	Favorable
JJ	VGCV	6j	↗ VGCV	Favorable

Tableau 7bis : Caractéristiques cliniques, lignes thérapeutiques et évolution des 5 patients présentant une résistance clinique

MORTALITE GLOBALE A 1 AN

La mortalité globale dans notre cohorte avoisine les 5,5 % sur les 5 années, avec 13 patients décédés dans la première année post-greffe sur les 237 patients greffés.

Ce taux est de 12.5% dans le groupe de patients résistants (1 décès sur 8 patients) contre 5.56% dans le groupe de patients non résistants (3 décès sur 54). Cette différence de mortalité n'atteint pas le seuil de signification statistique ($p = 0.43$). De même, le taux de mortalité n'est pas plus élevé dans le groupe de patients une infection à CMV comparé au taux de mortalité de la cohorte globale ($p=0.78$).

REJETS DANS LA PREMIERE ANNEE POST GREFFE

On compte 34 épisodes de rejets dans la première année sur les 237 patients greffés entre 2007 et 2011, soit 14.3% de notre cohorte. Dans le groupe de patients non résistants, 8 transplantés soit 14.8% ont présenté un épisode de rejet dans la première année post transplantation, dont 75% étaient des rejets cellulaires, contre un seul patient soit 12.5% dans le groupe de patients résistants.

Le taux de rejets dans la première année post transplantation rénale n'est pas significativement plus élevé dans le groupe de patients résistants comparé au groupe de patients non résistants ($p = 1$). De même, le taux de rejets chez les patients présentant une infection à CMV est similaire à celui observé dans la cohorte globale.

DISCUSSION

INCIDENCE

L'incidence de la première réplication virale dans les 18 mois post greffe varie dans notre série entre 15% et 29.7%. Il n'y pas de réelle tendance sur les 5 années étudiées, le taux est relativement stable si ce n'est en 2009 où il est nettement plus faible (15%). Ces chiffres sont en accord avec ceux précédemment décrits où l'incidence est estimée entre 8 et 32% (14). Nous nous sommes également intéressés à l'incidence d'une deuxième réplication virale toujours dans les 18 premiers mois de la greffe, et celle-ci n'est pas négligeable car elle varie entre 2.5% et 13.5%, ce qui représente 22 patients sur les 237 greffés en 5 ans soit 9.3% de la population. Ces chiffres sont en accord avec ceux précédemment décrits où l'incidence rapportée de la récurrence de l'infection à CMV varie entre 6 et 31% (62) (65) (66). Dans notre étude, le délai médian entre la transplantation et le diagnostic initial d'infection à CMV est de 131 jours (24-478 jours), avec dans 21% des cas, une infection survenant sous traitement prophylactique. Ces chiffres sont similaires avec ceux décrits dans la cohorte française où ce même délai médian pour des patients recevant un traitement prophylactique est de 128 jours (6-465 jours), avec une réplication virale sous prophylaxie dans 29% des cas (56).

L'incidence de la résistance au GCV est basée sur de nombreuses études rétrospectives et varie entre 0,54 et 1% pour la population des transplantés rénaux. Ce taux s'élève entre 2.6 et 5% si l'on ne s'intéresse qu'aux patients D+/R- (67). Dans notre étude, l'incidence de la résistance aux anti-viraux est plus élevée car elle varie entre 5% et 8.2 % quel que soit le statut sérologique vis-à-vis du CMV. La résistance virologique a été confirmée dans 62% des cas de suspicion de résistance (8 patients sur 13). La littérature rapporte un taux similaire d'environ 50% de résistance virologique prouvée (56).

DIAGNOSTIC

Dans notre cohorte, 4 patients ont présenté, selon les définitions utilisées pour notre étude, une réplication active à CMV et non pour autant pas été traités. Ils ont par la suite évolué spontanément favorablement sans traitement anti-viral ni modification de l'immunosuppression. Leurs charges virales initiales étaient respectivement de 1563, 1472, 3519 et 346 copies/ml. La question du seuil virologique à partir duquel il est nécessaire d'instaurer un traitement spécifique reste entière et ce notamment chez le patient asymptomatique. Une étude internationale, multicentrique a montré la

variabilité inter-laboratoire dans la quantification des charges virales, cette variabilité étant d'autant plus marquée que la charge virale était basse (68). Ceci rappelle l'intérêt d'une uniformisation des techniques de détection. Dans l'attente d'une standardisation de ces procédures, les recommandations internationales actuelles préconisent aux centres transplantateurs d'utiliser une seule technique pour la détection et la quantification du CMV et ce, dans le même laboratoire.

RESISTANCE CLINIQUE

Dans notre étude, la recherche de mutations a été faite en cas de résistance clinique : c'est-à-dire soit en cas de persistance de signes en lien avec l'infection virale, soit en cas de persistance d'une charge virale détectable sous traitement bien conduit et malgré une diminution de l'immunosuppression. Dans la littérature, les résistances virologiques n'expliquent qu'environ 50% des non réponses au traitement curatif (56). D'autres facteurs doivent donc intervenir dans la non réponse au traitement curatif, et notamment l'adaptation pharmacologique des anti-viraux, mais aussi la réponse immunologique.

Concernant cette réponse immune, l'immunité à médiation cellulaire (IMC) est plus importante que l'immunité à médiation humorale dans le contrôle de l'infection à CMV ; l'infection entraînant une forte réponse cellulaire CD4+ et CD8+. En outre, une corrélation entre les lymphocytes CD4+ et CD8+ spécifiques du CMV sécréteurs d'IFN γ et une protection contre une infection à CMV après transplantation a été établie (69). En 2007, Crough rapporte une fluctuation des taux d'IFN γ chez les patients qui développent une infection symptomatique, contrairement aux patients qui ne développent pas d'infection ou bien qui présentent des réactivations asymptomatiques qui eux présentent des taux stables d'IFN γ (70). De plus, une altération fonctionnelle des lymphocytes T CD8+ a été rapportée comme associée à une augmentation de la virémie (71). Le test QUANTIFERON®-CMV est un test qui mesure l'IMC spécifique du CMV en mesurant par la méthode ELISA la quantité d'IFN γ dans le plasma en réponse à une stimulation avec des épitopes bien définis de plusieurs protéines du CMV. Ce test, en tant que témoin de la réponse cellulaire T, pourrait amener des éléments pour prédire la réactivation ou la rechute d'une infection à CMV, et permettre de guider la réponse thérapeutique. Pour cela, une étude multicentrique, nationale est actuellement en cours pour déterminer les valeurs prédictives de l'infection à CMV du test QUANTIFERON®-CMV durant la première année post-greffe chez les patients transplantés rénaux R+.

RESISTANCE VIROLOGIQUE

Sur le plan clinique, la symptomatologie principale au moment de la mise en évidence de la résistance virologique était une symptomatologie digestive avec une diarrhée chronique pour 37.5% de nos patients. Ces données semblent différer de celles de la littérature où la majorité des patients pour lesquels une résistance virologique est mise en évidence sont symptomatiques, avec une présentation essentiellement gastro-intestinale (72).

La charge virale initiale ne semble pas refléter l'intensité et l'étendue de la maladie, même si la charge virale initiale moyenne de nos patients symptomatiques étaient de 87578 copies/ml alors que celle des patients résistants asymptomatiques étaient de 3264 copies/ml. Cette différence n'est pas statistiquement significative. Eid rapporte également une non corrélation entre les taux de charges virales initiaux observés et la symptomatologie clinique (72). En cas de maladie à CMV, les variations de charge virale ne seraient pas un bon marqueur de la réponse thérapeutique. Il serait nécessaire de répéter les prélèvements histologiques afin de s'assurer de l'éradication virale.

MUTATIONS

Une mutation UL54 a été découverte chez 25% de nos patients résistants en association avec une mutation UL97. Ces données sont similaires à celles rapportées par Hantz et al. dans sa cohorte française où le taux de mutations associées est de 22.2%.

Près de 80% des mutations de pUL97 portent sur les acides aminés 460 ou 520 ou sur la région 590 à 607, qui correspond à la région d'interaction avec le GCV (73). Ces données sont en accord avec les mutations décrites chez la totalité de nos patients.

FACTEURS DE RISQUE DE L'EMERGENCE DE RESISTANCE

Comme précédemment rapporté, le principal facteur de risque d'émergence de résistance retrouvé dans notre étude est **le statut sérologique D+/R-** (56) (60) (67). Le groupe de patients résistants malgré son faible effectif est uniquement constitué de patients dont le statut sérologique est D+/R-. Les patients avec un statut D-/R- semblent être les moins à risque.

L'utilisation de **serum anti-lymphocytaire** en induction semble également être en faveur de l'émergence de résistance bien que non statistiquement significatif dans notre étude. Cette donnée reste à interpréter avec prudence du fait de la faible proportion de patients dans le groupe résistants.

Néanmoins, alors que certaines études ne rapportent pas de lien de causalité entre les deux (56), certains auteurs rapportent comme facteur de risque d'infection à CMV l'utilisation de SAL ou d'anticorps monoclonaux anti-CD3 en traitement d'induction ou pour le traitement d'un rejet aigu cellulaire cortico-résistant (74).

Un autre facteur décrit comme influençant l'émergence de résistance est le **type de stratégie anti-virale** : approche pré-emptive versus approche prophylactique. Dans sa cohorte bordelaise, Couzi a montré qu'une stratégie pré-emptive chez les transplantés rénaux à risque (D+/R-) était associée à un plus grand risque d'émergence de résistance (52). Dans notre centre, la stratégie utilisée est un traitement prophylactique universel pour l'ensemble des patients à risque c'est-à-dire tous les greffés rénaux à l'exception des D-/R-. Ce facteur de risque n'a donc pas pu être étudié.

Cependant, une donnée pertinente ressort de notre étude : les patients résistants présentent **une infection à CMV sous traitement prophylactique** dans la quasi-totalité des cas, d'où un délai entre la transplantation et l'infection beaucoup plus court comparé aux patients non résistants. Le fait que les patients répliquent sous prophylaxie évoque en premier lieu un sous dosage en VGCV. En effet, le lien entre l'émergence de résistance et le sous dosage en anti-viral a été démontré à plusieurs reprises (59). Dans l'étude ORVAL, les doses réduites de VGCV étaient dues soit à l'apparition d'une neutropénie chez 10% des patients, soit à une mauvaise adaptation posologique à la fonction rénale. Cependant, dans notre cohorte, la dose de VGCV utilisée chez ces patients au moment de l'infection était en accord avec la fonction rénale dans 5 cas sur 7 (450mg par jour dans 3 cas, 450mg tous les 2 jours dans 3 cas et 450mg 2 fois par semaine dans 1 cas). Le sous dosage en anti-viral ne semble pas être lié à l'émergence de mutants résistants. De plus, l'analyse du traitement prophylactique avant le début de l'infection montrait une bonne adéquation de la posologie à la fonction rénale. On ne peut pas en revanche exclure un comportement intra-cellulaire différent du GCV chez les patients résistants. En effet, la protéine MRP4 (multidrug resistance protein), protéine transmembranaire de la famille des protéines ABC (ATP-binding cassette proteins), joue très probablement un rôle dans l'efflux des antiviraux hors de la cellule. Le GCV est connu, depuis plus de 10 ans, comme étant, in vitro, un substrat de MRP4. Sa rétention cellulaire et son accumulation sont donc fortement en lien avec cette protéine. La surexpression de MRP4 est décrite par Adachi comme entraînant une résistance au GCV (75). Plus récemment, Billat et coll ont étudié le rôle éventuel de polymorphismes de MRP4 dans les effets indésirables du GCV. Le variant allélique MRP4 rs11568658, couplé à une diminution de l'activité MPR, était associé à un risque plus important de neutropénie suggérant une accumulation de GCV dans les polynucléaires neutrophiles (Billat, IATDMCT, 2013).

Dans notre cohorte, l'émergence de résistance n'est pas en lien avec une **charge virale** élevée au diagnostic, ni avec des pics de charge virale ultérieurs importants. Cependant, plusieurs études

semblent démontrer le contraire. Boivin et al (60) ont rapporté une tendance à l'émergence de résistance chez des patients avec une charge virale initiale supérieure à 10 000 copies/ml. De même, Couzi rapporte un lien entre émergence de résistance et pic de charge virale au-delà de 5.25log copies/ml (52). Cette différence peut être en partie expliquée par les différences de définitions et de seuils utilisés dans les études. En effet, nous avons pris pour seuil une charge virale supérieure à 1000 copies/ml pour retenir le diagnostic de répllication virale active. Le traitement curatif était alors initié ou non fonction du praticien en charge du patient, et de l'ensemble des paramètres clinico-biologiques, alors que dans leur cohorte bordelaise, le traitement était instauré au-delà de 2000 copies/ml. Le fait d'avoir une charge virale maximale élevée dans leur groupe de patients résistants peut être le fait d'une répllication importante devant un retard d'instauration d'un traitement curatif.

Le choix du traitement anti-viral initial ne semble pas être associé avec l'émergence d'une résistance (48).

TRAITEMENT

Le VGCV et le GCV IV sont tous deux recommandés pour le traitement de la maladie à CMV modérée. Le traitement oral est moins contraignant pour le patient et évite les effets indésirables liés à l'utilisation de la forme IV (veinite, sepsis à point de départ cutané...). Cependant, en cas de maladie très sévère ou en cas de symptomatologie digestive associée, l'utilisation du GCV IV est recommandée. Peu de données pharmacocinétiques sont disponibles quant à l'utilisation du VGCV en cas de maladie gastro-intestinale. Une donnée importante est l'utilisation de doses adéquates de ces médicaments, en adaptant les posologies à la fonction rénale du patient. Un sous dosage peut induire d'une part une non réponse clinique, et d'autre part favoriser l'émergence de résistance virologique (54). Malheureusement, à l'heure où l'utilisation de la formule MDRD est majoritaire, les études pilotes pour le dosage des anti-viraux (en traitement préventif ou curatif) se sont basées sur la formule de Cockcroft et Gault.

Le traitement curatif des patients présentant une résistance virologique est long et complexe, donnant lieu à une succession de lignes thérapeutiques. Aucune essai contrôlé n'a défini la stratégie thérapeutique à adopter en cas de résistance clinique ou virologique. Pour aider le clinicien dans sa démarche thérapeutique, une recommandation d'experts a élaboré un algorithme thérapeutique (Figure 5) (76). Un point essentiel est la bonne adaptation posologique des traitements utilisés afin de limiter l'émergence de résistance. En association au traitement curatif, une mesure essentielle est la reconstitution immunologique qui passe par l'allègement de l'immunosuppression.

En cas de résistance conférant un haut degré de résistance au GCV, l'utilisation du Foscarnet est recommandée. L'utilisation du Cidofovir, limitée du fait de sa néphrotoxicité, est à réserver en cas de résistance croisée au GCV et au Foscarnet.

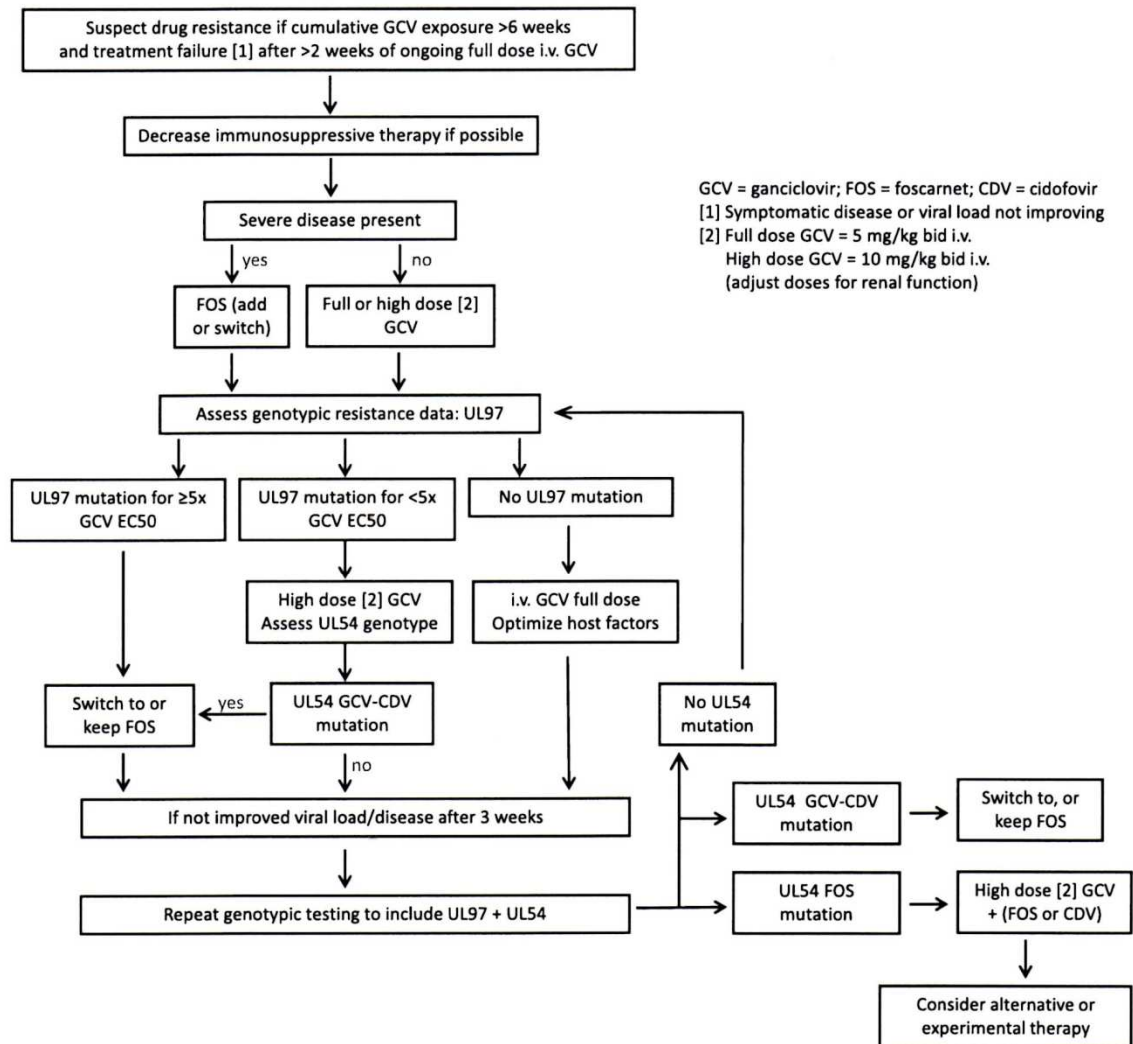


Figure 5 : Conduite à tenir thérapeutique en cas de résistance virologique (recommandation d'experts)

Le réel bénéfice des autres traitements adjuvants tels que les IgIV n'est pas encore clairement démontré. Leur utilisation est limitée dans la littérature à des formes sévères de maladie à CMV incluant des pneumopathies nécessitant le recours à la ventilation mécanique ou à des souches virales résistantes au GCV (77) (78).

Dans des études récentes, l'utilisation d'inhibiteur de mTOR est associée à une diminution du nombre d'infections à CMV dans une population de patients transplantés d'organe (79) (80). Une série de cas brésilienne rapporte l'intérêt de l'utilisation des inhibiteurs de mTOR couplée au traitement

par Foscarnet en cas de résistance au GCV (81). Plus récemment, une autre série rapporte l'issue favorable de 2 patients greffés infectés par une souche de CMV résistant avec le switch inhibiteur de calcineurine-inhibiteur de mTOR sans autre traitement adjuvant (82).

Le **Léflunomide** est un immunosuppresseur utilisé principalement dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde. In vitro, il a la propriété d'inhiber la formation des nouveaux virions synthétisés et d'exercer ainsi une activité anti-CMV. De plus, différents essais ont montré qu'in vitro le Léflunomide est aussi bien actif sur les souches sensibles que sur les souches virales résistantes au GCV (83). Cependant, son utilisation en pratique clinique est encore limitée et rapportée dans un faible nombre de cas cliniques ou d'études rétrospectives (84) (85). Il semble être une alternative intéressante, seul ou en association avec d'autres thérapeutiques, du fait de son faible coût et de sa bonne biodisponibilité orale mais les indications précises et les effets au long terme de ce médicament restent encore à déterminer.

Les **flavonoïdes** sont des molécules naturelles présentes notamment dans les fruits, le miel, le thé et qui sont principalement connues pour leur activité anti-oxydante. Plusieurs flavonoïdes sont déjà connues comme pouvant inhiber la réplication de certains herpès virus (86). Récemment, Cotin et al ont démontré in vitro les propriétés anti-CMV de 3 flavanoïdes (baicalein, quercetin et naringenin) (87).

Dans les années 70, un vaccin vivant atténué a fait l'objet d'essais cliniques. N'ayant pas permis d'obtenir une protection vaccinale significative et durable, les projets de vaccination se tournent vers l'utilisation de vaccins recombinants utilisant la glycoprotéine gB indispensable à la pénétration du virus dans la cellule. En 2009, une équipe américaine a publié un essai de phase II évaluant l'efficacité d'un vaccin contenant une glycoprotéine B d'enveloppe recombinante à 50% dans une population de femmes séronégatives (88).

MORBI-MORTALITE

Même si notre effectif est trop faible pour mettre une différence en évidence, ces observations montrent bien l'importance du traitement bien conduit et de l'éradication virale afin de limiter les effets directs et indirects du virus sur l'organisme et le greffon. En effet, dans différentes séries, le taux de décès dans les 2 ans post greffe des patients résistants avoisine les 20% (67)(72), bien que les causes ne soient pas toujours en lien direct avec le CMV. Dans notre étude, le taux est plus faible puisque calculé à 12.5% dans le groupe de patients résistants, mais ce taux de mortalité est le taux observé dans la première année post transplantation.

Les mauvais résultats à long terme de ces patients sont aussi le fait de perte de fonction du greffon. Des associations entre infection à CMV et glomérulopathie d'allogreffe ont précédemment été suggérées (89) (90). Dans notre étude, 12.5% des patients résistants (soit 1 patient) ont présenté un épisode de rejet cellulaire mais avec un greffon encore fonctionnel, et 1 seule patiente est retournée en hémodialyse, la perte de fonction de son greffon n'étant pas en lien directement avec l'infection à CMV, mais avec des infections urinaires hautes à répétition.

CONCLUSION

La résistance du CMV aux anti-viraux est un sujet crucial en terme de transplantation rénale, d'une part du fait de son incidence non négligeable, de ses difficultés de prise en charge thérapeutique et de part ses conséquences à la fois sur la morbi-mortalité des patients et sur le greffon en lui-même. Le principal facteur de risque décrit dans notre étude est le statut sérologique D+/R-, facteur déjà décrit à de multiples reprises dans la littérature. Si aucun autre facteur de risque n'a pu être mis en avant, devant la faible proportion de patients résistants, une notion importante ressort de notre étude : l'apparition d'une infection à CMV est beaucoup plus fréquente durant la période de prophylaxie dans le groupe de patients présentant une résistance virologique, d'où un délai beaucoup plus court entre l'infection et la greffe. La réplication virale durant la période de prophylaxie ne semble pas en lien avec un sous dosage du traitement anti-viral dans notre cohorte. L'idée d'un polymorphisme génétique des transporteurs membranaires du GCV pourrait expliquer les variabilités inter-individuelles de réponse au traitement. Concernant les mutations observées, si les mutations UL97 sont décrites pour la totalité de nos patients, les mutations UL54 ne sont pas rares. Elles sont importantes à connaître car elles sont souvent à l'origine d'une résistance croisée aux anti-viraux. Le traitement curatif semble organiser autour de deux points fondamentaux : un traitement anti-viral bien conduit et la réduction de l'immunosuppression. Des recommandations d'experts ont récemment été publiées afin d'aider le clinicien à prendre en charge au mieux les patients présentant une résistance virologique.

BIBLIOGRAPHIE

1. Crough T, Khanna R. Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. *Clin Microbiol Rev.* janv 2009;22(1):76-98, Table of Contents.
2. Adler SP. Cytomegalovirus and child day care: risk factors for maternal infection. *Pediatr Infect Dis J.* août 1991;10(8):590-594.
3. Grangeot-Keros L, Simon B, Audibert F, Vial M. Should we routinely screen for cytomegalovirus antibody during pregnancy? *Intervirology.* 1998;41(4-5):158-162.
4. Gouarin S, Palmer P, Cointe D, Rogez S, Vabret A, Rozenberg F, et al. Congenital HCMV infection: a collaborative and comparative study of virus detection in amniotic fluid by culture and by PCR. *J Clin Virol.* avr 2001;21(1):47-55.
5. Gratacap-Cavallier B, Morand P, Dutertre N, Bosson JL, Baccard-Longère M, Jouk PS, et al. [Cytomegalovirus infection in pregnant women. Seroepidemiological prospective study in 1,018 women in Isere]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* mars 1998;27(2):161-166.
6. Boppana SB, Fowler KB, Britt WJ, Stagno S, Pass RF. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants born to mothers with preexisting immunity to cytomegalovirus. *Pediatrics.* juill 1999;104(1 Pt 1):55-60.
7. Champier G. Cytomégalovirus humain et antiviraux : supports génétiques des résistances et cibles des nouveaux anti-viraux. 2006.
8. Faucher JF, Abraham B, Segondy M, Jonquet O, Reynes J, Janbon F. [Acquired cytomegalovirus infections in immunocompetent adults: 116 cases]. *Presse Med.* 14 nov 1998;27(35):1774-1779.
9. Revello MG, Zavattoni M, Furione M, Lilleri D, Gorini G, Gerna G. Diagnosis and outcome of preconceptional and periconceptional primary human cytomegalovirus infections. *J Infect Dis.* 15 août 2002;186(4):553-557.
10. Drose JA, Dennis MA, Thickman D. Infection in utero: US findings in 19 cases. *Radiology.* févr 1991;178(2):369-374.
11. Watt-Morse ML, Laifer SA, Hill LM. The natural history of fetal cytomegalovirus infection as assessed by serial ultrasound and fetal blood sampling: a case report. *Prenat Diagn.* juin 1995;15(6):567-570.
12. Boppana SB, Pass RF, Britt WJ, Stagno S, Alford CA. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal morbidity and mortality. *Pediatr Infect Dis J.* févr 1992;11(2):93-99.
13. Vauloup C, Grangeot-Keros L. Cytomegalovirus et grossesse. *Virologie.* 2009;
14. Patel R, Paya CV. Infections in solid-organ transplant recipients. *Clin Microbiol Rev.* janv 1997;10(1):86-124.

15. Sagedal S, Nordal KP, Hartmann A, Degré M, Holter E, Foss A, et al. A prospective study of the natural course of cytomegalovirus infection and disease in renal allograft recipients. *Transplantation*. 27 oct 2000;70(8):1166-1174.
16. Humar A, Michaels M. American Society of Transplantation recommendations for screening, monitoring and reporting of infectious complications in immunosuppression trials in recipients of organ transplantation. *Am J Transplant*. févr 2006;6(2):262-274.
17. Kute VB, Vanikar AV, Shah PR, Gumber MR, Patel HV, Godara SM, et al. Post-renal transplant cytomegalovirus infection: study of risk factors. *Transplant Proc*. avr 2012;44(3):706-709.
18. Mourad G, Rostaing L, Legendre C, Garrigue V, Thervet E, Durand D. Sequential protocols using basiliximab versus antithymocyte globulins in renal-transplant patients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation*. 27 août 2004;78(4):584-590.
19. Wéclawiak H, Kamar N, Mengelle C, Guitard J, Esposito L, Lavayssière L, et al. Cytomegalovirus prophylaxis with valganciclovir in cytomegalovirus-seropositive kidney-transplant patients. *J Med Virol*. juill 2008;80(7):1228-1232.
20. Fietze E, Prösch S, Reinke P, Stein J, Döcke WD, Staffa G, et al. Cytomegalovirus infection in transplant recipients. The role of tumor necrosis factor. *Transplantation*. 27 sept 1994;58(6):675-680.
21. Kamar N, Mengelle C, Esposito L, Guitard J, Mehrenberger M, Lavayssière L, et al. Predictive factors for cytomegalovirus reactivation in cytomegalovirus-seropositive kidney-transplant patients. *J Med Virol*. juin 2008;80(6):1012-1017.
22. Cook CH, Yenchar JK, Kraner TO, Davies EA, Ferguson RM. Occult herpes family viruses may increase mortality in critically ill surgical patients. *Am J Surg*. oct 1998;176(4):357-360.
23. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian society of transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant*. févr 2005;5(2):218-227.
24. Lowance D, Neumayer HH, Legendre CM, Squifflet JP, Kovarik J, Brennan PJ, et al. Valacyclovir for the prevention of cytomegalovirus disease after renal transplantation. International Valacyclovir Cytomegalovirus Prophylaxis Transplantation Study Group. *N Engl J Med*. 13 mai 1999;340(19):1462-1470.
25. Sagedal S, Hartmann A, Nordal KP, Osnes K, Leivestad T, Foss A, et al. Impact of early cytomegalovirus infection and disease on long-term recipient and kidney graft survival. *Kidney Int*. juill 2004;66(1):329-337.
26. Helanterä I, Koskinen P, Tornroth T, Loginov R, Gronhagen-Riska C, Lautenschlager I. The impact of cytomegalovirus infections and acute rejection episodes on the development of vascular changes in 6-month protocol biopsy specimens of cadaveric kidney allograft recipients. *Transplantation*. 15 juin 2003;75(11):1858-1864.
27. Reischig T, Jindra P, Hes O, Bouda M, Kormunda S, Treska V. Effect of cytomegalovirus viremia on subclinical rejection or interstitial fibrosis and tubular atrophy in protocol biopsy

- at 3 months in renal allograft recipients managed by preemptive therapy or antiviral prophylaxis. *Transplantation*. 15 févr 2009;87(3):436-444.
28. Birk PE, Chavers BM. Does cytomegalovirus cause glomerular injury in renal allograft recipients? *J Am Soc Nephrol*. nov 1997;8(11):1801-1808.
 29. Hodson EM, Jones CA, Webster AC, Strippoli GFM, Barclay PG, Kable K, et al. Antiviral medications to prevent cytomegalovirus disease and early death in recipients of solid-organ transplants: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet*. 18 juin 2005;365(9477):2105-2115.
 30. Hjelmessaeth J, Sagedal S, Hartmann A, Rollag H, Egeland T, Hagen M, et al. Asymptomatic cytomegalovirus infection is associated with increased risk of new-onset diabetes mellitus and impaired insulin release after renal transplantation. *Diabetologia*. sept 2004;47(9):1550-1556.
 31. Harkins L, Volk AL, Samanta M, Mikolaenko I, Britt WJ, Bland KI, et al. Specific localisation of human cytomegalovirus nucleic acids and proteins in human colorectal cancer. *Lancet*. 16 nov 2002;360(9345):1557-1563.
 32. Cobbs CS, Harkins L, Samanta M, Gillespie GY, Bharara S, King PH, et al. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res*. 15 juin 2002;62(12):3347-3350.
 33. Déchanet J, Merville P, Lim A, Retière C, Pitard V, Lafarge X, et al. Implication of gammadelta T cells in the human immune response to cytomegalovirus. *J Clin Invest*. 15 mai 1999;103(10):1437-1449.
 34. Couzi L, Levallant Y, Jamai A, Pitard V, Lassalle R, Martin K, et al. Cytomegalovirus-induced gammadelta T cells associate with reduced cancer risk after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*. janv 2010;21(1):181-188.
 35. Deback C, Fillet AM, Dhedin N, Barrou B, Varnous S, Najjioullah F, et al. Monitoring of human cytomegalovirus infection in immunosuppressed patients using real-time PCR on whole blood. *J Clin Virol*. nov 2007;40(3):173-179.
 36. Lugert R, Reichard U, Hufert FT, Gross U. Comparison between pp65 antigenemia assay and quantitative real-time polymerase chain reaction for detection of active cytomegalovirus infection in routine diagnostics. *Diagn Microbiol Infect Dis*. oct 2009;65(2):192-195.
 37. Alain S, Cotin S, Hantz S. Résistance du cytomegalovirus aux antiviraux. *Virologie*. 2009;
 38. Trifillis AL, Cui X, Drusano GL. Use of human renal proximal tubule cell cultures for studying foscarnet-induced nephrotoxicity in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*. nov 1993;37(11):2496-2499.
 39. Maurice-Estépa L, Daudon M, Katlama C, Jouanneau C, Sazdovitch V, Lacour B, et al. Identification of crystals in kidneys of AIDS patients treated with foscarnet. *American Journal of Kidney Diseases*. sept 1998;32(3):392-400.

40. Karie S, Launay-Vacher V, Deray G, Isnard-Bagnis C. [Drugs renal toxicity]. *Nephrol Ther.* févr 2010;6(1):58-74.
41. Biron KK, Harvey RJ, Chamberlain SC, Good SS, Smith AA, Davis MG, et al. Potent and Selective Inhibition of Human Cytomegalovirus Replication by 1263W94, a Benzimidazole L-Riboside with a Unique Mode of Action. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1 août 2002;46(8):2365-2372.
42. Lalezari JP, Aberg JA, Wang LH, Wire MB, Miner R, Snowden W, et al. Phase I dose escalation trial evaluating the pharmacokinetics, anti-human cytomegalovirus (HCMV) activity, and safety of 1263W94 in human immunodeficiency virus-infected men with asymptomatic HCMV shedding. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 2002;46(9):2969-2976.
43. Winston DJ, Young J-AH, Pullarkat V, Papanicolaou GA, Vij R, Vance E, et al. Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus infection in allogeneic stem cell transplant recipients: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study. *Blood.* 1 juin 2008;111(11):5403-5410.
44. Winston DJ, Saliba F, Blumberg E, Abouljoud M, Garcia-Diaz JB, Goss JA, et al. Efficacy and safety of maribavir dosed at 100 mg orally twice daily for the prevention of cytomegalovirus disease in liver transplant recipients: a randomized, double-blind, multicenter controlled trial. *Am J Transplant.* nov 2012;12(11):3021-3030.
45. Kaptein SJF, Efferth T, Leis M, Rechter S, Auerochs S, Kalmer M, et al. The anti-malaria drug artesunate inhibits replication of cytomegalovirus in vitro and in vivo. *Antiviral Res.* févr 2006;69(2):60-69.
46. Shapira MY, Resnick IB, Chou S, Neumann AU, Lurain NS, Stamminger T, et al. Artesunate as a potent antiviral agent in a patient with late drug-resistant cytomegalovirus infection after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 1 mai 2008;46(9):1455-1457.
47. Asberg A, Humar A, Rollag H, Jardine AG, Mouas H, Pescovitz MD, et al. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* sept 2007;7(9):2106-2113.
48. Asberg A, Humar A, Jardine AG, Rollag H, Pescovitz MD, Mouas H, et al. Long-term outcomes of CMV disease treatment with valganciclovir versus IV ganciclovir in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* mai 2009;9(5):1205-1213.
49. Humar A, Lebranchu Y, Vincenti F, Blumberg EA, Punch JD, Limaye AP, et al. The efficacy and safety of 200 days valganciclovir cytomegalovirus prophylaxis in high-risk kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* mai 2010;10(5):1228-1237.
50. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Snyderman DR, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation.* 15 avr 2010;89(7):779-795.
51. Kotton CN. Management of cytomegalovirus infection in solid organ transplantation. *Nat Rev Nephrol.* déc 2010;6(12):711-721.

52. Couzi L, Helou S, Bachelet T, Moreau K, Martin S, Morel D, et al. High incidence of anticytomegalovirus drug resistance among D+R- kidney transplant recipients receiving preemptive therapy. *Am J Transplant.* janv 2012;12(1):202-209.
53. Erice A, Chou S, Biron KK, Stanat SC, Balfour HH Jr, Jordan MC. Progressive disease due to ganciclovir-resistant cytomegalovirus in immunocompromised patients. *N Engl J Med.* 2 févr 1989;320(5):289-293.
54. Emery VC, Griffiths PD. Prediction of cytomegalovirus load and resistance patterns after antiviral chemotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 5 juill 2000;97(14):8039-8044.
55. Iwasenko JM, Scott GM, Naing Z, Glanville AR, Rawlinson WD. Diversity of antiviral-resistant human cytomegalovirus in heart and lung transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* avr 2011;13(2):145-153.
56. Hantz S, Garnier-Geoffroy F, Mazon M-C, Garrigue I, Merville P, Mengelle C, et al. Drug-resistant cytomegalovirus in transplant recipients: a French cohort study. *J Antimicrob Chemother.* déc 2010;65(12):2628-2640.
57. Limaye AP. Ganciclovir-resistant cytomegalovirus in organ transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 1 oct 2002;35(7):866-872.
58. Bhorade SM, Lurain NS, Jordan A, Leischner J, Villanueva J, Durazo R, et al. Emergence of ganciclovir-resistant cytomegalovirus in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* déc 2002;21(12):1274-1282.
59. Boutolleau D, Deback C, Bressollette-Bodin C, Varnous S, Dhedin N, Barrou B, et al. Resistance pattern of cytomegalovirus (CMV) after oral valganciclovir therapy in transplant recipients at high-risk for CMV infection. *Antiviral Res.* févr 2009;81(2):174-179.
60. Boivin G, Goyette N, Rollag H, Jardine AG, Pescovitz MD, Asberg A, et al. Cytomegalovirus resistance in solid organ transplant recipients treated with intravenous ganciclovir or oral valganciclovir. *Antivir Ther (Lond).* 2009;14(5):697-704.
61. Erice A. Resistance of human cytomegalovirus to antiviral drugs. *Clin Microbiol Rev.* avr 1999;12(2):286-297.
62. Humar A, Uknis M, Carlone-Jambor C, Gruessner RW, Dunn DL, Matas A. Cytomegalovirus disease recurrence after ganciclovir treatment in kidney and kidney-pancreas transplant recipients. *Transplantation.* 15 janv 1999;67(1):94-97.
63. Van den Berg AP, van Son WJ, Haagsma EB, Klompmaker IJ, Tegzess AM, Schirm J, et al. Prediction of recurrent cytomegalovirus disease after treatment with ganciclovir in solid-organ transplant recipients. *Transplantation.* avr 1993;55(4):847-851.
64. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) Virus Load Kinetics to Predict Recurrent Disease in Solid-Organ Transplant Patients with CMV Disease. *J Infect Dis.* 15 sept 2002;186(6):829-833.

65. Jordan ML, Hrebinko RL Jr, Dummer JS, Hickey DP, Shapiro R, Vivas CA, et al. Therapeutic use of ganciclovir for invasive cytomegalovirus infection in cadaveric renal allograft recipients. *J Urol.* nov 1992;148(5):1388-1392.
66. Sawyer MD, Mayoral JL, Gillingham KJ, Kramer MA, Dunn DL. Treatment of recurrent cytomegalovirus disease in patients receiving solid organ transplants. *Arch Surg.* févr 1993;128(2):165-169; discussion 170.
67. Limaye AP, Corey L, Koelle DM, Davis CL, Boeckh M. Emergence of ganciclovir-resistant cytomegalovirus disease among recipients of solid-organ transplants. *Lancet.* 19 août 2000;356(9230):645-649.
68. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, Miller GG, Caliendo AM, Preiksaitis JK, et al. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant.* févr 2009;9(2):258-268.
69. Bunde T, Kirchner A, Hoffmeister B, Habedank D, Hetzer R, Cherepnev G, et al. Protection from cytomegalovirus after transplantation is correlated with immediate early 1-specific CD8 T cells. *J Exp Med.* 4 avr 2005;201(7):1031-1036.
70. Crough T, Fazou C, Weiss J, Campbell S, Davenport MP, Bell SC, et al. Symptomatic and asymptomatic viral recrudescence in solid-organ transplant recipients and its relationship with the antigen-specific CD8(+) T-cell response. *J Virol.* oct 2007;81(20):11538-11542.
71. Mattes FM, Vargas A, Kopycinski J, Hainsworth EG, Sweny P, Nebbia G, et al. Functional impairment of cytomegalovirus specific CD8 T cells predicts high-level replication after renal transplantation. *Am J Transplant.* mai 2008;8(5):990-999.
72. Eid AJ, Arthurs SK, Deziel PJ, Wilhelm MP, Razonable RR. Emergence of drug-resistant cytomegalovirus in the era of valganciclovir prophylaxis: therapeutic implications and outcomes. *Clin Transplant.* avr 2008;22(2):162-170.
73. Chou S. Cytomegalovirus UL97 mutations in the era of ganciclovir and maribavir. *Rev Med Virol.* août 2008;18(4):233-246.
74. Mourad G, Rostaing L, Legendre C, Garrigue V, Thervet E, Durand D. Sequential protocols using basiliximab versus antithymocyte globulins in renal-transplant patients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation.* 27 août 2004;78(4):584-590.
75. Adachi M, Sampath J, Lan L, Sun D, Hargrove P, Flatley R, et al. Expression of MRP4 confers resistance to ganciclovir and compromises bystander cell killing. *J Biol Chem.* 11 oct 2002;277(41):38998-39004.
76. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplantation. *Transplantation.* 31 juill 2013;
77. Einsele H, Roosnek E, Rufer N, Sinzger C, Riegler S, Löffler J, et al. Infusion of cytomegalovirus (CMV)-specific T cells for the treatment of CMV infection not responding to antiviral chemotherapy. *Blood.* 1 juin 2002;99(11):3916-3922.

78. Brestrich G, Zwinger S, Fischer A, Schmück M, Röhmhild A, Hammer MH, et al. Adoptive T-cell therapy of a lung transplanted patient with severe CMV disease and resistance to antiviral therapy. *Am J Transplant.* juill 2009;9(7):1679-1684.
79. Brennan DC, Legendre C, Patel D, Mange K, Wiland A, McCague K, et al. Cytomegalovirus incidence between everolimus versus mycophenolate in de novo renal transplants: pooled analysis of three clinical trials. *Am J Transplant.* nov 2011;11(11):2453-2462.
80. Viganò M, Dengler T, Mattei MF, Poncelet A, Vanhaecke J, Vermes E, et al. Lower incidence of cytomegalovirus infection with everolimus versus mycophenolate mofetil in de novo cardiac transplant recipients: a randomized, multicenter study. *Transpl Infect Dis.* févr 2010;12(1):23-30.
81. Ozaki KS, Câmara NOS, Nogueira E, Pereira MG, Granato C, Melaragno C, et al. The use of sirolimus in ganciclovir-resistant cytomegalovirus infections in renal transplant recipients. *Clin Transplant.* oct 2007;21(5):675-680.
82. Sabé N, González-Costello J, Rama I, Niubó J, Bodro M, Roca J, et al. Successful outcome of ganciclovir-resistant cytomegalovirus infection in organ transplant recipients after conversion to mTOR inhibitors. *Transpl Int.* juill 2012;25(7):e78-82.
83. Waldman WJ, Knight DA, Blinder L, Shen J, Lurain NS, Miller DM, et al. Inhibition of cytomegalovirus in vitro and in vivo by the experimental immunosuppressive agent leflunomide. *Intervirology.* 1999;42(5-6):412-418.
84. John GT, Manivannan J, Chandy S, Peter S, Fleming DH, Chandy SJ, et al. A prospective evaluation of leflunomide therapy for cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* déc 2005;37(10):4303-4305.
85. Avery RK, Mossad SB, Poggio E, Lard M, Budev M, Bolwell B, et al. Utility of leflunomide in the treatment of complex cytomegalovirus syndromes. *Transplantation.* 27 août 2010;90(4):419-426.
86. Hayashi K, Hayashi T, Otsuka H, Takeda Y. Antiviral activity of 5,6,7-trimethoxyflavone and its potentiation of the antiherpes activity of acyclovir. *J Antimicrob Chemother.* juin 1997;39(6):821-824.
87. Cotin S, Calliste C-A, Mazon M-C, Hantz S, Duroux J-L, Rawlinson WD, et al. Eight flavonoids and their potential as inhibitors of human cytomegalovirus replication. *Antiviral Res.* nov 2012;96(2):181-186.
88. Pass RF. Development and evidence for efficacy of CMV glycoprotein B vaccine with MF59 adjuvant. *J Clin Virol.* déc 2009;46 Suppl 4:S73-76.
89. Richardson WP, Colvin RB, Cheeseman SH, Tolloff-Rubin NE, Herrin JT, Cosimi AB, et al. Glomerulopathy associated with cytomegalovirus viremia in renal allografts. *N Engl J Med.* 9 juill 1981;305(2):57-63.
90. Browne G, Whitworth C, Bellamy C, Ogilvie MM. Acute allograft glomerulopathy associated with CMV viraemia. *Nephrol Dial Transplant.* avr 2001;16(4):861-862.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	2
LISTE DES ABREVIATIONS.....	5
LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX	7
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	10
Virus CMV.....	11
1.1. Historique.....	11
1.2. Classification	11
1.3. Structure virale	12
1.3.1. La nucléocapside.....	12
1.3.2. Les protéines du tégument.....	13
1.3.3. L'enveloppe virale.....	13
1.3.4. Le génome viral.....	13
Infection à CMV.....	15
2.1. Epidémiologie.....	15
2.2. Multiplication du virus.....	15
2.3. Physiopathologie.....	17
2.3.1. Tropisme cellulaire.....	18
2.3.2. Dissémination sanguine	18
2.3.3. Latence et réactivation.....	18
2.3.4. Réponse immunitaire	19
Manifestations cliniques.....	21
3.1. Chez le sujet immunocompétent	21
3.2. Chez l'immunodéprimé : cas du transplanté rénal.....	22
3.2.1. Epidémiologie	22
3.2.2. Facteurs de risque.....	23
3.2.3. Présentation clinique.....	23
3.2.3.1. Effets directs de l'infection à CMV.....	24
3.2.3.2. Effets indirects de l'infection à CMV.....	25
Diagnostic.....	28
4.1. Diagnostic direct.....	28
4.1.1. Détection de l'ADN génomique	28
4.1.2. Détection des antigènes viraux	28
4.1.3. Culture pour isolement viral	29
4.1.4. Examen cytologique	29
4.2. Diagnostic indirect.....	29
Traitement	30
5.1. Molécules anti-virales	30
5.1.1. Analogues nucléosidiques	30
	82

5.1.1.1.	Ganciclovir (GCV) et valganciclovir (VGCV).....	30
5.1.1.2.	Aciclovir (ACV) et valaciclovir (Val-ACV)	31
5.1.2.	Autres drogues	31
5.1.2.1.	Foscarnet (PFA).....	32
5.1.2.2.	Cidofovir (CDV).....	32
5.1.3.	Nouvelles molécules.....	33
5.1.3.1.	Maribavir	33
5.1.3.2.	Artesunate.....	34
5.2.	Stratégies thérapeutiques	34
5.2.1.	Traitement curatif.....	34
5.2.2.	Traitement préventif : prophylactique/pré-emptif.....	35
Mécanismes de résistance		37
6.1.	Généralités	37
6.2.	Définitions	38
6.3.	Epidémiologie.....	38
6.4.	Facteurs de risque.....	38
6.5.	Mécanismes moléculaires.....	39
6.5.1.	Analyse génotypique.....	39
6.5.2.	Analyse phénotypique.....	41
6.6.	Algorithme décisionnel.....	41
6.7.	Récurrence virale	42
ETUDE EXPERIMENTALE		43
INTRODUCTION.....		44
MATERIEL ET METHODES		45
RESULTATS		48
	Population d'étude.....	48
	Prophylaxie	50
	Incidence de la réplication virale	51
	Incidence de la résistance virologique.....	52
	Mutations UL97 et UL54	52
	Comparaison des caractéristiques clinico-biologiques R+/R-.....	53
	Evolution en cas de résistance virologique.....	58
	Résistance clinique	61
	Mortalité globale à 1 an	64
	Rejets dans la première année post greffe	64
DISCUSSION.....		65
CONCLUSION		73
BIBLIOGRAPHIE		74

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Objectif : Déterminer l'incidence de la résistance virologique à 18 mois post greffe dans une cohorte de patients transplantés rénaux, ainsi que d'identifier les facteurs de risque d'émergence de résistance, et l'impact des résistances sur la morbi-mortalité.

Matériels et méthodes : Etude rétrospective monocentrique menée sur les patients transplantés rénaux entre le 1^{er} janvier 2007 et le 31 décembre 2011 au sein du CHU de Limoges, et présentant durant les 18 mois post greffe une infection virale à CMV.

Résultats : Sur les 237 patients transplantés durant la période étudiée, 62 ont présenté une infection virale à CMV. L'incidence de l'infection variait entre 15% et 29.7% par an. L'incidence de la résistance variait quant à elle entre 5 et 8.2%. Le statut sérologique D+/R- restait le principal facteur de risque retrouvé ($p=0.0006$). L'infection à CMV apparaissait plus précocement dans le groupe de patients résistants (62.25 jours versus 173.11 jours, $p =0.0000003$), la réplication virale apparaissant dans 87.5% des cas sous traitement prophylactique.

Conclusion : La résistance aux anti-viraux est un enjeu thérapeutique majeur en transplantation rénale, afin de limiter les effets directs et indirects du virus sur l'organisme et le greffon.

Mots clés : CMV, transplantation rénale, résistance virologique, mutation, résistance clinique.

Objective: To determine the incidence of viral resistance 18 months post transplant in a cohort of renal transplant patients and to identify risk factors of emergence of resistance, and the impact of viral resistance on morbidity and mortality.

Materials and methods: single-center retrospective study conducted in kidney transplant patients with post-transplant viral CMV infection in the 18 months post transplant between 1st January 2007 and 31st December 2011 in the University Hospital of Limoges.

Results: Of the 237 patients transplanted during the study period, 62 showed a viral CMV infection. The incidence of infection ranged between 15% and 29.7% per year. The incidence of resistance varied between 5% and 8.2%. Serostatus D+/R- remained the main risk factor found ($p=0.0006$). CMV infection appeared earlier in the group of resistant patients (62.25 days versus 173.11 days, $p=0.0000003$), viral replication occurring in 87.5% of cases during prophylactic treatment.

Conclusion: Resistance to anti-viral therapy is a major challenge in renal transplantation in order to reduce the direct and indirect effects of the virus on the organism and the graft.

Keywords: CMV, renal transplantation, viral resistance, mutation, clinical resistance.