

# UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

Thèse

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LIMOGES

## **PREVENTION ET TRAITEMENT DU CYTOMEGALOVIRUS APRES TRANSPLANTATION**

Présentée et soutenue par

**Simon BARANDE**

Le 01/07/2014

Thèse dirigée par Mme le professeur **Sylvie ROGEZ**

### **JURY :**

Présidente :

Mme le Professeur Sylvie ROGEZ

Examineurs :

Mr le Professeur Jacques BUXERAUD

Mr le Docteur Pierre-Emmanuel METAIS



# Liste du corps enseignant le la Faculté de Pharmacie de Limoges



DOYEN DE LA FACULTÉ : Monsieur le Professeur Jean-Luc **DUROUX**

1<sup>er</sup> VICE-DOYEN : Madame Catherine **FAGNÈRE**, Maître de Conférences

2<sup>ème</sup> VICE-DOYEN : Monsieur le Professeur Serge **BATTU**

## PROFESSEURS :

<b>BATTU</b> Serge	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>BENEYTOUT</b> Jean-Louis	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
<b>BOTINEAU</b> Michel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>BROSSARD</b> Claude	PHARMACOTECHNIE
<b>BUXERAUD</b> Jacques	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
<b>CARDOT</b> Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>DELAGE</b> Christiane	CHIMIE GÉNÉRALE ET MINÉRALE
<b>DESMOULIÈRE</b> Alexis	PHYSIOLOGIE
<b>DUROUX</b> Jean-Luc INFORMATIQUE	BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET
<b>MAMBU</b> Lengo	PHARMACOGNOSIE
<b>ROUSSEAU</b> Annick	BIOSTATISTIQUE
<b>VIANA</b> Marylène	PHARMACOTECHNIE

## PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

<b>LACHÂTRE</b> Gérard	TOXICOLOGIE
<b>MOESCH</b> Christian	HYGIÈNE HYDROLOGIE ENVIRONNEMENT
<b>ROGEZ</b> Sylvie	BACTÉRIOLOGIE ET VIROLOGIE

**MAÎTRE DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS – PRATICIEN HOSPITALIER DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES : (en détachement)**

**PICARD** Nicolas

PHARMACOLOGIE

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES :**

**BASLY** Jean-Philippe

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

**BEAUBRUN-GIRY** Karine

PHARMACOTECHNIE

**BILLET** Fabrice

PHYSIOLOGIE

**CALLISTE** Claude  
INFORMATIQUE

BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET

**CLEDAT** Dominique

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

**COMBY** Francis

CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE

**COURTIOUX** Bertrand

PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE

**DELEBASSÉE** Sylvie  
IMMUNOLOGIE

MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-

**DEMIOT** Claire-Elise

PHARMACOLOGIE

**FAGNÈRE** Catherine

CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE

**FROISSARD** Didier

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE

**JAMBUT** Anne-Catherine

CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE

**LABROUSSE** Pascal

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE

**LÉGER** David

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

**LIAGRE** Bertrand

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

**MARION-THORE** Sandrine

CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE

**MARRE-FOURNIER** Françoise

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

**MILLOT** Marion

PHARMACOGNOSIE

**MOREAU** Jeanne  
IMMUNOLOGIE

MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-

**PASCAUD** Patricia

PHARMACIE GALÉNIQUE

**POUGET** Christelle

CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE

**SIMON** Alain

CHIMIE GÉNÉRALE ET MINÉRALE

**TROUILLAS** Patrick  
INFORMATIQUE

BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET

**VIGNOLES** Philippe  
INFORMATIQUE

BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET

**PROFESSEUR de LYCEE PROFESSIONNEL :**

**ROUMIEUX** Gwenhaël

ANGLAIS

**ATTACHÉ TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE :**

**MAMMARI** Nour (1/10/13 au 31/08/14)

MICROBIOLOGIE

**VEDRENNE** Nicolas (1/11/13 au 31/08/14)

CHIMIE ANALYTIQUE

# Remerciements

A **Madame le Professeur Sylvie Rogez** d'avoir accepté de diriger cette thèse. Merci pour le temps que vous avez pu m'accorder même ces derniers mois où vous avez été très occupée. Merci pour vos connaissances et votre rigueur.

A **Monsieur le Professeur Jacques Buxeraud**. Tout d'abord merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, j'en suis très honoré. Ensuite merci pour vos connaissances, l'envie de les partager et votre empathie envers les étudiants. Vous êtes un professeur que j'ai toujours apprécié tout au long de mes études. Vous allez grandement manquer à la Fac de Limoges.

A **Monsieur le docteur Pierre-Emmanuel Metais**. Merci d'avoir accepté de siéger parmi mon jury, ça me fait vraiment plaisir d'avoir un ami dans mon jury pour ce jour si important.

A **mes parents et à ma sœur** pour votre amour et votre soutien pendant ces longues études.

A **Aurélie**, c'est là que ça devient un peu compliqué ! Merci pour ces belles années passées à tes côtés je ne les oublierai jamais même si ça ne s'est pas terminé comme on aurait voulu. Merci pour ces moments uniques qu'on a pu partager pendant ces 5 ans passés ensemble : les vacances, les potes, les exams ou juste les journées passées à glander. J'espère pouvoir retrouver un jour cette complicité qui nous allait si bien.

A **Véro, Domi, Anto et Yann** de m'avoir accepté dans votre famille les bras ouverts. Merci d'avoir pris soin de moi, vous avez été un peu ma famille d'adoption durant ces années d'études. Je vous aime tous vraiment beaucoup.

A **Simon**, mon pote. Merci mon Sy de ton soutien depuis qu'on se connaît et encore plus ces dernières années Tu as toujours été là pour moi, dans les bons comme dans les moins bons moments. Je suis fier d'avoir un ami comme toi. J'espère être un aussi bon ami pour toi que tu l'es pour moi.

A **Anne**, merci pour ces derniers mois passés ensemble tu m'apportes beaucoup de bonheur quand je suis avec toi. Je suis juste un peu déçu que tu ne sois pas là pour ma soutenance mais je sais que tu penses à moi et que tu m'envoies toutes tes ondes positives.

Les études c'est aussi beaucoup de moments passés avec les copains : Mehdi, Val, Rémi, Blondin, José, Charles-Henri, Gérard, Loulou et Simsim, Vincent et Elo, Paulette et Sybille, Toto et Nana, Juju, Arnal, Pe et Diane, Quantouz et Gé, Saluta, le Kré, PJ, Rifieu, Denis... Merci pour les moments qu'on a pu partager. Ça va être un peu dur de vous quitter mais je reviendrai vous voir c'est promis. Sinon rendez-vous à la Run.

# Table des matières

<b>Liste du corps enseignant le la faculté de pharmacie de limoges .....</b>	<b>2</b>
<b>Remerciements.....</b>	<b>5</b>
<b>Table des matières .....</b>	<b>7</b>
<b>Liste des abbréviations.....</b>	<b>9</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>11</b>
<b>Historique .....</b>	<b>12</b>
<b>Première partie .....</b>	<b>13</b>
<b>I- Structure du cytomégalovirus .....</b>	<b>14</b>
a) La nucléocapside.....	14
b) Le tégment .....	15
c) L'enveloppe virale .....	16
d) Le génome viral .....	16
<b>II- Réplication du cytomégalovirus .....</b>	<b>17</b>
a) Tropisme cellulaire et attachement du virus à la cellule hôte .....	17
b) Synthèse des protéines virales .....	19
c) Excrétion du virus .....	20
<b>III- Epidémiologie.....</b>	<b>21</b>
<b>IV- Pouvoir pathogène .....</b>	<b>22</b>
<b>V- Facteurs de risque.....</b>	<b>23</b>
a) Le statut sérologique du donneur et du receveur .....	23
b) Le type d'organe transplanté.....	24
c) Le degré de l'immunosuppression .....	25
d) Les épisodes de rejet de greffe.....	25
<b>VI- Manifestations cliniques.....</b>	<b>25</b>
a) Chez l'individu immunocompétent.....	26
b) Allogreffe d'organe solide .....	26
c) Allogreffe de moelle osseuse .....	29
<b>VII- Méthodes du diagnostic virologique d'une infection à CMVH .....</b>	<b>30</b>
a) Diagnostic direct : mise en évidence du virus ou de ses constituants.....	30
b) Diagnostic indirect de l'infection à CMVH.....	32
c) Diagnostic de l'infection à CMVH chez les transplantés .....	33
<b>Deuxième partie.....</b>	<b>34</b>
<b>I- Molécules antivirales.....</b>	<b>36</b>
a) Ganciclovir et valganciclovir : CYMEVAN® et ROVALCYTE® .....	38
b) Aciclovir et valaciclovir : ZOVIRAX® et ZELITREX® .....	42
c) Cidofovir : VISTIDE® .....	43
d) Acide phosphonoformique ou foscarnet (PFA) : FOSCAVIR® .....	44
<b>II- Molécules en développement .....</b>	<b>45</b>
a) Inhibiteurs de l'attachement à la membrane cellulaire .....	46
b) Inhibiteurs de la synthèse d'ADN.....	46
c) Inhibiteurs du clivage et de l'empaquetage de l'ADN viral .....	49
d) Inhibiteurs de la protéine kinase <i>UL97</i> .....	51
<b>Troisième partie.....</b>	<b>53</b>
<b>I- La prophylaxie universelle anti-CMVH.....</b>	<b>55</b>

Recommandations spécifiques pour la prophylaxie du CMVH.....	57
<b>II- La thérapie anti-CMVH préemptive .....</b>	<b>60</b>
Recommandations pour la thérapie préemptive .....	61
<b>III- Le traitement de la maladie à CMVH déclarée .....</b>	<b>61</b>
Recommandations concernant le traitement de la maladie à CMVH .....	62
<b>IV- Le CMVH résistant au GCV .....</b>	<b>63</b>
Recommandations pour le CMVH résistant au GCV .....	66
<b>Conclusion.....</b>	<b>67</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>68</b>
<b>Table des figures.....</b>	<b>75</b>
<b>Table des tableaux.....</b>	<b>77</b>

## Liste des abbréviations

CMVH : cytomégalovirus humain

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

kb : kilobase

nm : nanomètre

MCP : Major Capsid Protein

mCP : minor Capsid Protein

mCBP : minor Capsid Binding Protein

SCP : smallest capsid protein

AP : assembly protein

UL : unic long

US : unic short

TRS : Terminal Repeat Sequences

IE : immediate early

E : early

L : late

MIEP : Major Immediate Early Promoter

D+ : donneur positif

D- : donneur négatif

R+ : receveur positif

R- : receveur négatif

HHV-6 : herpès virus humain de type 6

HHV-7 : herpès virus humain de type 7

ALG : anti-lymphocyte globulin

ATG : anti-tymocyte globulin

mTOR : mammalian target of rapamycin

PCR : polymérase chain reaction

GVH : graft versus host disease

IgG : immunoglobuline G

IgM : immunoglobuline M

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

GCV : ganciclovir

VGCV : valganciclovir

ACV : aciclovir

PFA : pyrophosphate

CDV : cidofovir

## Introduction

Le cytomegalovirus humain (CMVH) appartient à la famille des Herpesviridae. C'est un virus ubiquitaire qui infecte la majorité de la population : jusqu'à 100% dans les pays en développement. En France environ 50% de la population adulte est infectée par le CMVH. La transmission se fait par contact direct de plusieurs façons : *via* les fluides corporels (sang, salive, sperme, lait urine), lors de greffe d'organe solide ou de moelle et également de la mère au fœtus ou au nouveau-né. L'infection à CMVH n'entraîne généralement aucun symptôme chez les individus ayant une réponse immunitaire normale. Le virus entame alors un processus de latence dans divers types cellulaires et demeure asymptomatique. Des épisodes de réactivation peuvent avoir lieu pendant lesquels le virus est transmissible mais ces épisodes n'entraînent généralement aucunes manifestations. En revanche, l'infection par le CMVH qu'il s'agisse d'une primo-infection ou d'une réactivation chez les individus dont le système immunitaire est affaibli (patients atteints du SIDA ou transplantés sous immunosuppresseurs) peut entraîner de nombreuses complications impliquant une grande variété d'organes et ayant un impact sur la morbidité et la mortalité de ces patients. On parle alors de maladie à CMVH lorsque des symptômes sont cliniquement visibles.

Il existe des molécules antivirales utilisées dans la prévention et le traitement des infections à cytomégalo virus. Il s'agit du Ganciclovir (CYMEVAN®) et de sa prodrogue le valganciclovir (ROVALCYTE®) ; ce sont les plus utilisées dans les centres de transplantation. L'aciclovir (ZOVIRAX®) et sa prodrogue le valaciclovir (ZELITREX®) le cidofovir (VISTIDE®) et le phosphonate (FOSCAVIR®) sont généralement utilisées en deuxième intention. Deux stratégies concernant la prévention sont communément utilisées : la prophylaxie universelle qui consiste à donner un traitement antiviral à tous les sujets à risque durant une période prédéfinie (généralement 3 à 6 mois) et la stratégie préemptive dans laquelle le patient n'est traité que quand le seuil de charge virale prédictif d'une maladie à CMVH est atteint. Ces molécules ont démontrées leur efficacité à inhiber la réplication virale et ont permis d'augmenter l'espérance de vie des personnes immunodéprimées. Ces molécules souvent utilisées en prévention sont données à long terme et présentent certaines contraintes : observance et complaisance du patient, développement de résistances virales et nombreux effets indésirables. De nombreuses recherches sont en cours dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques avec des molécules agissant sur d'autres cibles ou avec des mécanismes différents n'entraînant pas de résistance et ayant des effets indésirables réduits.

## Historique

La première description de la pathologie du CMVH date du début du XXe siècle. C'est en 1904 que Jesionek et Kiolemenoglou décrivent pour la première fois la présence de grandes cellules à inclusion intranucléaire dans les reins, les poumons, le foie ainsi que dans la parotide de fœtus et d'enfants morts-nés, caractéristique de ce qu'ils désignent alors comme « la maladie des inclusions cytomégaliqes » (Jesionek et Kiolemenoglou, 1904). L'origine virale de cette maladie est démontrée dans les années 20 par 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 (Cole et Kuttner, 1926). En 1932, Farber publiera une étude démontrant que 12% des enfants mourant de pathologies variées sans point commun apparent possèdent des inclusions cytomégaliqes dans leurs glandes salivaires. Il désigne alors ce virus comme le « virus des glandes salivaires ». Son isolement a été réalisé par la suite dans les années 50 par 4 groupes indépendants : Wyatt suggère la première technique de diagnostic qui consiste en la recherche de cellules caractéristiques de l'infection dans les urines de bébés. Technique qui sera appliquée dès 1952 par Fetterman. En 1956, Smith obtient la réplication du virus responsable de « la maladie des inclusions cytomégaliqes » dans les cellules fibroblastiques humaines cultivées *in vitro* (Smith, 1956). Rowe va alors isoler la première souche à partir de tissu adénoïdien d'un enfant normal. Cette souche sera alors désignée comme AD169 (Rowe, 1956). En 1960, Weller et al. désignent ce virus par le terme « cytomégaloVirus » en raison de la morphologie des cellules infectées (Weller et al, 1960). Par la suite, des études sérologiques démontreront que l'infection à cytomégaloVirus est largement répandue dans la population mondiale et son rôle étiologique dans les syndromes mononucléosiques est confirmé. Dans les années 60-70, le lien entre la baisse des défenses immunitaires et la réactivation du virus est démontré. Des études vont alors établir que les individus très jeunes, âgés, affaiblis ou immunodéprimés sont plus affectés par l'infection.

# **Première partie**

## **Généralités sur le cytomégalovirus**

## I- Structure du cytomégalo­virus (Mocarski et Shenk, 2007)

Le CMVH a la structure commune des herpès­virus (Figure 1). Le virion est composé d'un ADN double brin de 235-kb inclus dans une nucléocapside icosaédrique, elle-même entourée d'une couche protéique appelée le tégument. Tous ces composants sont entourés d'une enveloppe lipidique.

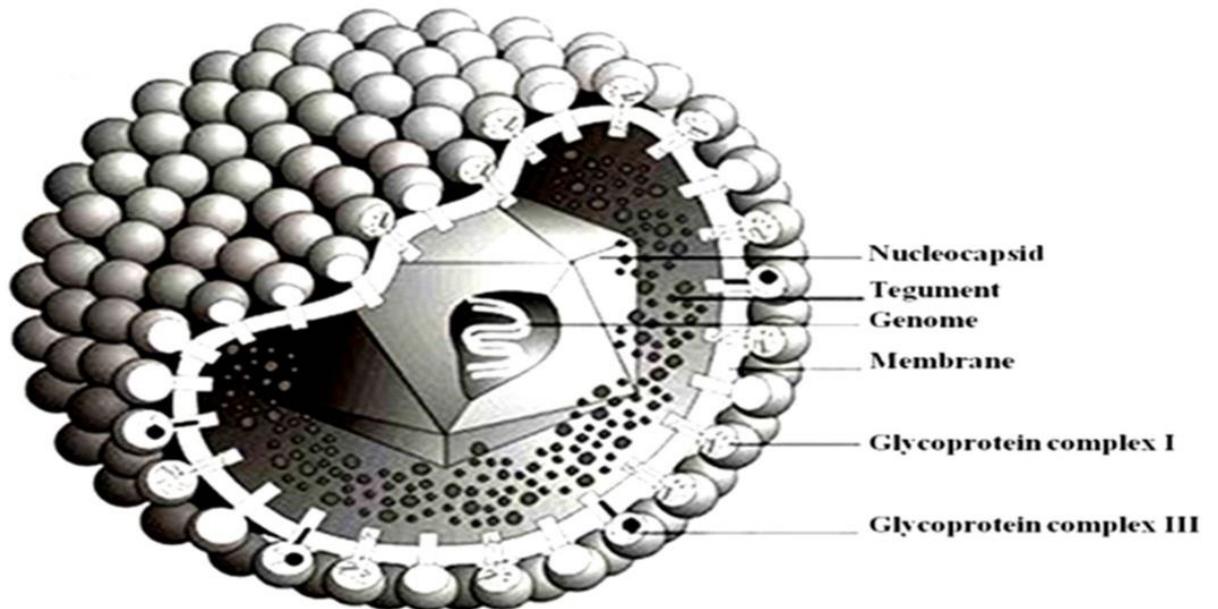


Figure 1 : représentation schématique de la structure d'un virion d'herpès­virus (d'après Gandhi et Khanna, 2004).

### a) La nucléocapside

La capside icosaédrique du CMVH, d'environ 100 nm de diamètre comporte 162 capsomères. Elle est constituée de 7 protéines :

- La protéine *UL86* : polypeptide de 1370 acides aminés, nommée MCP (Major Capsid Protein) est le constituant principal des pentamères et hexamères qui sont à la base de la structure icosaédrique de la capside.
- La protéine *UL85* constituée de 306 acides aminés, nommée mCP (Minor capsid protein) permet l'ancrage de l'ADN à la capside. Ces deux protéines sont les éléments les plus abondants de la capside.

- La protéine mineure de fixation de la capsid composée de 290 acides aminés, nommée mCBP (minor Capsid Binding Protein) codée par le gène *UL46* assure le maintien des pentamères et des hexamères.
- La petite protéine de capsid composée de 75 acides aminés, nommée SCP (Smallest Capsid Protein ou *UL48.5*) participerait à la cohésion de la capsid en tapissant les extrémités des hexamères.
- Trois protéines dérivent du peptide de 708 acides aminés codés par le gène *UL80*. La protéine *UL80* donne après trois clivages post-traductionnels des protéines assurant des fonctions distinctes mais complémentaires au sein de la capsid. La protéine *UL80.5* ou AP (Assembly protein) est constituée de la portion C-terminale d'*UL80* suite à un clivage contrôlé par la protéase assembline. L'assembline ou *UL80a* est constituée de l'extrémité N-Terminale d'*UL80* libérée par un clivage autocatalytique. Un troisième clivage permet l'inhibition de l'activité protéasique d'*UL80a*. Ce mécanisme complexe de maturation des dérivés d'*UL80* aboutit à la formation d'un constituant majeur de la capsid : la protéine AP. Cette dernière constitue une structure en anneau au sein de la capsid qui aurait un rôle dans l'étape d'encapsidation de l'ADN viral.

## b) Le tégment

La majorité des protéines du tégment sont phosphorylées d'où le préfixe pp devant celles-ci. Le tégment ou matrice est situé entre l'enveloppe et la capsid. Il est composé d'une vingtaine de phosphoprotéines, dont deux, très immunogènes semblent jouer un rôle primordial dans la régulation des gènes viraux et dans le contrôle du métabolisme cellulaire au cours de la réplication virale. Il s'agit des protéines pp150 (*UL32*) et pp65 (*UL83*). La protéine *UL83* est d'ailleurs retrouvée dans le noyau immédiatement après l'infection virale et s'associe à la matrice nucléaire durant les stades tardifs de la réplication. Elle représente à elle seule 15% de l'ensemble des protéines du tégment.

Les protéines *UL99* (pp28), *UL82* (pp71), *UL98a* et *UL97* comptent aussi parmi les protéines du tégment. La phosphoprotéine *UL82* est un transactivateur des gènes très précoces. Elle est apportée par le virion dans la cellule où elle active la réplication virale en déclenchant la transcription et la traduction en chaîne des gènes viraux. Quant à la protéine kinase *UL97*, elle semble jouer un rôle central dans l'infection à CMVH en agissant à différents niveaux, notamment dans la sortie de la capsid du noyau ou « nuclear egress » mais également dans la

phosphorylation nécessaire à l'activation du ganciclovir devenant ainsi la première cible des mutations de résistance à cette molécule.

En plus de ces protéines, le tégument comporte de nombreux ARN cellulaires et viraux (Bresnahan et Shenk, 2000). Ces ARN permettraient à certains gènes viraux d'être exprimés directement après l'entrée du virus dans la cellule et ceci avant même la transcription du génome viral.

### **c) L'enveloppe virale**

Elle est constituée d'une bicouche lipidique, dérivée du bourgeonnement des membranes internes cytoplasmiques de la cellule infectée. Elle porte des glycoprotéines virales : les plus connues sont les glycoprotéines B, H, M/N, L et 48 (respectivement notées gB, gH, gM/N, gL et gp48). Ces protéines se regroupent en complexes notés gC I à III. Elles sont relativement bien conservées chez les herpesvirus et portent pour certaines des épitopes spécifiques de souche. Les principales glycoprotéines sont gB (gpUL55) et gH (gpUL75) qui permettent la fixation spécifique du virus aux récepteurs des cellules hôtes au cours de la réplication virale. La glycoprotéine gB est très immunogène et constitue une cible majeure pour les anticorps neutralisants. Durant l'infection virale, cette protéine est la cible privilégiée des cellules CD8+ et CD4+ (Pass, 2004).

### **d) Le génome viral**

Le génome du CMVH est le plus grand des Herpesviridae. Il est divisé par des séquences répétitives en régions (Figure 2) : région unique longue (*UL*) et une région unique courte (*US*) encadrées par des séquences terminales (TRS). Les gènes (on en dénombre au moins 166) sont nommés par un préfixe désignant la région où ils sont situés et sont numérotés séquentiellement.

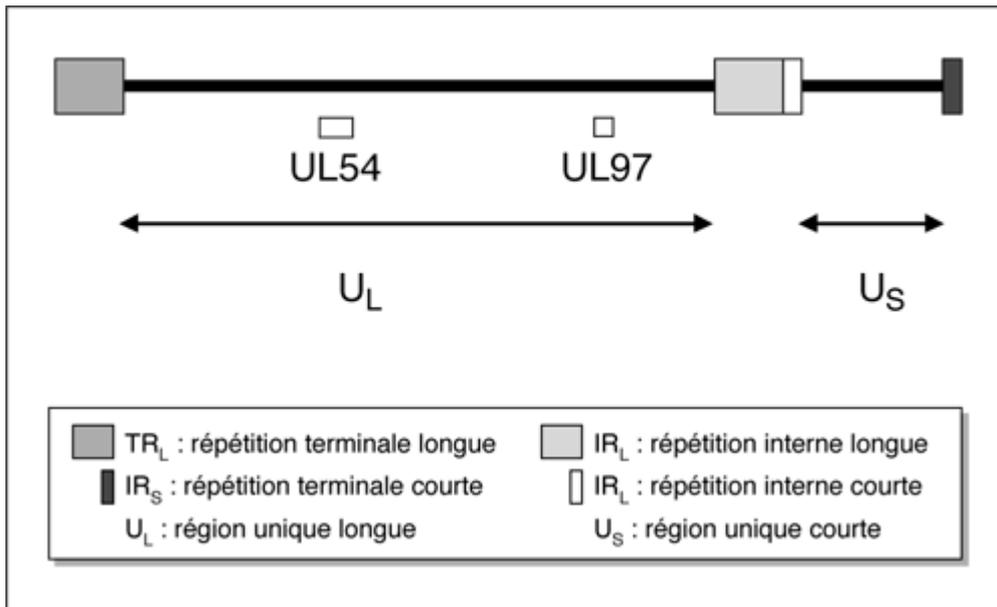


Figure 2 : Schéma du génome du CMVH (d'après Mazon, 1997)

Les gènes *UL54* et *UL97* sont les 2 principaux gènes impliqués dans les mécanismes de résistances aux antiviraux.

## II- Réplication du cytomégalovirus

### a) Tropisme cellulaire et attachement du virus à la cellule hôte

Les glycoprotéines présentes à la surface de l'enveloppe vont jouer un rôle dans la reconnaissance, l'attachement puis la fusion et l'entrée du virus dans la cellule. Une fois le virus entré dans la cellule, l'expression des gènes très précoces commence et elle va entraîner le virus dans son processus de réplication. Des protéines virales très précoces (IE : Immediate Early) vont modifier l'environnement de la cellule hôte et stimuler l'expression des gènes précoces. Les protéines précoces interviennent dans la réplication de l'ADN viral et induisent l'expression des gènes tardifs qui sont traduits en protéines tardives servant à former l'architecture de la particule virale (Sinclair et Sisson, 2006).

L'infection à CMVH est spécifique d'espèce, le réservoir est strictement humain. Le CMVH peut infecter une grande variété de cellules humaines telles que les monocytes/macrophages, les cellules endothéliales, les cellules épithéliales, les cellules

musculaires lisses, les fibroblastes, les polynucléaires neutrophiles, les hépatocytes ainsi que les neurones et astrocytes (Luo et al., 2008). *In vitro* le cycle de réplication complet n'est observé que sur les fibroblastes embryonnaires. La durée du cycle de réplication étudié dans les fibroblastes est de 96 à 120 heures.

L'interaction entre les glycoprotéines de l'enveloppe virale gB et gH et les récepteurs de membrane de la cellule hôte (Figure 3) entraîne la fusion des membranes et la libération de la capside et des protéines du tégment directement dans le cytoplasme de la cellule (A). Après la fusion certaines protéines du tégment restent dans le cytoplasme, d'autres comme les phosphoprotéines pp65 et pp71 semblent migrer indépendamment vers le noyau (C). D'autres protéines du tégment sont fortement associées à la capside et jouent un rôle dans son cheminement *via* les microtubules (MT) vers des pores nucléaires (B) à travers lesquels l'ADN viral va entrer dans le noyau (C) (Kalejta, 2008).

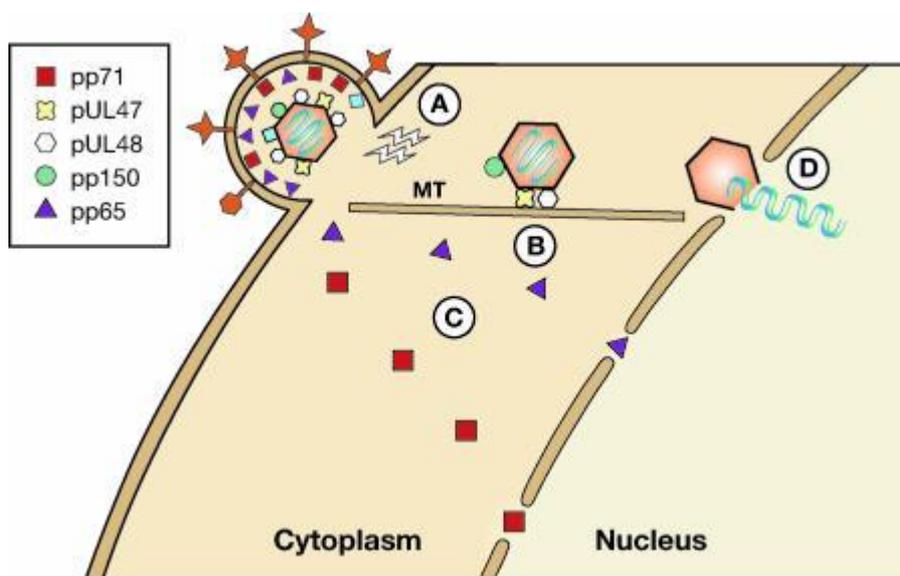


Figure 3: schéma de l'entrée du virus dans la cellule et libération de l'ADN viral dans le noyau cellulaire (d'après Kalejta, 2008).

Une fois le génome viral délivré dans le noyau cellulaire, les gènes très précoces vont être exprimés pour initier le processus de réplication du virus ou réprimés pour établir une latence. La protéine pp71 est la seule protéine du tégment à jouer un rôle dans l'activation des gènes très précoces. La transcription des gènes viraux s'effectue en 3 phases selon une chronologie bien précise : les phases IE, E et L.

## **b) Synthèse des protéines virales**

La protéine pp71 du tégument va induire l'expression en cascade des gènes viraux en 3 phases successives : une phase très précoce, précoce et tardive (Pass, 2004). La transcription des gènes viraux est assurée par l'ARN polymérase II cellulaire.

- **Phase très précoce IE (Immediate Early)**

La première phase correspond à l'expression des gènes très précoces du virus (IE1 et IE2) sous contrôle d'un promoteur très puissant : MIEP (Major Immediate Early Promoter). La transcription de ces gènes ne requiert pas de synthèse protéique. Les produits des gènes IE1 et IE2 sont des transactivateurs des gènes viraux et cellulaires. Ils régulent leur propre production et interviennent dans l'équilibre entre infection productive et infection latente. 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. Le CMVH bloque le cycle cellulaire de la cellule hôte en fin de phase G1 par inhibition de la transition vers la phase S (Salvant et al., 1998).

- **Phase précoce E (Early)**

La phase précoce correspond à l'expression des gènes précoces E. l'expression de ces gènes permet la production des protéines impliquées dans la synthèse de l'ADN viral. C'est durant cette phase que l'ADN viral se circularise.

La phosphoprotéine ppUL84 jouerait un rôle primordial dans l'initiation de la réplication de l'ADN. L'initiation de la réplication de l'ADN viral par ppUL84 permet le déroulement de l'ADN par les 3 sous-unités du complexe primase/hélicase, pUL70, pUL102 et pUL105. La phosphoprotéine de liaison à l'ADN simple brin ppUL57 permet d'éviter la réhybridation des brins d'ADN. Ainsi, la polymérase virale pUL54 et sa protéine accessoire pUL44 initient la synthèse de l'ADN viral. (Pass, 2004).

La fonction de toutes ces protéines permet la production d'ADN viral dès la fin de la phase précoce. En effet, la synthèse de l'ADN viral débute dès la 12<sup>e</sup> heure mais n'atteint son maximum qu'après 72 à 96h *in vitro* et 24 à 48h *in vivo*. Le délai postinfection nécessaire à l'obtention d'une synthèse maximale d'ADN est ainsi le plus long de tous les herpèsvirus (Stinski, 1990).

- **Phase tardive L (Late)**

La phase tardive correspond à l'expression des gènes tardifs. Les transcrits de ces gènes sont essentiellement des protéines de structure du virion. Certains gènes très précoces et précoces continuent à s'exprimer durant la phase tardive. La réplication de l'ADN viral, débutée en fin de phase précoce se prolonge durant la phase tardive. La phase tardive correspond à la maturation de l'ADN viral, à son encapsidation dans les capsides néoformées puis à la tégumentation des virions et à leur excrétion.

**c) Excrétion du virus**

Deux voies de sortie du virus sont envisagées. Dans la première, les virions enveloppés sont excrétés jusqu' au Golgi à l'intérieur de vésicules constituées par la membrane du réticulum endoplasmique puis pénètrent dans le Golgi après fusion de la vésicule avec la membrane du Golgi. Dans la deuxième voie, les virions sont désenveloppés lors de la sortie du réticulum endoplasmique puis ; subissent un transit cytoplasmique et son ré-enveloppés lors de leur entrée dans le Golgi par endocytose. Dans les deux cas, les virions sont dirigés vers la membrane cellulaire dans les vésicules constituées de la membrane golgienne et sont excrétés par exocytose environ 120 heures après l'infection en culture cellulaire (Pass 2004).

### III- Epidémiologie

Le CMVH est un virus ubiquitaire qui touche la majeure partie de la population. La primo-infection a lieu généralement dans la petite enfance par contact avec les fluides corporels comme le sang, la salive, le sperme, les sécrétion vaginales, les larmes, le lait maternel... La séroprévalence du CMVH varie géographiquement ; elle est plus élevée dans les pays en voie de développement avec un taux atteignant 100% dans certaines régions connaissant de faibles conditions socio-économiques et la surpopulation ce qui facilite les contacts rapprochés et la dissémination du virus. En France elle est d'environ 50% (Imbert, 2002).

Après l'infection, le CMVH établit une latence à vie dans divers types de cellules et garde la capacité de réactiver lors d'une diminution de l'immunité. Avant le développement des thérapies prophylactiques anti-CMVH, la maladie à CMVH intervenait généralement durant les 3 mois suivant l'intervention chez les patients ayant bénéficié d'une transplantation d'organe, avec une incidence de 50 à 70% dans le groupe donneur CMVH positif/receveur CMVH négatif (D+/R-) (Fishman et Rubin, 1998). Aujourd'hui, grâce aux antiviraux, la survenue de la maladie à CMVH a diminué mais on assiste à l'émergence d'une maladie à CMVH tardive survenant généralement chez les patients à haut risque D+/R- après l'arrêt de la prophylaxie anti-CMVH 3 à 6 mois post transplantation (Tableau I). La maladie tardive à CMVH est associée à un dysfonctionnement, voire un rejet du greffon et une mortalité (Ramanan et Razonable, 2013).

Tableau I : Incidence de la maladie à CMVH durant la première année post-transplantation hépatique. (D'après Sang-Oh Lee et al, 2010).

	Utilisation d'une prophylaxie anti-CMVH	
	Oui* (%)	Non (%)
D+/R-	12-30	44-65
D+/R+	2-7	18,2
D-/R+	3,9	7,9
D-/R-	0	0
Tous les patients	4,8	18-29

\*majorité des cas maladie à CMVH tardive

Dans la population de patients transplantés, il y a 3 modes d'infection par le CMVH). L'incidence des symptômes cliniques sera différente selon le mode d'infection. Premier cas : la primo-infection a lieu chez des patients CMVH négatif qui reçoivent un organe provenant d'un donneur CMVH positif (D+/R-). La majorité des primo-infections chez les receveurs d'organes sont dues à la transplantation d'un organe avec le virus à l'état latent provenant d'un donneur CMVH positif. Deuxième cas : il s'agit d'une réactivation de l'infection, cela se produit quand le CMVH à l'état latent réactive après la transplantation chez un receveur CMVH positif (D+/R+ ou D-/R+). Troisième cas : la surinfection ou réinfection à lieu quand un patient CMVH positif reçoit un organe provenant d'un donneur CMVH positif (D+/R+) (Sia et Patel, 2000). Les symptômes cliniques surviennent plus fréquemment lors d'une primo-infection et touchent 40 à 60 % des patients en l'absence de prophylaxie (Drouet et al, 1995).

L'incidence de l'infection à CMVH varie en fonction du type d'organe transplanté, du statut sérologique du donneur et du receveur et des stratégies préventives utilisées. En général, les receveurs de foie, pancréas, poumon, intestin et cœur ont une plus grande incidence de développer une maladie à CMVH que les receveurs de rein. Les infections symptomatiques surviennent approximativement chez 39 à 41% des receveurs de cœur/poumons, 9 à 35% des receveurs de cœur, 22 à 29% des receveurs de foie et de pancréas et 8 à 32% des receveurs de rein lorsqu'ils ne reçoivent pas de thérapie préventive (Patel et Paya, 1997).

La plupart des maladies à CMVH surviennent après l'arrêt des médicaments antiviraux d'où le terme « maladie à CMVH tardive » et touchent le plus souvent le groupe D+/R-.

#### **IV- Pouvoir pathogène (Sia et Patel, 2000)**

Après la primo-infection par le CMVH chez un individu sain le virus reste à l'état latent, une caractéristique qu'il partage avec les autres herpès virus. Le génome viral du CMVH se retrouve dans les monocytes/macrophages, les cellules endothéliales, les cellules épithéliales, les cellules musculaires lisses, les fibroblastes, les polynucléaires neutrophiles, les hépatocytes.

Beaucoup de facteurs sont susceptibles de jouer un rôle sur la virulence du CMVH mais le plus important est l'affaiblissement du système immunitaire pouvant entraîner une infection symptomatique du CMVH. Il n'y a pas de preuves que l'intensité des manifestations cliniques

soit due à des souches de CMVH plus virulentes ou à tropisme particulier pour certains tissus. Le déterminant majeur pour développer la maladie semble être lié à l'immunité de l'individu. Le facteur externe le plus important influençant la réactivation du CMVH suivant une transplantation est le type et l'intensité du traitement immunosuppresseur.

Suivant la primo-infection, chez un sujet sain, une immunité à long terme se développe et permet de contrôler les réactivations du virus contrairement à ce qui se passe chez un individu immunodéprimé après transplantation d'organe. L'échec à la fabrication de cellules spécifiques anti CMVH (lymphocytes T cytotoxiques) après une transplantation peut entraîner une maladie à CMVH. La variabilité et la sévérité des symptômes cliniques dépendent du type d'organe transplanté, du statut sérologique du donneur, du traitement immunosuppresseur utilisé.

Le risque principal au développement de symptômes dûs au CMVH dans n'importe quel type de transplantation d'organe solide est la première exposition au CMVH c'est-à-dire la primo-infection. Les infections secondaires intervenant chez les receveurs CMVH positifs restent le plus souvent asymptomatiques grâce à la mémoire immunitaire qui rapidement limite l'extension de la réplication virale. Au contraire quand la primo-infection a lieu chez un individu CMVH négatif qui n'a pas d'immunité anti CMVH préexistante, cela peut engendrer une morbidité voire une mortalité élevée. De plus, l'utilisation d'anticorps antilymphocytaires augmente le risque de survenue de maladie à CMVH.

## **V- Facteurs de risque**

Le risque de survenue de l'infection à CMVH dans les transplantations d'organes solides dépend d'un certain nombre de facteurs tels que le statut sérologique du donneur et du receveur, le type d'organe transplanté, le degré d'immunosuppression du patient et les facteurs viraux.

### **a) Le statut sérologique du donneur et du receveur**

Les patients qui n'ont pas d'immunité contre le CMVH (R-) recevant une transplantation provenant d'un donneur positif au CMVH (D+) ont un risque plus élevé de développer une maladie à CMVH (Tableau II) résultant de la réactivation du virus latent provenant de l'organe transplanté (Razonable, 2010).

Tableau II : incidence de la maladie à CMVH en fonction du statut sérologique du donneur et du receveur (d'après Limaye et al, 2006)

Risque associé	Donneur (D) ou Receveur (R) Séropositivité (+/-)
Elevé (29%)	D+/R-
Modéré* (5%)	D+/R+, D-/R+
Faible (0-1%)	D-/R-

\* le groupe D+/R+ est généralement plus à risque que le groupe D-/R+

Les statuts sérologiques du donneur et du receveur jouent un rôle dans la survenue de la maladie à CMVH. Dans une étude incluant des receveurs de foie et de rein recevant du ganciclovir en prophylaxie, l'incidence de survenue d'une maladie à CMVH un an après la transplantation était respectivement de 19,2% et 31,3% dans le groupe D+/R- alors qu'elle n'était que de 2,5% et 3,2% respectivement dans le groupe D-/R- (Harvala et al., 2013). Dans une autre étude regroupant des greffés de cœur recevant une prophylaxie universelle pendant 1 mois suivi par une thérapie préemptive, l'incidence de survenue de la maladie à CMVH à 1 an post transplantation était de 7,5% (3,6% dans le groupe à faible risque et 25% dans le groupe à haut risque). (Mendez-Eirin et al., 2012). L'incidence de la maladie à CMVH chez les receveurs de poumons bénéficiant d'une prophylaxie antivirale pendant 6 à 12 mois était de 14,9% avec une plus grande incidence dans le groupe D+/R- (26,6%) (Hammond et al., 2013).

Les patients CMVH D-/R- ont le risque le moins important de développer une maladie à CMVH. Les études actuelles suggèrent que l'incidence de développer une infection à CMVH dans ce contexte est de 1 à 2% à un an après transplantation. Ces patients peuvent cependant être infectés par les voies naturelles de transmission du virus.

#### **b) Le type d'organe transplanté**

L'incidence des infections à CMVH varie aussi en fonction de l'organe transplanté. Elle avoisine les 25% après transplantation de foie, de cœur ou de rein. Elle atteint les 40% après transplantation pulmonaire et 50% après les transplantations de pancréas (Rowshani et al., 2005). Ceci peut s'expliquer par l'intensité de l'immunosuppression et le taux de tissu lymphoïde transplanté (Gordon et al., 2011, Razonable, 2013).

### **c) Le degré de l'immunosuppression**

Les receveurs d'organes qui sont très immunodéprimés ont un plus grand risque de développer une maladie à CMVH. L'état de l'immunosuppression est un facteur primordial dans la survenue de la maladie à CMVH. Il est influencé par plusieurs paramètres comme la dose, la durée et le type d'agent immunosuppresseur, l'immunité innée et acquise du receveur, l'âge et les comorbidités sous-jacentes (Fishman, 2007). L'utilisation d'agents anti-lymphocytaires tels que l'anti-lymphocyte globulin (ALG), l'anti-thymocyte globulin (ATG), l'anticorps anti-CD3 (OKT3) ou l'anticorps anti-CD52 (alemtuzumab) inhibe la réponse immunitaire contre le CMVH. Ces produits sont associés à une augmentation de survenue de la maladie à CMVH (Razonable, 2010 ; Luan, 2013, Requiao-Moura et al., 2012), spécialement s'ils sont utilisés pour le traitement du rejet aigu de greffe (Razonable et al., 2001).

Certaines nouvelles molécules immunosuppressives présentent moins de risques de développer une infection à CMVH. En particulier, l'utilisation d'inhibiteurs du mTOR comme l'évérolimus diminue le risque de survenue d'infection à CMVH (Brennan et al., 2011).

### **d) Les épisodes de rejet de greffe**

Il existe un lien entre le CMVH et le rejet de greffe (Razonable, 2010). Le rejet de greffe crée un environnement pro-inflammatoire qui peut réactiver le CMVH, et le traitement contre le rejet de greffe diminue la réponse immunitaire pour contrôler la réplication du virus. Le rejet de greffe est fortement associé à la survenue de la maladie à CMVH tardive chez les D+/R- dans les transplantations de rein et de foie (Razonable et al., 2001).

## **VI- Manifestations cliniques**

Chez l'individu immunocompétent, l'infection à CMVH reste généralement asymptomatique. En revanche, l'infection à CMVH chez les individus immunodéprimés a des conséquences directes provoquées par la réplication du virus, sa dissémination et l'invasion des tissus au niveau des organes (Razonable, 2013 ; Humar, 2006). La maladie à CMVH est définie comme une virémie positive au CMVH accompagnée de symptômes cliniques. Ces symptômes se manifestent par un syndrome à CMVH entraînant une fièvre, un malaise et fréquemment associé à une leucopénie et une thrombocytopénie ainsi qu'une atteinte au niveau des organes

(pneumopathie interstitielle, hépatite, myocardite, péricardite, ulcérations digestives, rétinite, conjonctivite...) (Paya et al., 2004).

#### **a) Chez l'individu immunocompétent**

L'infection reste généralement asymptomatique. Cependant dans 8 à 10% des cas, le plus souvent à l'occasion d'une primo-infection, des manifestations cliniques peuvent apparaître. Chez l'adulte, la forme symptomatique la plus typique est une fièvre isolée qui dure environ 3 semaines pouvant être associée à un syndrome mononucléosique, à savoir : une augmentation du nombre de lymphocytes basophiles de grande taille accompagnée d'une adénopathie, d'une angine, d'une hépato-splénomégalie et d'éruptions cutanées. La primo-infection à CMVH peut cependant aboutir à des manifestations cliniques telles que des arthralgies et des arthrites, des colites ulcérales, des pneumopathies, des méningites ou des myocardites (Gandhi et Khanna, 2004).

#### **b) Allogreffe d'organe solide**

Selon l'immunité du receveur avant la transplantation et le degré de l'immunosuppression en post-transplantation (en particulier l'administration d'anticorps anti-lymphocytaires) et l'existence de co-infections par HHV-6 ou HHV-7, l'infection à CMVH concernant les patients transplantés cause un large éventail de manifestations cliniques allant d'une infection asymptomatique jusqu'à des formes sévères, potentiellement mortelles. Le terme infection symptomatique à CMVH et maladie à CMVH sont interchangeables et reflètent le même syndrome.

L'infection à CMVH entraîne généralement une fièvre, une anorexie et un malaise sans autres signes ou symptômes visibles. Une fièvre prolongée s'étalant sur 3 ou 4 semaines est la seule manifestation symptomatique de l'infection à CMVH. Des myalgies, arthralgies et arthrites peuvent survenir mais le syndrome mononucléosique accompagné d'une lymphoadénopathie ou splénomégalie observées généralement chez les sujets immunocompétents se retrouve rarement chez les patients transplantés. Des désordres hématologiques comme une leucopénie ou une thrombopénie sont communs. Le syndrome viral peut être limité ou s'étendre et provoquer des dysfonctions au niveau des organes.

Les manifestations cliniques de l'infection à CMVH sont relativement non spécifiques et peuvent être difficile à différencier d'autres maladies causées par d'autres pathogènes, rejet

de greffe aigu ou d'une toxicité médicamenteuse car ils peuvent tous provoquer des fièvres et entraîner des troubles organiques. Le diagnostic clinique d'une infection par le CMVH n'est donc pas fiable. Des tests en laboratoire rapides et sensibles sont essentiels pour prouver une infection à CMVH. Bien que généralement une virémie positive à CMVH soit accompagnée de symptômes cliniques, parfois l'infection est asymptomatique et peut influencer les suites post opératoires par son association avec d'autres complications infectieuses comme des infections bactériennes ou fongiques (Paya et al., 1993)

Les conséquences de la maladie à CMVH sont similaires chez tous les types de greffés bien que les atteintes au niveau des organes correspondent souvent aux organes transplantés. Ainsi le CMVH hépatique survient généralement chez les patients transplantés du foie ; le CMVH pancréatique survient chez les patients greffés du pancréas ; et le CMVH pulmonaire survient chez les receveurs ayant subi une transplantation cœur-poumons. Globalement, ceci intervient plus fréquemment chez les receveurs CMVH- recevant un organe d'un donneur CMVH+. Une forme de nécrose avec des inclusions à CMVH intraglomérulaires peut survenir chez les transplantés rénaux (Detwiler et al, 1998). De plus, le CMVH myocardique bien que rare existe chez les patients transplantés du cœur (Grossi et al., 1990) et peut entraîner des pathologies cardiaques. Plusieurs explications de ce phénomène existent : une interaction entre les effets du virus lui-même et des effets du rejet de l'allogreffe, une plus grosse charge virale initiale dans l'allogreffe.

Les receveurs séronégatifs qui font une primo-infection après administration de sang ou de produits sanguins portant du CMVH ont généralement des symptômes liés au CMVH moins graves que ceux qui sont infectés par une transplantation d'organe infecté (Petri, 1994). Les patients présentant une infection symptomatique à CMVH peuvent développer une pneumonie qui se caractérise généralement par une toux sèche non productive durant la première semaine d'apparition des symptômes (Fend, 1990). Un sous ensemble de ces patients montre une dyspnée. Bien que l'examen physique ne soit pas concluant, l'analyse des gaz du sang artériel montre une hypoxie. Une radiographie des poumons d'une pneumonie à CMVH montre une opacification totale de la paroi pulmonaire (Jensen et al., 1986). Cependant, cette opacification peut résulter d'autres pathologies telles que le rejet de la greffe et une pneumonie bactérienne ou fongique incluant le *Pneumocystis carinii*.

Une des manifestations caractéristiques de l'infection à CMVH réside en des troubles gastro-intestinaux. Le CMVH peut affecter n'importe quel segment du tractus gastro-intestinal

depuis l'œsophage, l'estomac jusqu'au petit et gros intestin. Les symptômes incluent dysphagie, nausée, vomissement, diarrhée, douleurs abdominales, hémorragie gastro-intestinale (Giladi et al., 1998). Une perforation intestinale peut survenir. Une surveillance étroite d'un CMVH gastro-intestinal est nécessaire chez tous les receveurs présentant un saignement gastro-intestinal durant les 4 premiers mois suivant la transplantation. Le CMVH entérique peut être léthal, c'est pourquoi sa détection et une intervention éventuelle doivent être réalisées rapidement. L'exploration endoscopique montre un érythème, une érosion de la paroi intestinale et des ulcérations localisées. Ces signes ne sont pas spécifiques d'une infection à CMVH, une biopsie des tissus est essentielle pour confirmer le diagnostic (Giladi et al., 1998).

Un fonctionnement anormal du foie survient chez 30 à 50% de toutes les transplantations d'organes solides présentant une infection systémique à CMVH. Chez les receveurs hépatique qui développent une infection à CMVH symptomatique, l'infection du foie est la plus commune des manifestations. Le CMVH hépatique se manifeste généralement par une élévation des gammas GT et phosphatase alcaline dont le pic est atteint 2 à 4 jours après l'élévation du taux des aminotransférases (Paya et al., 1989). La différenciation entre l'infection virale à CMVH et le rejet de greffe chez les patients transplantés du foie peut être un problème majeur, le seul moyen de confirmer le diagnostic est d'effectuer une biopsie du foie.

Une chorioretinite est considérée généralement comme non spécifique d'une infection à CMVH chez les patients transplantés contrairement aux patients sidéens. Une rétinite à CMVH dans les transplantations d'organes solides est caractéristique par le fait qu'elle se présente tardivement (généralement plus de 6 mois après la transplantation). Les patients peuvent être asymptomatiques ou peuvent présenter des hémorragies et des exsudats péri-vasculaires au niveau du fond de l'œil. Les patients souffrent d'une vision floue ou déformée, d'une réduction du champ visuel périphérique ou central. En l'absence de traitement, ces troubles visuels s'aggravent rapidement et évoluent vers des nécroses aiguës de la rétine conduisant à la cécité (Boeckh et Boivin, 1998).

D'autres signes d'infection à CMVH moins communs chez les sujets transplantés incluent des atteintes au niveau de l'uretère, de l'épididyme, de la peau, de l'endomètre et du système nerveux central (encéphalite) (Moudgil et al., 1997).

### **c) Allogreffe de moelle osseuse**

Après allogreffe de moelle ou de cellules souches hématopoïétiques, l'infection à CMVH reste une cause majeure de morbidité et de mortalité. L'instauration de traitements préventifs de l'infection (prophylaxie) ou de la maladie (traitement anticipé) réduit la fréquence et la gravité de la maladie à CMVH dans les mois suivant la greffe et retarde sa survenue après le 100<sup>ème</sup> jour (Boeckh, 1999). Si l'incidence de l'infection reste aux alentours de 60% chez les receveurs séropositifs, elle a diminué de 30 à 10% chez les receveurs séronégatifs (Razonable, 2005). Le facteur majeur de risque d'infection et de maladie à CMVH est la séropositivité vis-à-vis du CMVH du receveur avant la greffe, quel que soit le statut du donneur. Les autres facteurs sont la réaction du greffon contre l'hôte (GVH), l'intensité du déficit immunitaire, et la greffe à partir d'un donneur non apparenté. La pneumonie interstitielle est la manifestation la plus sévère et la plus spécifique. Avant l'instauration des traitements antiviraux, elle survenait chez près d'un tiers des receveurs, avec une mortalité de 85 à 95%. Actuellement, elle touche moins de 15% des patients du fait des progrès des méthodes de diagnostic précoce de l'infection à CMVH et de l'instauration systématique d'un traitement anticipé. Dans un contexte fébrile, une toux, une dyspnée associée à une hypoxémie et à des infiltrats pulmonaires doivent la faire suspecter. Les autres manifestations de l'infection à CMVH sont moins spécifiques. Elles comprennent la fièvre modérée et prolongée, le retard à la prise de greffe, avec leucopénie et thrombopénie par insuffisance médullaire secondaire, la colite ulcéreuse responsable de diarrhée ou l'hépatite cholestatique, à différencier d'une GVH, la cystite hémorragique, à distinguer d'une infection à BK virus. L'infection et la maladie à CMVH sont beaucoup moins fréquentes après autogreffe de moelle ou de cellules souches hématopoïétiques, vraisemblablement du fait d'une reconstitution immunitaire plus précoce et plus efficace (Mendes et al., 2002). Les conséquences cliniques dépendent du degré d'immunosuppression nécessitée par la greffe, et peuvent être sévères en cas d'irradiation corporelle totale. La fréquence des pneumonies est de 1-6% (Konoplev et al., 2001).

## **VII- Méthodes du diagnostic virologique d'une infection à CMVH**

Les tests en laboratoires sont indispensables dans le dépistage et le suivi de l'infection à CMVH.

### **a) Diagnostic direct : mise en évidence du virus ou de ses constituants (Leruez-Ville, 2001)**

- **Les cultures cellulaires**

La méthode traditionnelle de détection du CMVH se fait par l'intermédiaire de cultures cellulaires. Cette approche utilise des échantillons cliniques inoculés sur des cellules fibroblastiques humaines, incubées et observées sur une période allant de 2 à 21 jours. Dans une technique de culture standard, la présence du CMVH se caractérise par l'apparition de foyers de cellules qui ont perdu leur aspect normal fusiforme pour devenir arrondies : c'est l'effet cytopathique du CMVH. Cependant cette méthode est lente et requiert 3 semaines pour qu'un résultat puisse être considéré comme négatif.

Des cultures cellulaires en tubes bijoux ou en plaques sont utilisées pour diminuer le temps de détection du CMVH. Cette technique utilise des cellules fibroblastiques propagées sur des lamelles. La centrifugation de l'échantillon sur cette monocouche de cellules augmente fortement la pénétration du virus dans les cellules. Les antigènes viraux peuvent ensuite être détectés par immunofluorescence après 16 heures d'incubation.

- **L'antigénémie pp65**

Cette technique dont le principe est simple permet de détecter et de quantifier la virémie à CMV (c'est-à-dire le nombre de cellules sanguines circulantes infectées par le CMVH en phase répliquative). Le sang est recueilli dans un tube contenant un anticoagulant et, après lyse des globules rouges, les leucocytes sont déposés sur une lame. La présence du CMVH 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.

La détection de l'antigénémie pp65 est beaucoup plus sensible que la culture virale pour détecter une virémie à CMVH et a largement supplanté cette dernière. Elle a aussi l'avantage d'être semi-quantitative puisque l'on peut estimer le nombre de cellules positives pour 100 000 leucocytes déposés sur la lame. Cependant, cette technique, en théorie réalisable dans n'importe quel laboratoire équipé d'un microscope à fluorescence, reste longue et fastidieuse, à la fois pour la préparation et pour la lecture des lames. Par ailleurs, elle est peu informative en cas de leucopénie.

- **L'amplification génique (polymerase chain reaction ou PCR)**

Les techniques de biologie moléculaire sont quasiment les seules utilisées pour le diagnostic des infections à CMVH et le suivi des patients. Elles présentent en effet l'avantage, par rapport aux techniques de cultures cellulaires ou à l'antigénémie pp65, d'être réalisables de manière différée sur des prélèvements stockés congelés, et d'être rapides, sensibles et automatisables. Ces techniques peuvent être réalisées sur de nombreux prélèvements (plasma, leucocytes, urines, LCR, biopsies, liquide amniotique).

### **Les techniques de PCR qualitatives**

- Ayant pour cible l'ADN viral

Ces techniques sont d'une très grande sensibilité, en particulier lorsqu'une double PCR (PCR nichée) est utilisée. De nombreux laboratoires de virologie ont d'abord développé des PCR CMV « maison » et actuellement différentes trousse commerciales sont disponibles. L'avantage de ces techniques est leur très bonne sensibilité. Ce type de technique est un outil précieux dans tous les cas où l'on veut pouvoir détecter la présence de CMVH sans risque de faux négatif. Ces techniques détectent l'ADN du CMVH, qu'il provienne de virus en phase de réplication ou de virus en phase de latence ; ainsi ces techniques sont difficiles à interpréter pour le diagnostic des réactivations virales dans le cadre du suivi des patients immunodéprimés.

- Ayant pour cible l'ARN viral

Ces techniques qui amplifient les ARN messagers viraux permettent de détecter uniquement les virus en phase de réplication active, contrairement aux techniques précédemment décrites. Plusieurs équipes ont développé des techniques de PCR basées sur ce principe et une technique commerciale est disponible : test CMV NASBA (NucliSENS EasyQ).

### **Les techniques de PCR quantitative**

Depuis une dizaine d'année, les techniques quantitatives ont remplacé les techniques qualitatives. Elles ont aussi été développées dans chaque laboratoire, puis des kits sont apparus. Désormais, chaque laboratoire de virologie réalise ce type de technique. Elles sont basées sur la technologie TaqMan de PCR en temps réel. Elles permettent la mesure de la charge virale et le suivi chez les transplantés : le résultat est exprimé en copies/mL de sang ou en unités/mL de sang et est converti en logarithme base 10 afin de pouvoir faire aisément une comparaison entre deux échantillons. Une augmentation significative de la charge virale ( $>0,5$  log) ou une valeur d'emblée élevée est significative d'infection à CMVH ou de réactivation virale.

#### **b) Diagnostic indirect de l'infection à CMVH (Leruez-Ville, 2001)**

- **La sérologie**

La recherche d'IgG anti-CMVH est actuellement réalisée à l'aide de trousse ELISA commerciales qui utilisent des protéines recombinantes ou des peptides de synthèse. La recherche d'IgM anti-CMVH peut être réalisée par des tests ELISA avec immunocapture ; les IgM anti-CMVH ne sont présentes que dans environ 70 % des primo-infections chez le sujet immunocompétent. Les IgM anti-CMVH peuvent persister jusqu'à 16 à 20 semaines après une primo-infection ; cependant il faut rappeler qu'elles ne sont pas spécifiques de la primo-infection puisqu'elles peuvent être aussi détectées lors d'une réactivation virale à CMVH. Par ailleurs, on décrit, lors de l'utilisation de ces tests, des résultats d'IgM anti-CMVH faussement positifs liés à des réactions croisées avec les anticorps dirigés contre d'autres herpèsvirus.

La détermination de l'index d'avidité permet de faire le diagnostic de primo-infection. Elle repose sur le fait que les IgG apparaissant lors d'une primo-infection ont une faible avidité pour l'antigène. On peut mesurer l'avidité des IgG pour un antigène en comparant le titre des anticorps en présence ou non d'urée 8M ; en effet l'urée dissocie les anticorps liés à l'antigène de manière peu avide. En pratique, lors de la primo-infection à CMV, l'index d'avidité des IgG anti-CMV est bas (< 30 %), alors que, dans une infection ancienne, il est élevé (> 70 %).

### **c) Diagnostic de l'infection à CMV chez les transplantés**

La primo-infection à CMV est très fréquente et sévère chez les receveurs dont la sérologie est négative avant greffe et pour lesquels le donneur est séropositif. Chez les patients séropositifs avant greffe, la réactivation de l'infection à CMV survient dans environ 50 à 70 % des cas. L'infection à CMV survient 1 à 3 mois après la greffe et se manifeste par le syndrome à CMV qui associe une fièvre et une leucopénie à une élévation des transaminases. Sur le plan virologique, elle se manifeste par une virémie positive liée à la réplication du CMV dans l'organisme. L'infection à CMV peut se compliquer d'une maladie à cytomégalovirus avec des signes de localisation aux organes, tous les organes pouvant être concernés (poumon, foie, encéphale, rétine). La maladie à CMV est plus ou moins sévère suivant le type de greffe; elle est de très mauvais pronostic en l'absence de traitement chez les allogreffés de moelle.

L'intérêt majeur du suivi virologique des patients en postgreffe est de diagnostiquer l'infection à CMV lorsqu'elle débute afin d'instaurer un traitement dit préemptif qui permet d'éviter le développement ultérieur de la maladie à CMV. Le diagnostic virologique de l'infection à CMV va reposer sur la mise en évidence d'une réplication virale dans le compartiment sanguin. Cependant, les antiviraux efficaces sur le CMV sont myélo- et néphrotoxiques et les cliniciens sont soucieux de ne pas les utiliser en excès. Ainsi, afin de ne pas traiter inutilement des patients dont l'infection n'évoluerait pas vers une maladie à CMV, les techniques utilisées dans le cadre du suivi des greffés doivent permettre de définir un seuil au-dessus duquel le risque de développer une maladie à CMV est élevé et le traitement indispensable.

# **Deuxième partie**

## **Molécules actives sur le cytomégalovirus**

Ces dernières décennies, des progrès considérables ont été faits dans l'utilisation des thérapies antivirales pour prévenir et traiter l'infection à CMVH suivant une transplantation d'organe. Les procédures pour anticiper l'infection à CMVH ont évolué passant par l'identification des facteurs de risques, la détection rapide de l'infection à CMVH suivie d'une initiation d'une thérapie antivirale spécifique, des stratégies antivirales prophylactiques, la réduction de l'immunosuppression, la prévention et le traitement des surinfections, l'utilisation sélective d'immunoglobulines intraveineuses et la surveillance de la détection virale pour évaluer la réponse à la thérapie (Lam et Khan, 1997 ; Vogel et al., 1997).

Il existe un nombre limité de molécules thérapeutiques approuvées pour l'utilisation en pratique clinique pour lutter contre les infections à CMVH. Ces molécules ont montré une activité modérée sur le CMVH mais leur importante toxicité limite grandement leur utilisation. Quatre composés ciblent l'ADN polymérase du CMVH en inhibant la synthèse de l'ADN viral : le ganciclovir, l'aciclovir, le cidofovir et le foscarnet.

La durée optimale de la thérapie antivirale est inconnue mais elle est généralement déterminée par la réponse clinique et l'élimination du CMVH. Dans des études chez des receveurs de greffe de moelle, un résultat négatif d'un test PCR dans le sang et dans l'urine est un meilleur marqueur de l'efficacité du traitement antiviral que la réponse clinique au traitement ou les cultures de sang négatives (Einsele et al., 1991). Chez les receveurs de transplantation d'organes solides, une approche similaire pourrait indiquer quand le ganciclovir peut être arrêté (Toyoda et al., 1997 ; Van der Meer et al., 1996).

## I- Molécules antivirales

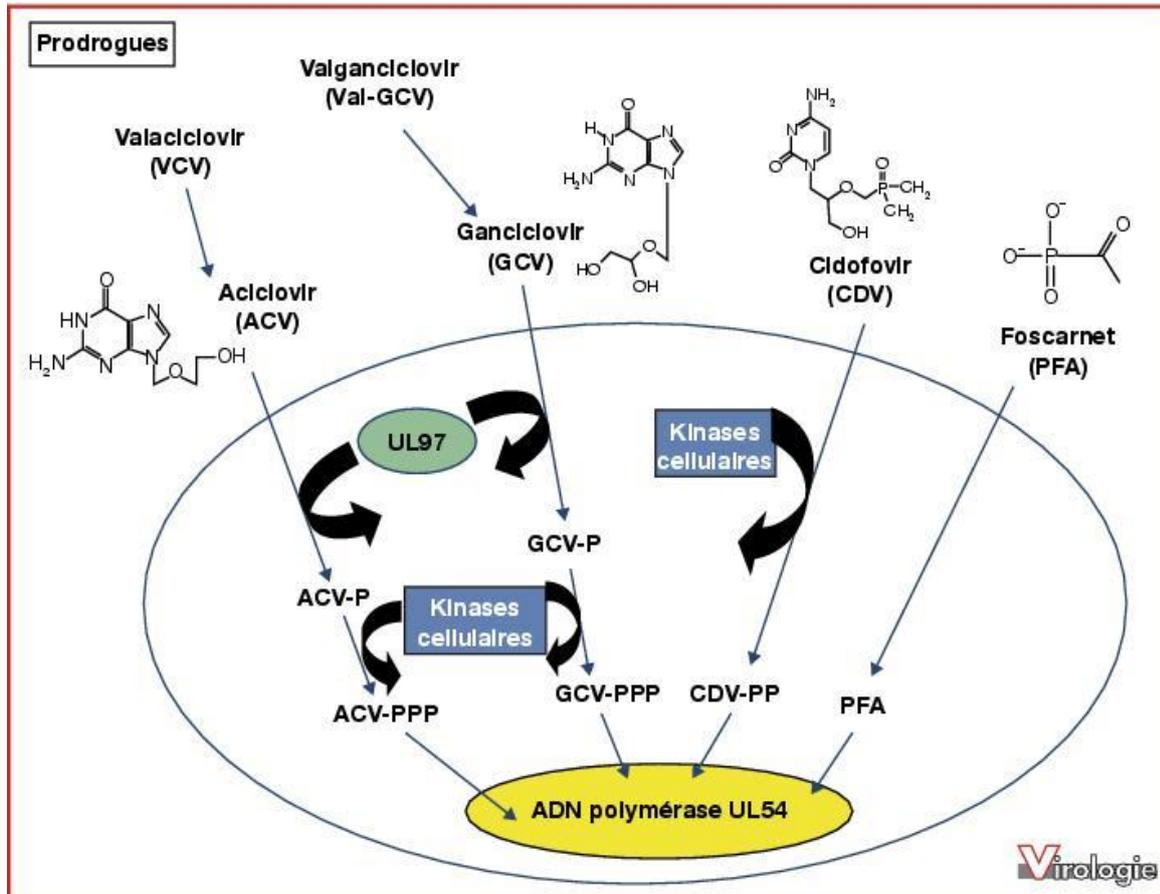


Figure 4 : mécanisme d'action des antiviraux anti-CMVH (d'après Alain et al, 2009)

Le ganciclovir (GCV) commercialisé depuis 1985, cidofovir (CDV) depuis 1997, l'aciclovir (ACV) et le phosphonate (PFA) commercialisé depuis 1987, toutes ces molécules ont pour cible l'ADN polymérase virale UL54 (Figure 4). Les analogues de base, le ganciclovir, l'aciclovir et le cidofovir, sont des inhibiteurs compétitifs de l'incorporation des désoxynucléotides triphosphates et se fixent au niveau du site d'incorporation. Ils sont actifs sous forme triphosphate. Le ganciclovir, comme l'aciclovir, dépend pour son activation, d'une première phosphorylation par la phosphotransférase virale UL97. Les phosphorylations ultérieures sont prises en charge par des enzymes cellulaires. Les mutations de la phosphotransférase *UL97* représentent donc la première ligne de résistance à ces molécules. Le cidofovir, est un analogue nucléotidique monophosphaté, ne dépendant pas d'*UL97* pour son activité. Le foscarnet, analogue de pyrophosphate inhibe directement la polymérase en bloquant la libération des molécules de pyrophosphate. La résistance de première ligne à ces

deux molécules est donc portée par la polymérase. Les mutations de la polymérase peuvent ainsi, selon leur localisation, conférer une résistance au ganciclovir et à l'aciclovir, le plus souvent croisée avec la résistance au cidofovir, ou au foscarnet. L'association de plusieurs mutations peut conférer une résistance à tous les antiviraux disponibles. Le valaciclovir et le valganciclovir, prodrogues de l'aciclovir et du ganciclovir, suivent le même mécanisme d'action après libération de la molécule de valyl-ester.

Tableau III : Molécules de première intention et alternatives actives sur le CMVH (d'après Ramanan et Razonable, 2013)

Molécules de première intention	Prophylaxie antivirale	Traitement	Effets indésirables/remarques
Valganciclovir	900mg per os 1x/ jour	900mg per os 2x/j	Leucopénie
Ganciclovir IV	5mg/kg 1x/jour	5mg/kg 2x/j	Leucopénie
Valaciclovir	2g per os 4x/j	Non recommandé	Indiqué uniquement en transplantation rénale  Toxicité neurologique
Molécules alternatives	Prophylaxie antivirale	Traitement	Effets indésirables/remarques
Ganciclovir oral	1g per os 3x/jour	Non recommandé	Leucopénie, gros comprimé  Induction de résistances
Foscarnet	Non recommandé	60mg/kg IV toutes les 8h ou 90mg/kg toutes les 12h	Utilisé pour les souches de CMVH à haut niveau de résistance  Néphrotoxique
Cidofovir	Non recommandé	5mg/kg 1x/semaine pendant 2 semaines puis 5mg/kg toutes les 2 semaines	Utilisé en cas de CMVH résistant au GCV  Néphrotoxique

a) **Ganciclovir et valganciclovir : CYMEVAN® et ROVALCYTE®** (D'après les RCP 2011)

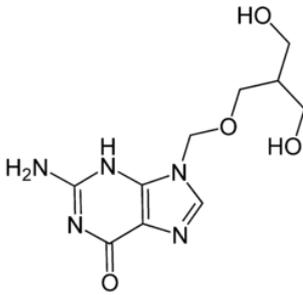


Figure 5 : Formule chimique du ganciclovir

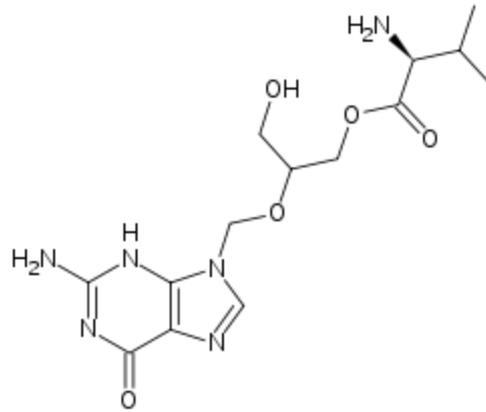


Figure 6 : Formule chimique du valganciclovir

L'utilisation du ganciclovir (GCV) ou 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxyméthyl)-guanine (Figure 5) est fréquente et se pratique depuis le début des années 1980. Cette molécule fut la première à être homologuée dans le traitement des infections à CMV et reste à ce jour la plus couramment utilisée. Le GCV n'est utilisé que par voie injectable car sa biodisponibilité par voie orale n'excède pas 10%, ceci a été compensé par le développement d'une prodrogue du GCV : le valganciclovir (VGCV) dont la biodisponibilité par voie orale est d'environ 60%(Figure 6).

- **Formes thérapeutiques**

Les spécialités en France du GCV et du VGCV sont le Cymevan® et le Rovalcyte®, elles sont commercialisées par les laboratoires Roche®. Le GCV se présente sous la forme d'un lyophilisat pour usage parentéral à 500mg (soit 546mg sous forme de sel sodique) réservé aux hôpitaux et collectivités (liste I) et le VGCV sous forme de comprimés pelliculés roses ovales et convexes à 450mg soit 496,3 mg sous forme chlorhydrate disponibles en ville (liste I) avec une biodisponibilité d'environ 60%, ce qui garantit une observance meilleure que pour les autres traitements.

- **Indication en transplantation**

- Traitement des atteintes viscérales suivantes chez les greffés de moelle osseuse et les transplantés d'organes : pneumonies, colites et autres atteintes du tube digestif, rétinites.
- Traitement précoce exclusivement chez les greffés de moelle osseuse allogénique : l'institution du traitement doit être envisagée dès la mise en évidence d'une excrétion virale de CMVH (virémie, isolement du virus dans le lavage broncho-alvéolaire), car ces facteurs sont prédictifs de la survenue d'une localisation pulmonaire grave.
- Traitement prophylactique après greffe d'organe à risque accru d'infection symptomatique à CMVH en raison d'un traitement immuno-suppresseur lourd, si le receveur est pré-immunisé vis-à-vis du CMVH (présence d'anticorps anti-CMVH dans le sérum avant la greffe) particulièrement en transplantation cardiaque.

- **Pharmacodynamie :**

Le GCV a pour cible l'ADN polymérase du CMV. Il doit être sous sa forme triphosphate pour être actif. La première phosphorylation est réalisée par une kinase d'origine virale : la phosphoprotéine pUL97 ce qui permet au GCV de ne cibler que les cellules infectées (Sullivan et al., 1992). Les deuxième et troisième phosphorylations sont faites par des kinases cellulaires. Le GCV triphosphate inhibe la synthèse de l'ADN viral en s'incorporant de façon compétitive à l'ADN polymérase virale lors de la synthèse de l'ADN aboutissant à l'arrêt de cette synthèse. *In vitro*, le GCV est 10 fois plus efficace que l'aciclovir contre le CMVH (Chou et al., 1997).

- **Pharmacocinétique :**

La liaison du GCV sur les protéines plasmatiques est d'environ 2% aux concentrations thérapeutiques. Le volume de distribution du GCV à l'état d'équilibre est de 0,680L/kg +/- 0,161 (n=114). Chez un sujet à fonction rénale normale CMV+ les paramètres pharmacocinétiques sont les suivants:

- Le GCV à 5mg/kg IV donne une aire sous la courbe (ASC) 0-12h de 28,6 +/-9 µg x h/mL et une Cmax de 10,4 +/-4,9 µg/mL.
- Le VGCV à 900mg p.o. donne des ASC 0-12h de 32,8 +/-10,1 µg x h/mL pour le GCV et de 0,37 +/-0,22 µg x h/mL pour le VGCV et des Cmax de 6,7 +/-2,1µg/mL pour le GCV et de 0,18 µg/mL pour le VGCV.

L'activité antivirale mesurée *in vitro* donne une CI50 comprise entre 0,08µM et 14µM.

Le GCV n'est pas métabolisé, il est éliminé par voie rénale, par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire active. La clairance rénale représente ainsi 81,5% +/-22 (n=70) de la clairance systémique du GCV. La demi-vie du GCV est de 4,1h +/-0,9 chez les patients CMVH +. Les posologies sont à adapter en fonction de l'état rénal du patient ; elles sont regroupées dans le tableau IV :

Tableau IV : posologie conseillée du ganciclovir (GCV) et du Valganciclovir (VGCV) selon l'état rénal.

Clairance de la créatinine (mL/min)	Dose de GCV (mg/kg)	Intervalle entre les doses (heures)	Posologie du VGCV (traitement d'attaque)	Posologie du VGCV (traitement d'entretien ou prophylaxie)
≥50	5	12	900 mg x 2/j	900 mg/j
40 to 59	2.5	12	450 mg x 2/j	450 mg/j
25 to 39	2.5	12	450 mg/j	450 mg/2j
10 to 24	2,5	24	450 mg/2j	450 mg x 2/semaine
<10	1.25	24	Non recommandé	Non recommandé

#### - Contre-indications

Leur utilisation est évidemment contre indiquée chez les patients présentant une hypersensibilité au GCV ou VGCV. Des risques d'hypersensibilité croisée avec l'aciclovir peuvent être observés. Du fait de l'absence d'études spécifiques, ces médicaments sont contre-indiqués chez la femme enceinte ou allaitante.

- **Effets indésirables**

Les effets indésirables les plus fréquents (survenant chez plus d'un patient sur 10) sont: une neutropénie, une anémie, une dyspnée, une diarrhée, ce qui impose une surveillance importante surtout en début de traitement.

Les effets indésirables fréquents (1/100-1/10 des patients) sont parmi les plus spécifiques: survenue d'une candidose buccale, de sepsis, d'une thrombopénie, d'une leucopénie, d'une anorexie, d'une dépression, de confusion, d'une dysgueusie, d'hypo ou par-esthésies, d'œdème maculaire, de décollement de la rétine, de douleur auriculaire, de dermite, de sueurs nocturnes, de prurit, de myalgies, de convulsions, de diminution de la clairance de la créatinine, d'une altération de la fonction rénale. D'autres effets indésirables sont moins spécifiques: céphalée, insomnie, anxiété, toux, nausées, vomissements, douleurs abdominales, dyspepsie, constipation, troubles de la fonction hépatique et augmentation des ASAT, arthralgies, crampes, fatigue, fièvre, raideurs, douleurs, asthénie, perte de poids.

Un surdosage peut entraîner une myélosuppression sévère jusqu'à l'aplasie médullaire (après plusieurs jours à une dose au moins 10x supérieure à celle recommandée) ainsi qu'une toxicité rénale accrue. On peut limiter cette toxicité par la mise en place rapide d'hémodialyse et d'hydratation.

- **Interactions médicamenteuses**

Il existe quelques interactions médicamenteuses connues, avec certains antirétroviraux: avec la zidovudine on observe une augmentation de l'ASC de celle-ci et une capacité commune à augmenter le risque d'anémie et de neutropénie et avec la didanosine une augmentation de ses concentrations plasmatiques et de sa toxicité.

Avec le mycophénolate mofétil (MMF) la compétition au niveau de la sécrétion tubulaire rénale peut conduire à une augmentation des formes glucuroconjuguées de l'acide mycophénolique, sans impact sur la pharmacocinétique de l'acide mycophénolique. Les pouvoirs communs neutropéniant et leucopéniant des deux molécules est en revanche à prendre en compte (interaction pharmacodynamique).

Avec le triméthoprime aucune interaction pharmacocinétique significative n'a été observée, une augmentation potentielle de la toxicité notamment au niveau des lignées sanguines doit cependant être attendue.

**b) Aciclovir et valaciclovir : ZOVIRAX® et ZELITREX®**

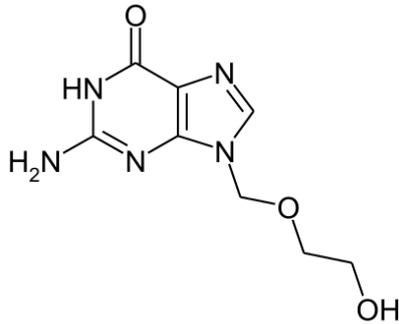


Figure 8 : Formule chimique de l'aciclovir

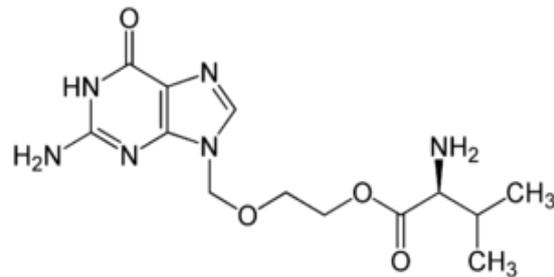


Figure 7 : Formule chimique du valaciclovir

L'aciclovir ou 9-(3-hydroxy-2-propoxyméthyl)-guanine (Figure 7) est un analogue de la désoxyguanosine comme le GCV dont il est très proche structurellement. Même si ces deux composés ont un mode d'action très proche, l'efficacité de l'aciclovir sur l'inhibition de la réplication du CMVH est moindre et cette molécule n'est plus utilisée dans le traitement prophylactique des infections à CMVH chez les sujets transplantés. L'aciclovir est un inhibiteur compétitif, spécifique et irréversible de l'ADN polymérase virale. Il bloque définitivement le site catalytique des polymérases auxquelles il se fixe, empêchant l'élongation de l'ADN viral. Comme le GCV, l'aciclovir subit une première phosphorylation par la kinase virale *UL97* puis il est phosphorylé deux fois par les kinases cellulaires et devient actif sous cette forme tri-phosphorylée.

Le valaciclovir : prodrogue de l'aciclovir (Figure 8) a une biodisponibilité par voie orale de 54%. Elle est 3 à 4 fois supérieure à celle de l'aciclovir. Le valaciclovir est utilisé en prévention de la maladie à CMVH en transplantation rénale. La demi-vie plasmatique de ces 2 composés est de 2 à 3 heures et leur élimination est rénale.

Le valaciclovir est généralement bien toléré, quelques effets indésirables rares peuvent survenir tels que des néphropathies réversibles et des troubles digestifs ou neurologiques.

c) **Cidofovir : VISTIDE®**

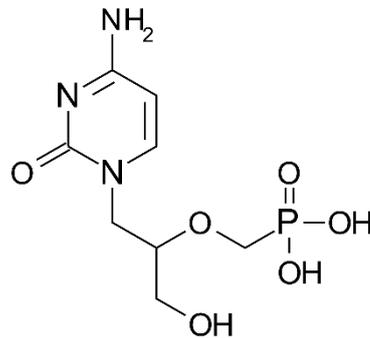


Figure 9: Formule chimique du cidofovir

Pour acquérir son activité d'inhibition compétitive de l'ADN polymérase et empêcher la réplication de l'ADN viral, Le cidofovir ou 1-(3-hydroxy-2-phosphonylméthoxypropyl)-cytosine (Figure 9) doit être di-phosphorylé (Lea et Bryson, 1996). Ces phosphorylations n'impliquent que des kinases cellulaires et ne nécessitent donc pas l'intervention de la phosphoprotéine virale pUL97 (Cihlar and Chen 1996 ; Mazon 1997). Le cidofovir a un spectre d'action large : il inhibe l'ADN polymérase des herpèsvirus, des adénovirus et des poxvirus.

Le cidofovir est administré uniquement par voie intraveineuse. Sa prodrogue administrée par voie orale, le CMX001 est en cours de développement. Elle augmenterait la biodisponibilité et l'efficacité du produit de base (Lanier et al., 2010). La demi-vie du CDV est longue variant de 17 à 65 jours selon les études et les sujets ce qui permet d'espacer les administrations. L'indication majeure du CDV est le traitement de la rétinite chez les patients infectés par le VIH mais il est également utilisé chez les patients infectés par le CMVH présentant une résistance au GCV (Cherrington et al., 1998).

L'administration du cidofovir présente de nombreux effets indésirables notamment des troubles rénaux comme une protéinurie, une hypercréatinémie et des troubles digestifs tels que des nausées et vomissement. D'autres effets ont été décrits : fièvre, asthénie, alopecie, uvéite, rash cutané, diminution de la pression intraoculaire et des neuropathies périphériques (Gandhi and Khanna, 2004).

**d) Acide phosphonoformique ou foscarnet (PFA) : FOSCAVIR®**

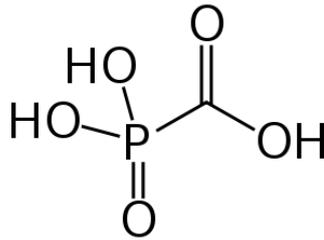


Figure 10: Formule chimique du pyrophosphate

Le foscarnet peut aussi être efficace contre l'infection par le CMVH. C'est un analogue du pyrophosphate inorganique (Figure 10). C'est un inhibiteur compétitif sélectif et réversible de l'ADN polymérase virale. Il empêche le clivage des désoxyribonucléosides triphosphates en désoxyribonucléosides diphosphate et en pyrophosphates inorganiques. Contrairement au GCV, le foscarnet ne nécessite pas l'intervention de la protéine kinase *UL97*, il est donc actif même en cas de mutation de cette kinase virale (Jabs et al., 1998).

Le foscarnet a un spectre d'action très large puisqu'il reconnaît l'ADN polymérase de tous les herpèsvirus. Sa demi-vie plasmatique varie entre 2,4 et 6 heures (Chrisp et Clissold 1991)

Le foscarnet peut être utilisé pour le traitement des rétinites à CMVH des patients infectés par le HIV si le GCV ou le CDV sont inefficaces (Chrisp et Clissold, 1991). Il est également utilisé dans le traitement de l'infection à CMVH chez les patients immunodéprimés, notamment en cas d'intolérance ou de résistance au ganciclovir mais sa toxicité limite son utilisation (Kotton et al., 2010 ; Humar et Snyderman, 2009).

La néphrotoxicité est l'effet indésirable le plus rencontré affectant 30 % des patients. Elle est causée par l'accumulation de dépôts de cristaux de foscarnet dans la lumière des capillaires des glomérules (Jacobson et al., 1993.). Le foscarnet peut aussi provoquer une myélosuppression ainsi qu'une anémie. Des troubles électrolytiques peuvent survenir comme une hypokaliémie, une hypomagnésémie et une hypophosphatasémie pouvant se manifester par des paresthésies, des dysrythmies cardiaques ou encore des symptômes neurologiques (Lor et Liu., 1994). Les patients doivent être bien hydratés pour diminuer la néphrotoxicité et les troubles électrolytiques doivent être corrigés pour éviter les complications.

## II- Molécules en développement (Prichard et Kern, 2011)

L'activité modérée des molécules utilisées ainsi que la limite imposée à leur dosage en raison de leur importante toxicité limite grandement leur utilisation, qui de plus s'accompagne souvent d'apparition de résistance du virus. Il existe un grand besoin de nouvelles molécules associant une forte activité antivirale à une faible toxicité afin d'améliorer la réponse au traitement. La recherche a permis de mettre en évidence un certain nombre d'inhibiteurs avec des activités supérieures à celles des molécules déjà utilisées mais aucune n'a montré une réelle activité clinique. Certaines en cours d'essais cliniques sont détaillées ci dessous.

Le cycle de réplication du CMVH est complexe et offre de nombreuses cibles potentielles pour la découverte de nouveaux traitements. La recherche de nouveaux inhibiteurs a permis de découvrir de nouvelles cibles et a grandement amélioré la compréhension de la biologie de ce virus. Ces composés seront présentés selon l'étape où ils agissent dans le cycle de réplication du CMVH.

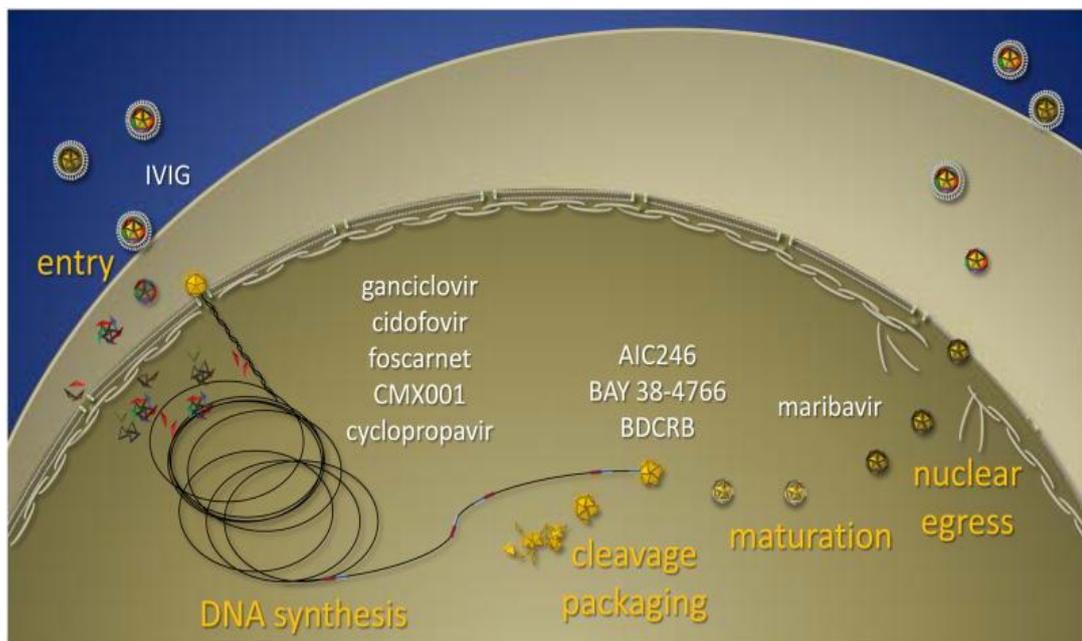


Figure 11: Sites d'action des antiviraux dans le cycle de réplication du CMVH (d'après Pritchard et Kern, 2011)

### a) Inhibiteurs de l'attachement à la membrane cellulaire

La réplication du CMVH commence avec l'attachement du virus à la surface de la cellule par les glycoprotéines virales résultant de la pénétration de la nucléocapside dans le cytoplasme de la cellule hôte. Les préparations d'immunoglobulines intraveineuses (IVGI) ont montré leur capacité à neutraliser le CMVH et pourraient théoriquement interférer sur la liaison du virus sur l'enveloppe cellulaire. Cependant leur efficacité en transplantation semble négligeable et trop peu étudiée pour en tirer des conclusions. D'autres thérapies ont été développées agissant sur la glycoprotéine B (gB), une protéine membranaire abondante essentielle à l'infectiosité du virus grâce à des interactions avec les molécules d'héparanes sulfates. Des inhibiteurs de fusion ont été développés utilisant des oligomères de  $\beta$ -amino acide mimant les unités de gB. Une petite molécule inhibitrice de fusion, le CFI02, a également été identifiée. Elle bloque la fusion membranaire et empêche la dissémination du virus de cellule à cellule. Le développement de tous ces inhibiteurs de fusion nécessite le passage aux essais cliniques car les tests sur animaux ne permettent pas d'évaluer cette approche.

### b) Inhibiteurs de la synthèse d'ADN

La synthèse de l'ADN est l'étape suivante de la réplication virale. Les composés actuellement utilisés en clinique sont dirigés contre l'ADN polymérase : il s'agit du GCV, CDV, ACV et PFA. Une autre classe, les nucléosides phosphonates acycliques, présente de nouveaux composés très efficaces contre le CMVH. L'efficacité de ces analogues nucléosidiques peut également être augmentée par la fabrication de prodrogues qui sont des esters alkoxyalkyl améliorant fortement la pharmacocinétique et la biodisponibilité orale.

- CDV, CMX001 et autres analogues de nucléosides phosphonate.

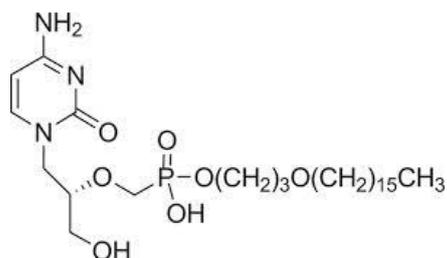


Figure 12 : Formule chimique du CMX001

Le cidofovir a une plus grande activité anti CMVH *in vitro* que tous les autres composés approuvés pour le traitement de l'infection à CMVH (Kern et al., 2001). Cependant sa faible biodisponibilité et son importante néphrotoxicité limitent son utilisation. La synthèse et l'utilisation d'alkylglycérol phosphate ou d'ester d'alkylpropyl phosphate d'ACV ou de GCV ont démontré par le passé l'augmentation de l'activité antivirale quand ils sont administrés par voie orale à des modèles animaux d'infection à HSV, à CMV ou à des modèles d'infection hépatique (Hostetler, 2009). Une approche similaire a donc été utilisée afin d'améliorer la biodisponibilité orale du CDV et d'une série d'esters lipidiques d'éthers du CDV notamment l'hexadecyclopropyl CDV (HDP-CDV connu aujourd'hui sous le nom de CMX001) et octodécycloéthyl CDV (ODE-CDV). Ces molécules ont démontré *in vitro* une augmentation de l'activité contre les herpes virus humains incluant le CMVH. Il a été également reporté que certains de ces analogues, notamment le CMX001 seraient 1000 fois plus actifs *in vitro* que le CDV contre le CMV humain et le MCMV (murine CMV : CMV de la souris) (Wan et al., 2005). Ces analogues gardent leur activité contre les isolats cliniques résistants de CMVH présentant des mutations sur les gènes *UL97* et *UL54* et restent actifs sur les souches de CMVH résistantes au GCV.

En raison d'une spécificité d'hôte très étroite du CMV, il n'existe pas de modèle animal qui simule avec précision l'infection à CMVH. Les virus des rongeurs, le CMV de souris, de rat et de cochon de guinée ont été utilisés pour évaluation préclinique de thérapies potentielles anti-CMV (Bravo et al., 2006 ; Kern et al., 2004). Dans les modèles de MCMV, le CDV et ses analogues alkoxyalkyl ont une meilleure activité antivirale que le GVC (Le CDV et les analogues phosphonates ont montré une bonne activité contre le CMVH chez les souris implantées avec des tissus humains infectés par le CMVH (Bidanset et al., 2004 ; Kern et al., 2001).

Dans les expérimentations reportées précédemment, l'efficacité du CMX001 et du ODE-CDV donnés oralement furent comparées au CDV donné par voie parentérale pour leur habilité à réduire la mortalité et la réplication du virus au sein d'organes de souris infectées par le MCMV (Kern et al ; 2004). Le CDV a une demi-vie intracellulaire longue, il reste efficace chez la souris lorsqu'il est administré une à trois fois par semaine au lieu de une ou deux fois par jour (Quenelle et al., 2003). Il a été déterminé que les esters lipidiques d'éthers comme le CMX001 étaient également efficaces en réduisant la mortalité chez les souris quand ils sont administrés une fois par jour, deux fois par semaine ou à dose unique (Kern et al., 2004).

D'autres études *in vivo* pour évaluer le CMX001 ont confirmé que ce composé était efficace lorsqu'il était administré oralement contre le MCMV (Kern et al., 2004), le CMV (Bidanset et al., 2004), les orthopoxvirus et les adénovirus (Toth et al., 2008).

Les tests *in vitro* et *in vivo* dans les modèles animaux concernant la pharmacocinétique, le métabolisme et la toxicité ont fait du CMX001 un candidat pour les essais cliniques (Painter et Hostetler, 2004). Le CMX001 a passé avec succès la phase I de ces essais. Ce composé a prouvé sa bonne tolérance et a montré dans les études précédentes une réduction significative de l'accumulation du composé dans le rein et donc une réduction de la néphrotoxicité souvent observée avec le produit de base, le CDV (Quenelle et al., 2010). Le CMX 001 est actuellement évalué en phase II des essais cliniques pour le traitement de l'infection à CMVH.

- Cyclopropavir et autres analogues du méthylencyclopropane

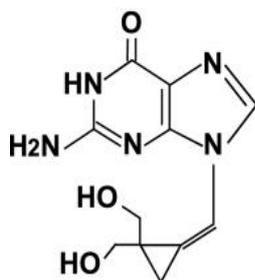


Figure 13: Formule chimique du cyclopropavir

Les analogues du méthylencyclopropane représentent une classe assez récente dont les molécules ont démontré leur activité antivirale. La première génération de ces analogues était essentiellement des analogues de l'aciclovir où le groupement C-O-C était remplacé par un groupement méthylencyclopropane. La deuxième génération des analogues du méthylencyclopropane ressemble plus à la structure du GCV. Il a été reporté précédemment que les analogues de première génération du méthylencyclopropane exerçaient une activité antivirale contre certains membres de la famille des herpès-virus (Chen et al., 2003). Ces analogues ont une forte activité antivirale contre le CMVH, le MCMV, le CMV du rat et du

cochon de guinée (Rybak et al., 2000), l' HHV-6 et l'HHV-8 humain (Kushner et al., 2003). Certains de ces composés ont réduits significativement la mortalité et la réplication virale lors des tests sur animaux (Kern et al., 2004). Plus récemment une seconde génération d'analogues du méthylencyclopropane, les dérivé 2, 2-bis-hydroxyméthyl furent synthétisés. Un composé de cette série, le ZSM-I-62 connu désormais sous le nom de cyclopropavir (CPV) (Figure 13) a démontré son efficacité en diminuant la mortalité chez les souris infectées par le MCMV et en réduisant la réplication virale dans les organes de souris infectés par le MCMV et dans les organes humains infectés, implantés chez la souris (Kern et al., 2004). Ce composé : le cyclopropavir a été évalué concernant son activité contre tous les herpès-virus humains et a démontré son activité *in vitro* contre le CMVH, l' HHV-6 et l' HHV-8 (Kern et al., 2005). Dans l'infection à CMVH, ce composé nécessite l'implication de la protéine kinase virale UL97 pour exercer son activité mais reste actif contre la plupart des isolats résistants au GCV. D'autres études plus poussées indiquent que des analogues phosphonates du cyclopropavir ont aussi une activité antivirale contre le CMVH et gardent leur activité contre les isolats résistants au GCV avec des mutations sur la kinase *UL97*. Les esters de valine de CPV semblent aussi avoir des paramètres pharmacocinétiques optimisés en comparaison de la molécule d'origine. La molécule la plus prometteuse des analogues du méthylcyclopropane est le cyclopropavir, il est fortement efficace contre le CMVH *in vivo* et *in vitro* et sera bientôt évalué dans des essais cliniques en phase I.

### c) Inhibiteurs du clivage et de l'empaquetage de l'ADN viral

Une quantité considérable d'ADN viral est synthétisée durant la réplication du virus, pourtant une faible proportion est empaquetée pour former les virions matures. L'ADN synthétisé est sous forme de concatémères et nécessite des processus de clivage pour qu'une unité de génome viral soit incorporée à l'intérieur de la capsid. Des terminases, les protéines virales *UL89*, *UL56* et *UL104* vont intervenir dans ces processus de clivage et d'empaquetage de l'ADN. Ce sont ces protéines qui vont être la cible de nouvelles molécules dont 3 en particulier semblent très prometteuses : il s'agit du maribavir, de l'AIC246 et du BDCRB.

- Les dérivés benzimidazolés

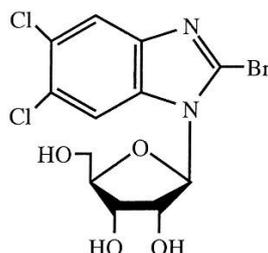


Figure 14: Formule chimique du BDCRB

Les analogues benzimidazolés halogénés furent les premières molécules à être identifiées bloquant le clivage et l’empaquetage du génome viral. Elles ont montré une capacité à empêcher la formation de monomères du génome viral dans les cellules infectées. Le premier composé identifié fut le 1H-β-D-ribofuranosyl-2-bromo-5,6-dichlorobenzimidazole ou (BDCRB) (Figure 14). Il présente une très bonne activité inhibitrice sur la réplication virale à la fois *in vitro* et *in vivo* (Kern et al., 2004). Dans les cellules infectées, traitées par le BDCRB, l’empaquetage de l’ADN est initié mais les signaux de clivage ne sont pas reconnus. Bien que cette molécule soit un analogue nucléosidique, elle ne nécessite pas de phosphorylation pour exercer son activité et agit sur les terminases virales. La dégradation rapide de cette molécule par la 8-oxoguanine ADN glycosylase et par la N-méthylpurine ADN glycosylase a engendré l’arrêt des études, mais un analogue plus stable ayant un mécanisme d’action similaire: le GW275175X fut synthétisé. Il montre une bonne activité contre le CMVH (Kern et al., 2004 ; William et al., 2003). Dans cette classe le GW275175X semble être le meilleur candidat pour des études approfondies, néanmoins aucun essai clinique n’est pour le moment envisagé.

- BAY 38-4766

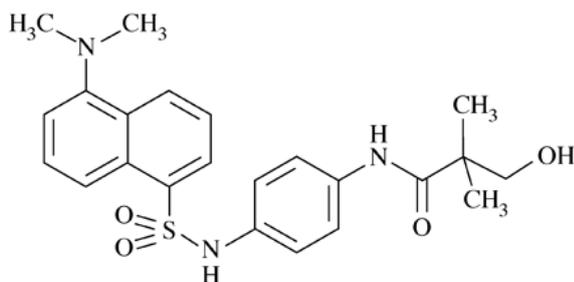


Figure 15 : Formule chimique du BAY 38-4766

Une seconde série de composés inhibant l’empaquetage de l’ADN du CMVH fut identifié avec pour chef de file le BAY 38-4766. L’activité de cette molécule (Figure 15) est meilleure que celle du BDCRB et montre une bonne activité antivirale chez les souris infectées par le MCMV. Le BAY 38-4766 possède également de bons paramètres pharmacocinétiques avec une bonne tolérance dans les modèles animaux. En dépit de sa grande différence structurale avec le BDCRB, cette molécule utilisée à long terme laisse apparaître des mutations de résistance sur les gènes *UL56* et *UL89* identifiant de ce fait une action ciblée sur ces protéines et donc sur le clivage et l’empaquetage de l’ADN viral.

- AIC246 (Ietermovir)

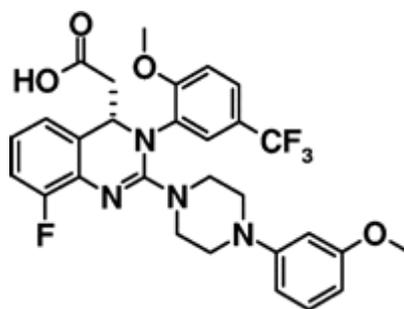


Figure 16: Formule chimique d'AIC 246 (Ietermovir)

Une troisième série de composés avec une excellente activité a été décrite avec notamment l’AIC246. Bien que rien ne prouve clairement que ces molécules agissent directement sur les terminases, elles interfèrent néanmoins sur le clivage et l’empaquetage de l’ADN viral. En dépit de son inefficacité sur le MCMV, cette molécule s’est montrée efficace sur les isolats cliniques du CMVH y compris les souches résistantes au GCV. L’AIC246 inhibe la réplication du CMVH dans les cellules humaines implantées chez la souris (Lischka et al., 2010), il est actuellement en phase II d’essais clinique et semble être bien toléré chez les patients.

#### d) Inhibiteurs de la protéine kinase UL97

La protéine kinase *UL97* phosphoryle un grand nombre de cibles virales et cellulaires. Elle est importante pour la réplication du virus, ce qui fait de cette protéine une excellente cible

dans le développement de nouvelles molécules. Bien que cette kinase ne soit pas essentielle à la réplication du virus, son absence compromet grandement l'habilité du virus à se répliquer. Plusieurs inhibiteurs de son activité ont été identifiés et représentent une nouvelle classe de molécules antivirales. Cette classe inclut les indolocarbazoles, les quinazolines et les analogues du benzimidazole. Seul le maribavir (Figure 17) a été retenu pour des essais cliniques.

- Le Maribavir

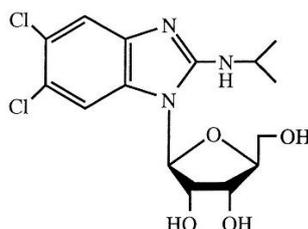


Figure 17: Formule chimique du maribavir

Le maribavir est un benzimidazole L riboside, c'est actuellement la seule molécule qui est hautement spécifique de la kinase *UL97*. Elle montre de bonnes propriétés pharmacocinétiques, elle est bien tolérée ce qui fait d'elle une molécule prometteuse dans le traitement des infections à CMVH. Les études concernant cette molécule ont grandement contribué à la compréhension de la fonction de la protéine *UL97*. Des mutations de résistance apparaissent en laboratoire et surviennent plus fréquemment sur les souches contenant des mutations dans le domaine exonucléasique II de l'ADN polymérase virale. Ces mutations sont distinctes des mutations observées avec le GCV. Ces observations montrent que le maribavir reste actif sur les souches résistantes au GCV, ce qui ferait de lui une bonne alternative dans le traitement des infections résistantes au GCV (William et al., 2003). Cependant, l'inhibition de l'activité de la kinase *UL97* par le maribavir va interférer avec l'activation du GCV si ces 2 composés sont utilisés de façon concomitante. Ceci a été démontré en culture cellulaire (Chou et Marousek, 2006). Les résultats de la phase III d'essais cliniques des patients traités par maribavir n'a pas permis de mettre en évidence les objectifs attendus et le futur thérapeutique de cette molécule reste encore incertain.

# **Troisième partie**

## **Stratégies thérapeutiques antivirales (d'après Humar et al, 2009)**

Deux approches sont utilisées pour minimiser l'impact de l'infection à CMVH ou sa réactivation dans les transplantations d'organes. La prophylaxie universelle et la thérapie préemptive anti-CMVH. Les stratégies dans la prévention du CMVH en post-transplantation et les résultats obtenus varient en fonction des différents protocoles des centres de transplantation.

Deux stratégies sont communément utilisées pour la prévention du CMVH : la prophylaxie universelle et la thérapie préemptive. La prophylaxie universelle consiste à donner un traitement antiviral à tous les patients « à risque » le plus tôt possible après la greffe et ceci pour une période définie de 3 à 6 mois. Dans la thérapie préemptive, les patients sont testés à intervalles réguliers (une fois par semaine généralement) pour mettre en évidence précocement la réplication du virus. Une fois cette réplication prouvée, les patients sont traités avec des antiviraux pour prévenir les symptômes. Les stratégies dans la prévention du CMVH en post-transplantation et les résultats obtenus varient en fonction des différents protocoles des centres de transplantation. Chaque approche a ses avantages et ses inconvénients, le choix se fait en fonction du patient et du type de greffe. La thérapie préemptive tend à diminuer les coûts liés aux médicaments et la toxicité mais nécessite une très bonne coordination logistique de façon à obtenir, recevoir et agir en fonction des résultats dans un temps imparti, ce qui peut être difficile chez les patients vivant éloignés des centres de transplantation. La thérapie prophylactique semble avoir l'avantage théorique de prévenir la réactivation d'autres virus tels que l'HHV6 et les effets indirects du CMVH. Des métaanalyses ont démontré que la prophylaxie universelle est associée à une diminution du taux de rejet de greffe, une augmentation de la survie du patient et une diminution de l'incidence des infections opportunistes. L'infection tardive à CMVH pose un problème avec la stratégie préventive. Des résistances du CMVH ont été observées avec les 2 stratégies. Il y a très peu d'études comparatives entre stratégie préventive et préemptive. Dans une étude randomisée sur 98 transplantation rénale (D+/R- n = 29) un groupe a reçu une thérapie préemptive (valganciclovir), un autre groupe a suivi une prophylaxie universelle (valganciclovir 100 jours). Ces 2 approches ont démontré une équivalence dans la prévention de la maladie à CMVH (Khoury et al, 2006). Une autre étude randomisée sur 148 transplantations rénales a comparé une thérapie préemptive (IV ganciclovir) *versus* prophylaxie universelle (3 mois ganciclovir oral). La survie du greffon 4 ans après la transplantation a été améliorée dans le groupe sous prophylaxie universelle (Kliem et al, 2008).

Tableau V : Prophylaxie universelle versus thérapie préemptive (d'après Humar et al, 2009)

	Prophylaxie universelle	Thérapie préemptive
Efficacité	Oui : nombreuses études	Oui : moins d'études (notamment peu avec D+/R-)
Facilité de mise en œuvre	Relativement facile à coordonner	Difficile à coordonner
Maladie tardive	Un problème potentiel	Très peu rencontré
Coûts	Coût élevé des molécules	Coût élevé en laboratoire
Toxicité	Elevée (traitement prolongé)	Moindre (traitement plus court).
Effets indirects (rejet de greffe, mortalité et infections opportunistes).	Impact positif basé sur des métaanalyses.	Trop peu de données pour déterminer si la thérapie préemptive a un impact sur les effets indirects.

### I- La prophylaxie universelle anti-CMV

Cette approche est réservée généralement aux patients à risque. Une thérapie anti-virale est débutée le plus tôt possible après la transplantation et s'étend sur plusieurs mois pour prévenir la maladie à CMV. Cette thérapie concerne généralement le groupe D+/R- pour éviter une primo infection, moins fréquemment le groupe D+/R+ pour minimiser la réactivation du virus latent ou la réinfection par d'autres génotypes et occasionnellement le groupe D-/R+ pour prévenir les réactivations.

Les molécules utilisées dans la prophylaxie universelle sont le ganciclovir, valganciclovir, valaciclovir (Tableau VI) et les préparations d'immunoglobulines.

Tableau VI : Molécules actuellement utilisées dans la prévention du CMVH (d'après Humar et al, 2009).

Molécules	Dose usuelle chez l'adulte en prophylaxie	Commentaire sur l'utilisation et toxicité
Valganciclovir	900mg 1 fois par jour	Facilité d'administration Leucopénie
Ganciclovir oral	1g 3 fois par jour	Faible biodisponibilité Gros comprimé
Ganciclovir IV	5mg/kg 1 fois par jour	Voie intraveineuse Leucopénie
Valaciclovir	2g 4 fois par jour	Gros comprimés Toxicité neurologique

Le ganciclovir est disponible sous 2 formes : orale et intraveineuse. Plusieurs centres de transplantation ont fait des études comparatives entre les différents médicaments indiqués dans la prévention du CMVH incluant le ganciclovir oral, valganciclovir et le valaciclovir. Dans une étude comportant 372 D+/R- traités en prophylaxie sur 3 mois avec du ganciclovir oral *versus* valganciclovir IV, le taux de maladie à CMVH à 6 et 12 mois était comparable dans les 2 cas (17,2% pour le valganciclovir vs 18,4% pour le ganciclovir à 12 mois) (Paya et al, 2004). Dans une autre étude comparant une prophylaxie sous valganciclovir pendant 200 jours *versus* 100 jours sur une population de 318 D+/R- recevant une transplantation rénale l'incidence du CMVH était de 16,1% *versus* 36,8% respectivement (Humar et al, 2009). Moins d'études ont été faites concernant les greffes de poumons mais les taux de virémie et d'apparition du CMVH sont moindres avec une prophylaxie prolongée (6 mois ou plus) (Humar et al, 2005). Les bénéfices concernant les effets indirects imputables au CMVH sont plus difficiles à démontrer. Le valaciclovir (8g/jour administré pendant 90 jours) réduit l'incidence de rejet aigu chez les CMVH séronégatifs patients (Lowance et al, 1999).

Trop peu d'études s'intéressent à l'efficacité d'une prophylaxie anti-CMVH avec des immunoglobulines spécifiques (CMVIG) ou polyvalentes par voie intra-veineuse (IVIG) dans

les transplantations d'organes solides (Snydman et al, 2001). Il est donc impossible de conclure au bénéfice d'ajouter des immunoglobulines aux traitements prophylactiques anti-CMVH.

Le problème majeur avec une stratégie préventive continue est l'apparition du CMVH tardif. Cela est défini par l'apparition de la maladie à CMVH après l'arrêt de la prophylaxie antivirale. Pour les stratégies préventives de 3 mois, la maladie à CMVH survient généralement 3 à 6 mois post-transplantation ou parfois plus tard. La maladie à CMVH tardive peut ne pas être diagnostiquée. Ceci est souvent dû à l'éloignement ou au déménagement des patients loin de leur centre de transplantation d'origine. La maladie à CMVH tardive contribue à une augmentation de la morbidité et une augmentation de la mortalité. L'incidence de la maladie à CMVH tardive dans un programme standard de prophylaxie sur 3 mois est de 17 à 37% chez les D+/R- (Paya et al, 2004).

Plusieurs options sont recommandées pour l'apparition d'une maladie à CMVH tardive :

- un suivi régulier avec un traitement approprié dès que les symptômes apparaissent
- un monitoring virologique une fois la prophylaxie achevée. Vérifier les antigènes ou la charge virale périodiquement pendant 8 à 12 semaines après la fin de la prophylaxie.
- Prolonger la prophylaxie de 3 à 6 mois chez les D+/R-. Des études ont démontré une réduction de l'incidence du CMVH en utilisant une prophylaxie de 200 jours *versus* 100 jours chez les D+/R- en transplantation rénale.

### **Recommandations spécifiques pour la prophylaxie du CMVH (Tableau VII)**

Toute dose doit être ajustée en fonction de l'état rénal.

#### Receveur de rein et de foie

- Dans le groupe D+/R-, le VGCV 900mg/j ou GCV intraveineux 5mg/kg/j sont efficaces dans la prévention de la maladie à CMVH. Chez les receveurs de rein, le valaciclovir 8g/j est une alternative. La FDA (food and drug administration) émet une réserve sur l'utilisation de VGCV dans les transplantations hépatiques mais beaucoup d'experts recommandent son utilisation, Il est utilisé dans 60% des centres de transplantations américains (Levitsky J et al., 2008)

- La prophylaxie doit être débutée dans les 10 jours suivant la transplantation et doit être poursuivie pendant 3 à 6 mois.
- Chez les receveurs R+ de foie et de rein, le VGCV oral, le GCV IV ou le valaciclovir pendant 3 mois diminuent le taux de maladie à CMVH.

#### Receveurs de cœur

- Dans le groupe D+/R- chez les receveurs de cœur le VGCV oral (900mg/j) ou le GCV IV (5mg/kg/j) pendant 3 à 6 mois peuvent être utilisés en prophylaxie de la maladie à CMVH.
- Certains centres ajoutent des CMVIG.
- Chez les receveurs R+, le VGCV oral ou le GCV IV pendant 3 mois sont efficaces pour prévenir la maladie à CMVH.

#### Receveurs de pancréas

- Il y a peu de données concernant les transplantations de pancréas mais généralement elles sont considérées comme étant à risque dans la survenue de la maladie à CMVH. Les options possibles pour les groupes D+/R- et R+ sont le VGCV oral (900mg/j) ou le GCV IV (5mg/kg/j)

#### Receveurs de poumon ou cœur/poumon

Il y a un nombre limité d'études cliniques concernant les transplantations de poumon. En général ces patients ont un fort risque de développer une maladie à CMVH.

- Dans le groupe D+/R-, les receveurs de poumons peuvent recevoir en prophylaxie du VGCV oral (900mg/j) ou du GCV (5mg/kg/j) pendant 6 mois. Etant donné le fort taux de maladie à CMVH tardive dans ce sous-groupe, certains centres prolongent la thérapie au-delà de 6 mois.
- Dans le groupe D+/R+ et D-/R+ des receveurs de poumon une prophylaxie avec du VGCV oral ou du GCV IV pendant 3 à 6 mois peut être utilisée.
- Certains centres ajoutent une CMVIG chez les receveurs à risque.

## Receveurs d'intestin

Il y a peu de données dans cette population de patients. Pour le groupe D+/R- et R+, le VGCV oral (900mg/j) ou le GCV IV (5mg/kg/j) pendant 3 à 6 mois sont recommandés. Certains centres ajoutent des CMVIG à la thérapie antivirale.

Tableau VII : Recommandations pour la prévention du CMVH dans les transplantations d'organes solides (d'après Humar et al, 2009)

Organe/groupe	Recommandations/options
Rein, foie, pancréas cœur	Prophylaxie universelle : VGCV oral, GCV IV (ou valaciclovir pour les receveurs de rein) pendant 3 à 6 mois. Certains centres ajoutent des immunoglobulines pour les transplantations cardiaques
D+/R-	Thérapie préemptive envisageable. La plupart des centres préfèrent utiliser la prophylaxie universelle et réservent la thérapie préemptive pour les groupes moins à risque.
R+	Thérapie préemptive envisageable
Poumon, cœur/poumon	D+/R- : VGCV oral ou GCV IV pendant 6 mois. Certains centres prolongent la thérapie au-delà de 6 mois ou ajoutent des immunoglobulines.  R+ : VGCV oral ou GCV IV pendant 3 à 6 mois.

Les recommandations ci-dessus ne représentent pas une stratégie exclusive. Plusieurs facteurs peuvent influencer la nature et la durée de la prophylaxie universelle ou de la stratégie préemptive.

## II- La thérapie anti-CMV préemptive

La thérapie préemptive implique une surveillance des patients pour mettre en évidence la réplication précoce du virus afin de les traiter avant l'apparition des symptômes. La stratégie préemptive a l'avantage de cibler un certain groupe de patients et permet de réduire le coût des produits et leur toxicité. Plusieurs critères sont nécessaires pour une stratégie préemptive efficace : la sélection de la population appropriée pour cette stratégie, l'utilisation de la PCR quantitative et la durée de la surveillance, le choix de la nature, dose et durée de l'agent antiviral.

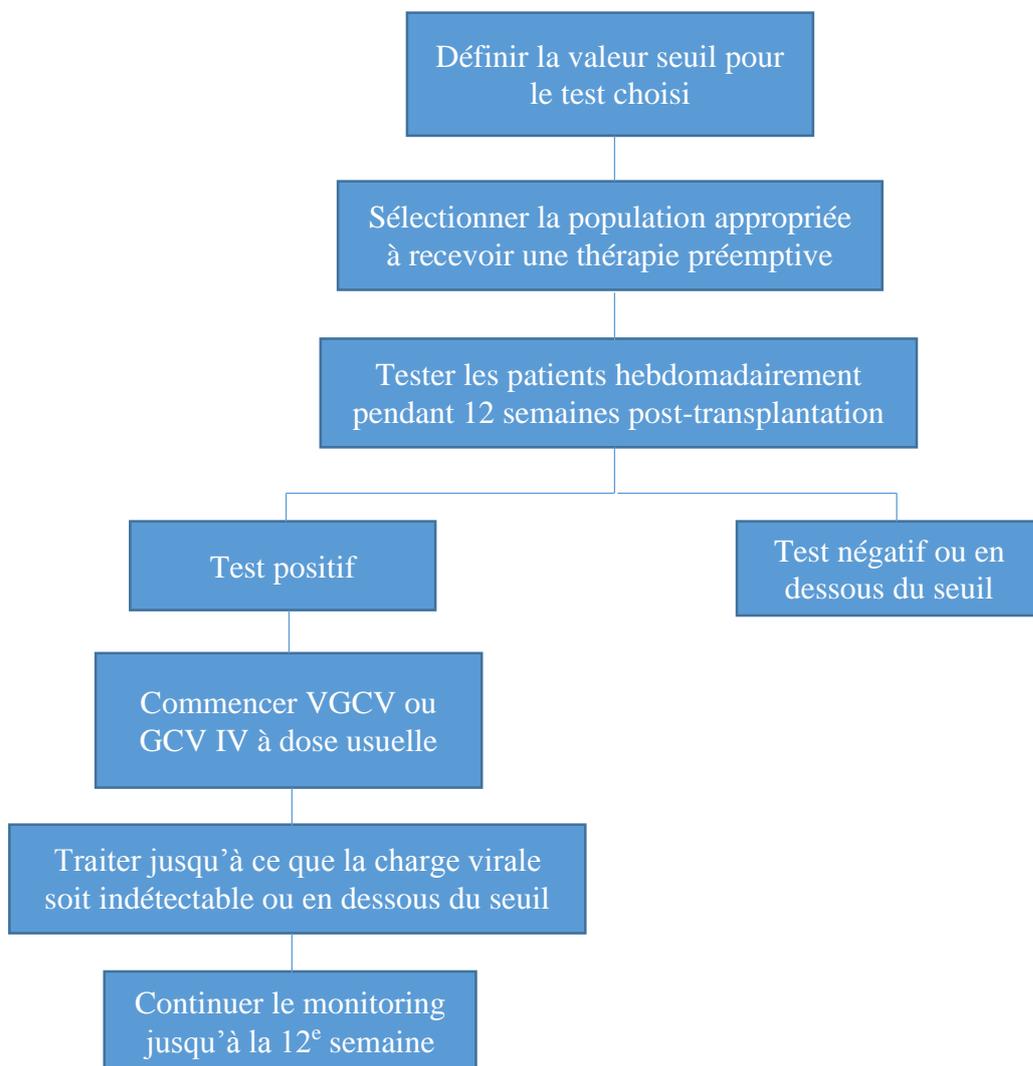


Figure 18 : Protocole de la stratégie préemptive basé sur les données actuelles CMVH (d'après Humar et al, 2009)

Les valeurs seuil d'initiation de la thérapie préemptive doivent être validées par le centre de transplantation avant le début du protocole préemptif (Humar et al., 1999).

Une fois la virémie détectée, un traitement sous VGCV ou GCV doit être initié. Dans une étude randomisée comparant ces deux agents dans le traitement du CMVH, le VGCV et le GCV ont montré une efficacité comparable (Asberg et al., 2007). Parce que la stratégie préemptive est mise en place pour des taux faibles de virémie asymptomatique, le VGCV oral est généralement préféré au GCV IV pour des raisons logistiques.

### **Recommandations pour la thérapie préemptive (Figure 18)**

- La thérapie préemptive est une option envisageable pour les patients présentant un risque de développer une maladie à CMVH. Il existe des controverses sur le choix type de population pouvant recevoir cette approche préemptive. Beaucoup de centres de transplantations préfèrent la prophylaxie universelle pour les patients les plus à risque : D+/R-, néanmoins ils reconnaissent l'utilité de la thérapie préemptive pour le groupe R+.
- Le test en laboratoire le plus fiable pour la surveillance de la charge virale est la PCR quantitative. Il doit être réalisé une fois par semaine jusqu'à la 12<sup>e</sup> semaine post transplantation.
- Les molécules les plus efficaces recommandées pour la thérapie préemptive sont le VGCV oral (900mg deux fois par jour) ou le GCV IV (5mg/kg deux fois par jour). La thérapie antivirale doit être continuée jusqu'à ce que la virémie soit indétectable.
- Des études plus poussées sont nécessaires pour comparer l'efficacité de la thérapie préemptive *versus* prophylaxie universelle et spécialement sur les effets indirects du CMVH.

### **III- Le traitement de la maladie à CMVH déclarée**

Le GCV IV a été utilisé avec succès dans plus d'une trentaine d'études pour traiter des receveurs d'organes solides présentant une infection symptomatique à CMVH (Preiksaitis et al., 2005). Cette molécule est considérée comme la plus efficace pour traiter la maladie. La dose

usuelle du GCV IV pour le traitement est 5mg/kg deux fois par jour. La durée de la thérapie varie de deux à quatre semaines. Le VGCV oral à la dose de 900mg deux fois par jour montre une efficacité comparable au GCV IV. Dans une étude randomisée comparant trois semaines de VGCV oral au GCV IV pour le traitement d'une maladie à CMV chez 321 receveurs d'organes (la majorité étant des receveurs de rein), les deux molécules ont montré une efficacité comparable pour éradiquer la virémie à 21 jours post-traitement (Asberg et al., 2007). Un certain nombre de patients montraient une virémie persistante à J21 suggérant la nécessité d'une thérapie antivirale plus longue.

Les tests diagnostiques sont un excellent outil pour déterminer la durée de la thérapie antivirale pour chaque patient. Le risque de récurrence est plus bas chez les patients dont la charge virale de CMV est indétectable à la fin de la thérapie que ceux dont la charge virale est encore détectable (Asberg et al., 2009). C'est pourquoi les patients montrant une virémie positive à CMV devraient être maintenus sous thérapie jusqu'à ce que cette virémie soit en dessous des valeurs seuil.

### **Recommandations concernant le traitement de la maladie à CMV**

- Dans n'importe quelle transplantation d'organe solide, la maladie à CMV devrait être traitée avec soit du GCV IV (5mg/kg deux fois par jour) soit du VGCV oral (900mg deux fois par jour) jusqu'à ce que les critères suivants soient atteints :
  - Résolution clinique des symptômes,
  - Virémie en dessous des valeurs seuil,
  - Deux semaines de traitement minimum.
  
- Le GCV IV est préférable au VGCV oral chez les patients avec une maladie à CMV sévère ou chez les patients ne supportant pas la forme orale.
- L'aciclovir et le GCV oral ne sont pas indiqués dans le traitement de la maladie à CMV chez les sujets transplantés. Le traitement par GCV oral lors de la réplication du CMV peut conduire à des souches de CMV résistantes.

- Le bénéfice d'ajouter des CMVIG au traitement déjà en place n'est pas encore prouvé. Néanmoins, il peut être envisagé d'ajouter des CMVIG chez les patients présentant une pneumonie à CMVH ou une autre forme sévère de la maladie à CMVH.
- A la fin du traitement, une seconde prophylaxie de 1 à 3 mois peut être envisagée en fonction de la situation clinique. Une autre alternative est la surveillance biologique par des tests en laboratoire suivant le traitement curatif.

#### IV- Le CMVH résistant au GCV

Le GCV doit être sous forme triphosphate pour acquérir son activité antivirale. Il subit une première phosphorylation par les kinases virales codées par le gène *UL97*. Les deux phosphorylations suivantes sont réalisées par les enzymes cellulaires. La forme active du GCV inhibe alors l'ADN polymérase du CMVH codée par le gène *UL54*. Ces mutations sur *UL97* et sur *UL54* peuvent engendrer une résistance au GCV. Des mutations présentes uniquement sur *UL97* confèrent au virus de faibles niveaux de résistances et de ce fait le GCV garde tout de même son activité antivirale. Par contre, si les mutations concernent à la fois *UL97* et *UL54* le virus présente généralement de forts niveaux de résistance.

Le foscarnet est un potentiel agent anti-CMVH. Il a une activité sur la plupart des souches de CMVH résistantes au GCV. Il existe très peu d'études concernant le foscarnet. Elles ont été réalisées dans les transplantations d'organes solides ; la majorité des receveurs d'organes traités par foscarnet soit seul soit en combinaison avec le GCV ont montré une amélioration (Mylonakis et al., 2002). De plus, plusieurs cas de maladie à CMVH causées par des souches résistantes au GCV ont été traitées avec succès par du foscarnet IV. Le problème majeur de ce produit est son importante néphrotoxicité et l'intégralité des effets secondaires du foscarnet en transplantation reste encore à déterminer.

Une autre molécule, le cidofovir est également utilisée dans les cas de résistance aux produits de première intention. Le cidofovir est généralement indiqué dans le traitement du CMVH chez les sujets infectés par le VIH/SIDA, son activité est en cours d'évaluation dans les transplantations d'organes. Le cidofovir présente également une importante néphrotoxicité. Les souches de CMVH avec des mutations sur le gène *UL97* restent sensibles au foscarnet et au cidofovir. En revanche, les souches présentant des mutations sur *UL54* sont souvent résistantes à ces produits en fonction du site de mutation. L'incidence des souches de CMVH résistantes au GCV est généralement faible en transplantation d'organe. Dans l'étude PV16000, le taux global de résistance était de 1,9% chez les sujets recevant du GCV oral *versus* 0% chez ceux recevant du valganciclovir (Boivin et al., 2004). Cependant dans certains groupes, notamment les receveurs de poumon, de plus forts taux de résistances ont été reportés (Bhorade et al., 2002).

Les facteurs de risque pouvant entraîner une résistance sont : une prophylaxie orale prolongée à faible dose avec GCV ou VGCV, les sujets de groupe D+/R-, une immunosuppression forte et les sujets ayant reçu une greffe de poumon (Limaye et al., 2000). Une résistance doit être suspectée si :

- Le patient a reçu une prophylaxie antivirale prolongée,
- La charge virale ne diminue pas ou si elle augmente en dépit de l'administration d'une dose adéquate d'antiviral de deux semaines,

Des tests génétiques de résistance peuvent être très utiles dans la manière de traiter les souches de CMVH résistantes au GCV. Un schéma pour traiter un CMVH résistant au GCV est présenté dans la figure suivante :

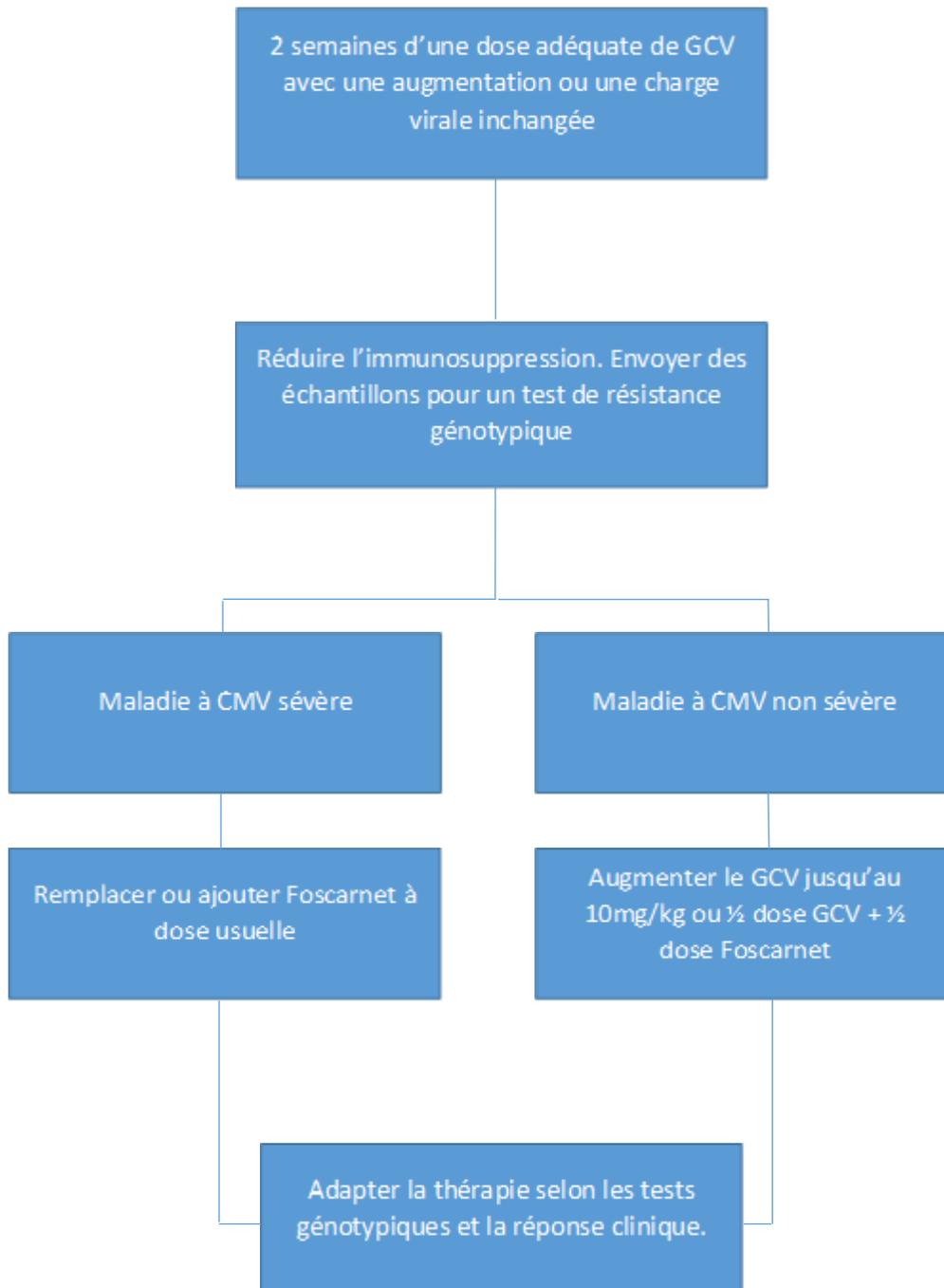


Figure 19 : Protocole de traitement d'un CMVH résistant au GCV (d'après Humar et al, 2009)

### **Recommandations pour le CMVH résistant au GCV (Figure 19)**

- Les patients développant une maladie à CMV après une prophylaxie prolongée par GCV ou VGCV et ceux qui ne répondent pas à un traitement standard par GCV doivent faire suspecter un virus résistant au GCV. Des tests génotypiques doivent alors être effectués,
- L'immunosuppression doit être réduite,
- Les options thérapeutiques incluent : l'augmentation de la dose de GCV IV (jusqu'à 10mg/kg 2 fois par jour) ou l'utilisation du Foscarnet (seul ou en association avec une demie dose de GCV),
- Concernant les cas réfractaires, des options thérapeutiques non testées ou dont l'efficacité n'est pas prouvée comme le cidofovir, le maribavir ou le leflunomide sont envisageables,
- Le bénéfice de l'ajout de CMVIG dans cette situation est inconnu mais peut être considéré.

## Conclusion

La prise en charge de l'infection à CMVH en transplantation a considérablement évoluée ces dernières années. Le développement des antiviraux, notamment le ganciclovir, le valganciclovir (utilisés en prévention et en traitement) et le valaciclovir (utilisé en prévention dans les greffes rénales), le foscarnet et le cidofovir utilisés en deuxième intention en cas d'intolérance ou de résistance. L'identification des facteurs de risque : le statut sérologique du couple donneur/receveur, le type d'organe greffé et le type et le degré de l'immunosuppression a permis une prise en charge adaptée au patient. La standardisation des tests en laboratoires tels que la PCR indispensable à l'instauration d'un traitement précoce et le suivi de la réponse au traitement du patient. Tous ces paramètres ont permis de diminuer l'incidence de la maladie à CMVH chez les receveurs de greffes.

Cependant il reste encore des progrès à faire dans la gestion du CMVH en transplantation. La toxicité médicamenteuse : neurologique, hématologique et rénale et le développement de résistances virales bien que rares ainsi la diminution de l'efficacité à long terme limitent l'utilisation des molécules actuelles. Les transplantations d'organes étant en constante augmentation un grand besoin de nouvelles molécules se fait sentir. Celles-ci devraient voir le jour dans les années à venir agissant sur d'autres cibles pour contourner les résistances virales et présentant des effets indésirables réduits.

## Bibliographie

- Alain, Sophie, Sébastien Cotin, et Sébastien Hantz. 2009. « Résistance du Cytomégalo­virus aux antiviraux ». *Virologie* 13 (4): 215-222.
- Asberg A, Humar A, Rollag H et al. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2007;7: 2106–2113.
- Asberg A, Humar A, Jardine AG et al. Long-term outcomes of CMV disease treatment with valganciclovir versus IV ganciclovir in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9: 1205–1213.
- Bhorade SM, Lurain NS, Jordan A et al. Emergence of ganciclovir-resistant cytomegalovirus in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21: 1274–1282.
- Bidanset DJ, Beadle JR, Wan WB, Hostetler KY, Kern ER. Oral activity of ether lipid ester prodrugs of cidofovir against experimental human cytomegalovirus infection. *J Infect Dis.* 2004a;190(3):499–503.
- Boeckh M, Boivin G. Quantification of cytomegalovirus : methodologic aspect and clinical applications. *Clin Microbiol rev.* 1998 ;11 :553-554.
- Boeckh, M. Current antiviral strategies for controlling cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: prevention and therapy. *Transpl Infect* 1999 ; Dis1(3 165-78.
- Boivin G, Goyette N, Gilbert C et al. Absence of cytomegalovirus resistance mutations after valganciclovir prophylaxis, in a prospective multicenter study of solid-organ transplant recipients. *J Infect Dis* 2004; 189: 1615–1618.
- Bravo FJ, Cardin RD, Bernstein DI. Effect of maternal treatment with cyclic HPMPC in the guinea pig model of congenital cytomegalovirus infection. *J Infect Dis.* 2006;193(4):591–597.
- Brennan DC, Legendre C, Patel D, Mange K, Wiland A, McCague K, Shihab FS. Cytomegalovirus incidence between everolimus versus mycophenolate in de novo renal transplants: pooled analysis of three clinical trials. *Am J Transplant.* 2011;11:2453–2462.
- Bresnahan, W. A., and T. Shenk. UL82 virion protein activates expression of immediate early viral genes in human cytomegalovirus-infected cells 2000 ; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*97: 14506–14511.
- Chen X, Kern ER, Drach JC, Gullen E, Cheng YC, Zemlicka J. Structure-activity relationships of (S,Z)-2-aminopurine methylenecyclopropane analogues of nucleosides. Variation of purine-6 substituents and activity against herpesviruses and hepatitis B virus. *J Med Chem.* 2003;46(8):1531–1537.
- Cherrington JM, Fuller MD, Lamy PD, et al. In vitro antiviral susceptibilities of isolates from cytomegalovirus retinitis patients receiving first- or second-line cidofovir therapy: relationship to clinical outcome. *J Infect Dis.* 1998;178:1821-1825.
- Chou S, Marousek G, Guentzel S, Follansbee S E, Poscher M E, Lalezari J P, Miner R C, Drew W L. Evolution of mutations conferring multidrug resistance during prophylaxis and therapy for cytomegalovirus disease. *J Infect Dis.* 1997;176:786–789.

- Chou S, Marousek GI. Accelerated evolution of maribavir resistance in a cytomegalovirus exonuclease domain II mutant. *J Virol*. 2008;82(1):246–253.
- Chrisp P, Clissold SP. Foscarnet: a review of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use in immunocompromised patients with cytomegalovirus retinitis. *Drugs*. 1991;41:104-129.
- Cihlar T, Chen M. S. Identification of enzymes catalysing two-step phosphorylation of cidofovir and the effect of cytomegalovirus infection on their activities in host cells. 1996 ; *Mol. Pharmacol*. 50 : 1502-1510.
- Cole R, Kutter A.G. « A filtrable virus present in the submaxillary glands of guinea pigs ». *J. Exp. Med*. 44, 1926 : 855-873.
- Detwiler R K, Singh H K, Bolin P, Jenette J C. Cytomegalovirus-induced necrotizing and crescentic glomerulonephritis in a renal transplant patient. *Am J Kidney Dis*. 1998;32:820–824.
- Drouet E, Colimon R, Michelson S, Fourcade N, Niveleau A, Ducerf C, Boibieux A, Chevallier M, Denoyel G. Monitoring levels of human cytomegalovirus DNA in blood after liver transplantation. *J Clin Microbiol*. 1995;33:389–394.
- Einsele H, Ehninger G, Steidle M, et al. Polymerase chain reaction to evaluate antiviral therapy for cytomegalovirus disease. *Lancet*. 1991;338:1170–1172.
- Fend F, Prior C, Margreiter R, Mikuz G. Cytomegalovirus pneumonitis in heart-lung transplant recipient : histopathology and clinicopathologic considerations. *Hum pathol* 1990 ;21 :918-926.
- Fishman J A, Rubin R H. Infection in organ-transplant recipients. *N Engl J Med*. 1998;338:1741–1751.
- Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med*. 2007;357:2601–2614.
- Gandhi, M. K, Khanna R. Human cytomegalovirus : clinical aspects, immune regulation and emmerging treatments. *The lancet infection deseases* 2004 ; 725-738.
- Giladi M, Lembo A, Johnson B L. Postural epigastric pain—a unique symptom of primary cytomegalovirus gastritis. *Infection*. 1998;26:234–235
- Gordon CR, Avery RK, Abouhassan W, Siemionow M. Cytomegalovirus and other infectious issues related to face transplantation: specific considerations, lessons learned, and future recommendations. *Plast Reconstr Surg*. 2011;127:1515–1523
- Grossi P, Revello G, Minoli L, Percivalle E, Zavattoni M, Poma G, Martinelli L, Gerna G. Three-year experience with human cytomegalovirus infections in heart transplant recipients. *J Heart Transplant*. 1990;9:712–719.
- Hammond SP, Martin ST, Roberts K, Gabardi S, Fuhlbrigge AL, Camp PC, Goldberg HJ, Marty FM, Baden LR. Cytomegalovirus disease in lung transplantation: impact of recipient seropositivity and duration of antiviral prophylaxis. *Transpl Infect Dis* 2013;15:163–170.
- Harvala H, Stewart C, Muller K, Burns S, Marson L, Mac-Gilchrist A, Johannessen I. High risk of cytomegalovirus infection following solid organ transplantation despite prophylactic therapy. *J Med Virol* 2013;85:893–898.
- Hostetler KY. Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: current state of the art. *Antiviral Res*. 2009;82(2):A84–98.

- Humar A, Gregson D, Caliendo AM et al. Clinical utility of quantitative cytomegalovirus viral load determination for predicting cytomegalovirus disease in liver transplant recipients. *Transplantation* 1999; 68: 1305–1311.
- Humar A, Kumar D, Preiksaitis J et al. A trial of valganciclovir prophylaxis for cytomegalovirus prevention in lung transplant recipients. *Am J Transplant* 2005; 5: 1462–1468.
- Humar A, Michaels M. AST ID Working Group on Infectious Disease Monitoring. Humar A American Society of Transplantation recommendations for screening, monitoring and reporting of infectious complications in immunosuppression trials in recipients of organ transplantation. *Am J Transplant*. 2006;6:262–274.
- Humar, A., D. Snyderman, et the AST Infectious Diseases Community of Practice. « Cytomegalovirus in Solid Organ Transplant Recipients ». *American Journal of Transplantation* 2009 : S78-S86.
- Imbert, B. M. *Epidémiologie des infections à cytomegalovirus*. Edition Scientifique et médicales. Elsevier. Paris Collection Medi/Bio 2002 ; 43-50.
- Jabs DA, Enger C, Forman M, Dunn JP.; The Cytomegalovirus Retinitis and Viral Resistance Study Group Incidence of foscarnet resistance and cidofovir resistance in patients treated for cytomegalovirus retinitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42:2240-2244.
- Jacobson MA, Causey D, Polsky B, et al. A dose-ranging study of daily maintenance intravenous foscarnet therapy for cytomegalovirus retinitis in AIDS. *J Infect Dis*. 1993;168:444-448.
- Jensen W A Rose R M, Hammer S M, Jenkins R L, Bothe A, Benotti P N, Dzik W H, Costello P, Khettry U, Trey C, Eliopoulos G M, Karchmer A W. Pulmonary complications of orthotopic liver transplantation. *Transplantation*. 1986;42:484–490.
- Jesionek, A and Kielemenoglou, B. « Über einen befund von protozoernartigen gebilden in den organen eines hereditärluetischen fetus ». *Munch. Med. Wochenschr*. 51. 1904 : 1905-1907.
- Kalejta, Robert F. « Tegument Proteins of Human Cytomegalovirus ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* : *MMBR* 72 (2) 2008 : 249-265.
- Kern ER, Rybak RJ, Hartline CB, Bidanset DJ. Predictive efficacy of SCID-hu mouse models for treatment of human cytomegalovirus infections. *Antivir Chem Chemother*. 2001;12(Suppl 1):149–156.
- Kern ER, Bidanset DJ, Hartline CB, Yan Z, Zemlicka J, Quenelle DC. Oral activity of a methylenecyclopropane analog, cyclopropavir, in animal models for cytomegalovirus infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004a;48(12):4745–4753.
- Kern ER, Kushner NL, Hartline CB, Williams-Aziz SL, Harden EA, Zhou S, Zemlicka J, Prichard MN. In vitro activity and mechanism of action of methylenecyclopropane analogs of nucleosides against herpesvirus replication. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(3):1039–1045.
- Khoury JA, Storch GA, Bohl DL et al. Prophylactic versus preemptive oral valganciclovir for the management of cytomegalovirus infection in adult renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2006; 6: 2134–2143.
- Kliem V, Fricke L, Wollbrink T, Burg M, Radermacher J, Rohde F. Improvement in long-term renal graft survival due to CMV prophylaxis with oral ganciclovir: Results of a randomized clinical trial. *Am J Transplant* 2008; 8: 975–983.
- Konoplev, S., Champlin, R. E., Giralt, S., Ueno, N. T., Khouri, I., Raad, I., Rolston, K., Jacobson, K., Tarrand, J., Luna, M., Nguyen, Q., and Whimbey, E. Cytomegalovirus pneumonia in adult autologous blood and marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2001 ; 27(8),877-81.

- Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation*. 2010;89:779-795.
- Kushner NL, Williams SL, Hartline CB, Harden EA, Bidanset DJ, Chen X, Zemlicka J, Kern ER. Efficacy of methylenecyclopropane analogs of nucleosides against herpesvirus replication in vitro. *Nucleosides Nucleotides*.
- Lam K M, Khan M. Cytomegalovirus in transplantation: new developments. *Coronary Artery Dis*. 1997;8:305–316.
- Lanier R, Trost L, Tippin T, et al. Development of CMX001 for the treatment of poxvirus infections. *Viruses*. 2010;2:2740-2762.
- Lea AP, Bryson HM. Cidofovir. *Drugs*. 1996;52:225-230.
- Leruez-Ville M. « le diagnostic virologique de l'infection à cytomégalo­virus humain ». *Médecine thérapeutique*. Vol. 7, Numéro 8, 2001 : 605-10.
- Levitsky J, Singh N, Wagener MM, Stosor V, Abecassis M, Ison MG. A survey of CMV prevention strategies after liver transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8: 158–161.
- Limaye AP, Corey L, Koelle DM, Davis CL, Boeckh M. Emergence of ganciclovir-resistant cytomegalovirus disease among recipients of solid-organ transplants. *Lancet* 2000; 356: 645–649.
- Limaye, Ajit et al, *Transplanta2on*.2006; 81(12):1645-1652.
- Lischka P, Hewlett G, Wunberg T, Baumeister J, Paulsen D, Goldner T, Ruebsamen-Schaeff H, Zimmermann H. In vitro and in vivo activities of the novel anticytomegalovirus compound AIC246. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(3):1290–1297.
- Lor E, Liu YQ. Neurologic sequelae associated with foscarnet therapy. *Ann Pharmacother*. 1994;28:1035-1037.
- Lowance D, Neumayer HH, Legendre CM et al. Valacyclovir for the prevention of cytomegalovirus disease after renal transplantation. International Valacyclovir Cytomegalovirus Prophylaxis Transplantation Study Group. *N Engl J Med* 1999; 340: 1462–1470.
- Luan FL. Six-month low-dose valganciclovir prophylaxis in cytomegalovirus D<sup>+</sup>/R<sup>-</sup> kidney transplant patients receiving thymoglobulin induction. *Transplant Proc*. 2013;45:175–177.
- Luo, M.H., P.H. Schwartz, and E.A. Fortunato. 2008. Neonatal neural progenitor cells and their neuronal and glial cell derivatives are fully permissive for human cytomegalovirus infection. *J Virol*. 82:9994-10007.
- Mazeron M. C. Resistance du cytomégalo­virus aux antiviraux. 1997. *Virologie* 1 : 95-102.
- Mendes, A. V., Benard, G., Pereira, C. B., Kallas, E. G., Duarte, A. J., Pannuti, C. S., Dulley, F. L., and Machado, C. M. Different kinetics in anti-cytomegalovirus immunity reconstitution evaluated by lymphocyte proliferation and IFN-gamma production in allogeneic and autologous bone marrow transplantation. *Acta Haemato* 2002 ; 1107(4),187-94.
- Mendez-Eirin E, Paniagua-Martín MJ, Marzoa-Rivas R, Barge-Caballero E, Grille Mercorelli B, Sinigalia E, Loregian A, Palu G. Human cytomegalovirus DNA replication: antiviral targets and drugs. *Rev Med Virol*. 2008;18(3):177–210.
- Mocarski, E. S., Shenk, T., Pass, R. F. Cytomegaloviruses. In: Knipe, D. M., Howley, P. M. Editors. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2007 ; 2701-72

Moudgil A, Germain B M, Nast C C, Toyoda M, Strauss F G, Jordan S C. Ureteritis and cholecystitis : two unusual manifestations of cytomegalovirus disease in renal transplant recipient. *Transplantation* 1997 ;64 :1071-1073.

Mylonakis E, Kallas WM, Fishman JA. Combination antiviral therapy for ganciclovir-resistant cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1337–1341.

Pass, R. F. Cytomegalovirus. Fields BN, Knipe DM eds. *Virology* : Raven Press, New York 2. 2004 ; 2675-2705.

Patel R, Paya C V. Infections in solid-organ transplant recipients. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10:86–124.

Paya C V, Hermans P E, Smith T F, Anhalt J P, Wiesner R H, Krom R A F. incidence, distribution, and outcome of episodes of infection in 100 orthotopic liver transplantations. *Mayo Clin Proc.* 1989 ;64 :555-564.

Paya C V, Wiesner R H, Herman P E, Larson-Keller J J, Ilstrup D M, Krom R A F, Rettke S, Smith T F. Risk factors for cytomegalovirus and severe bacterial infections following liver transplantation: a prospective multivariate time-dependent analysis. *J Hepatol.* 1993;18:185–195.

Paya C, Humar A, Dominguez E, Washburn K, Blumberg E, Alexander B, Freeman R, Heaton N, Pescovitz MD. Valganciclovir Solid Organ Transplant Study Group. Efficacy and safety of valganciclovir vs. oral ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2004;4:611–620.

Petri W A., Jr Infections in heart transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 1994;18:141–148.

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.* 2005; 5: 218–227.

Prichard, Mark N., et Earl R. Kern. « The Search for New Therapies for Human Cytomegalovirus Infections ». *Virus research* 157 (2). 2011 ; 212-221.

Quenelle DC, Lampert B, Collins DJ, Rice TL, Painter GR, Kern ER. Efficacy of CMX001 against herpes simplex virus infections in mice and correlations with drug distribution studies. *J Infect Dis.* 2010 In Press.

Ramanan P, et Razonable RR. « Cytomegalovirus Infections in Solid Organ Transplantation: A Review ». *Infection & Chemotherapy* 45, n° 3. 2013 ; 260-271.

Razonable RR, Rivero A, Rodriguez A, Wilson J, Daniels J, Jenkins G, Larson T, Hellinger WC, Spivey JR, Paya CV. Allograft rejection predicts the occurrence of late-onset cytomegalovirus (CMV) disease among CMV-mismatched solid organ transplant patients receiving prophylaxis with oral ganciclovir. *J Infect Dis.* 2001;184:1461–1464.

Razonable RR. Strategies for managing cytomegalovirus in transplant recipients. *Expert Opin Pharmacother.* 2010;11:1983–1997.

Razonable RR, Humar A. AST Infectious Diseases Community of Practice. Cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2013;13(Suppl 4):93–106.

Requião-Moura LR, Ferraz E, Matos AC, Tonato EJ, Ozaki KS, Durão MS, Câmara NO, Pacheco-Silva A. Comparison of long-term effect of thymoglobulin treatment in patients with a high risk of delayed graft function. *Transplant Proc.* 2012 ; 44:2428–2433.

Rowe W.P. « Cytopathic agent resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids ». *Proc ; Soc. Exp. Biol ; Med.* 92. 1956 : 418-424.

Rowshani, A. T., Bemelman, F. J., van Leeuwen, E. M., van Lier, R. A., and ten Berge, I. J. Clinical and immunologic aspects of cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 79(4), 2005 : 381-6.

Rybak RJ, Zemlicka J, Qiu YL, Hartline CB, Kern ER. Effective treatment of murine cytomegalovirus infections with methylenecyclopropane analogues of nucleosides. *Antiviral Res.* 1999;43(3):175–188.

Salvant, B. S., E. A. Fortunato, et al. « Cell cycle dysregulation by human cytomegalovirus : influence of the cell cycle phase at the time of infection and effects on cyclin transcription ». *J. Virol.* 72 1998 : 3729-3741.

*Sang-Oh Lee et al. World J Hepatol 2010; 2(9): 325-336*

Sia, Irene G., et Robin Patel. « New Strategies for Prevention and Therapy of Cytomegalovirus Infection and Disease in Solid-Organ Transplant Recipients ». *Clinical Microbiology Reviews* 13, n° 1 2000: 83-121.

Sinclair, J., and P. Sissons. 2006. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J. Gen. Virol.* 87:1763-1779.

Smith M.G. « Propagation in tissue culture of cytopathogenic virus human salivary gland virus disease ». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 92. 1956 : 424-430.

Snydman DR, Falagas ME, Avery R et al. Use of combination cytomegalovirus immune globulin plus ganciclovir for prophylaxis in CMV-seronegative liver transplant recipients of a CMV-seropositive donor organ: A multicenter, open-label study. *Transplant Proc* 2001; 33: 2571–2575.

Stinski, M. F. « Cytomegalovirus and its replication ». Raven Press, New York 69 : 1990 : 1959-1980.

Sullivan V, Talarico C, Stanat S, et al. A protein kinase homologue controls phosphorylation of ganciclovir in human cytomegalovirus-infected cells. *Nature.* 1992;358:162–164.

Toth K, Spencer JF, Dhar D, Sagartz JE, Buller RM, Painter GR, Wold WS. Hexadecyloxypropyl-cidofovir, CMX001, prevents adenovirus-induced mortality in a permissive, immunosuppressed animal model. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(20):7293–7297.

Toyoda M, Carlos J B, Galera O A, Galfayan K, Zhang X, Sun Z, Czer L S, Jordan S C. Correlation of cytomegalovirus DNA levels with response to antiviral therapy in cardiac and renal allograft recipients. *Transplantation.* 1997;63:957–963.

Van den Berg A P, Tegzess A M, Scholten-Sampson A, Schirm J, van der Giessen M, The T H, van Son W J. Monitoring antigenemia is useful in guiding treatment of severe cytomegalovirus disease after organ transplantation. *Transplant Int.* 1992;5:101–106.

Van den Berg A P, van Son W J, Haagsma E B, Klompaker I J, Tegzess A M, Schirm J, Dijkstra G, van der Giessen M, Slooff M J, The T H. Prediction of recurrent cytomegalovirus disease after treatment with ganciclovir in solid-organ transplant recipients. *Transplantation.* 1993;55:847–851.

Van der Meer J T, Drew W L, Bowden R A, Galasso G J, Griffiths P D, Jabs D A, Katlama C, Spector S A, Whitley R J. Summary of the International Consensus Symposium on Advances in the Diagnosis, Treatment and Prophylaxis and Cytomegalovirus Infection. *Antiviral Res.* 1996;32:119–140.

Vogel J-U, Scholz M, Cinatl J J. Treatment of cytomegalovirus diseases. *Intervirology.* 1997;40:357–367.

Wan WB, Beadle JR, Hartline C, Kern ER, Ciesla SL, Valiaeva N, Hostetler KY. Comparison of the antiviral activities of alkoxyalkyl and alkyl esters of cidofovir against human and murine cytomegalovirus replication in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(2):656–662.

Weller T.H et al. « Serologic differentiation of viruses responsible for cytomegalic inclusion disease ». *Virology* 12. 1960 : 130-132.

Williams SL, Hartline CB, Kushner NL, Harden EA, Bidanset DJ, Drach JC, Townsend LB, Underwood MR, Biron KK, Kern ER. In vitro activities of benzimidazole D- and L-ribonucleosides against herpesviruses. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(7):2186–2192.

## Table des figures

Figure 1: Représentation schématique d'un virion d'herpès-virus

Figure 2: Schéma du génome du CMVH.

Figure 3: Schéma de l'entrée du virus dans la cellule et libération de l'ADN viral dans le noyau cellulaire.

Figure 4: Mécanisme d'action des antiviraux anti-CMV.

Figure 5: Formule chimique du ganciclovir.

Figure 6: Formule chimique du valganciclovir.

Figure 7: Formule chimique de l'aciclovir.

Figure 8: Formule chimique du valaciclovir.

Figure 9: Formule chimique du cidofovir.

Figure 10: Formule chimique du pyrophosphonate.

Figure 11: Sites d'action des antiviraux dans le cycle de réplication du CMVH.

Figure 12: Formule chimique du CMX001.

Figure 13: Formule chimique du cyclopropavir.

Figure 14: Formule chimique du BDCRB.

Figure 15: Formule chimique du BAY38-4766.

Figure 16: Formule chimique du letermovir.

Figure 17: Formule chimique du maribavir.

Figure 18 : Protocole de la stratégie préemptive basé sur les données actuelles.

Figure 19 : Protocole de traitement d'un CMVH résistant au GCV.

## **Table des tableaux**

Tableau I : Incidence de la maladie à CMVH durant la première année post-transplantation hépatique.

Tableau II : Incidence de la maladie à CMVH en fonction du statut sérologique du donneur et du receveur.

Tableau III : Molécules de première intention et alternatives actives sur le CMVH.

Tableau IV : Posologie conseillée du ganciclovir (GCV) et du Valganciclovir (VGCV) selon l'état rénal.

Tableau V : Prophylaxie universelle versus thérapie préemptive.

Tableau VI : Molécules actuellement utilisées dans la prévention du CMVH.

Tableau VII : Recommandations pour la prévention du CMVH dans les transplantations d'organe



## **Serment de Galien**

- Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

