



Prise en charge des infections à CMV

R. Germi, O. Epaulard

Virologie, Infectiologie, CHU de Grenoble

DU de thérapeutiques anti-infectieuses

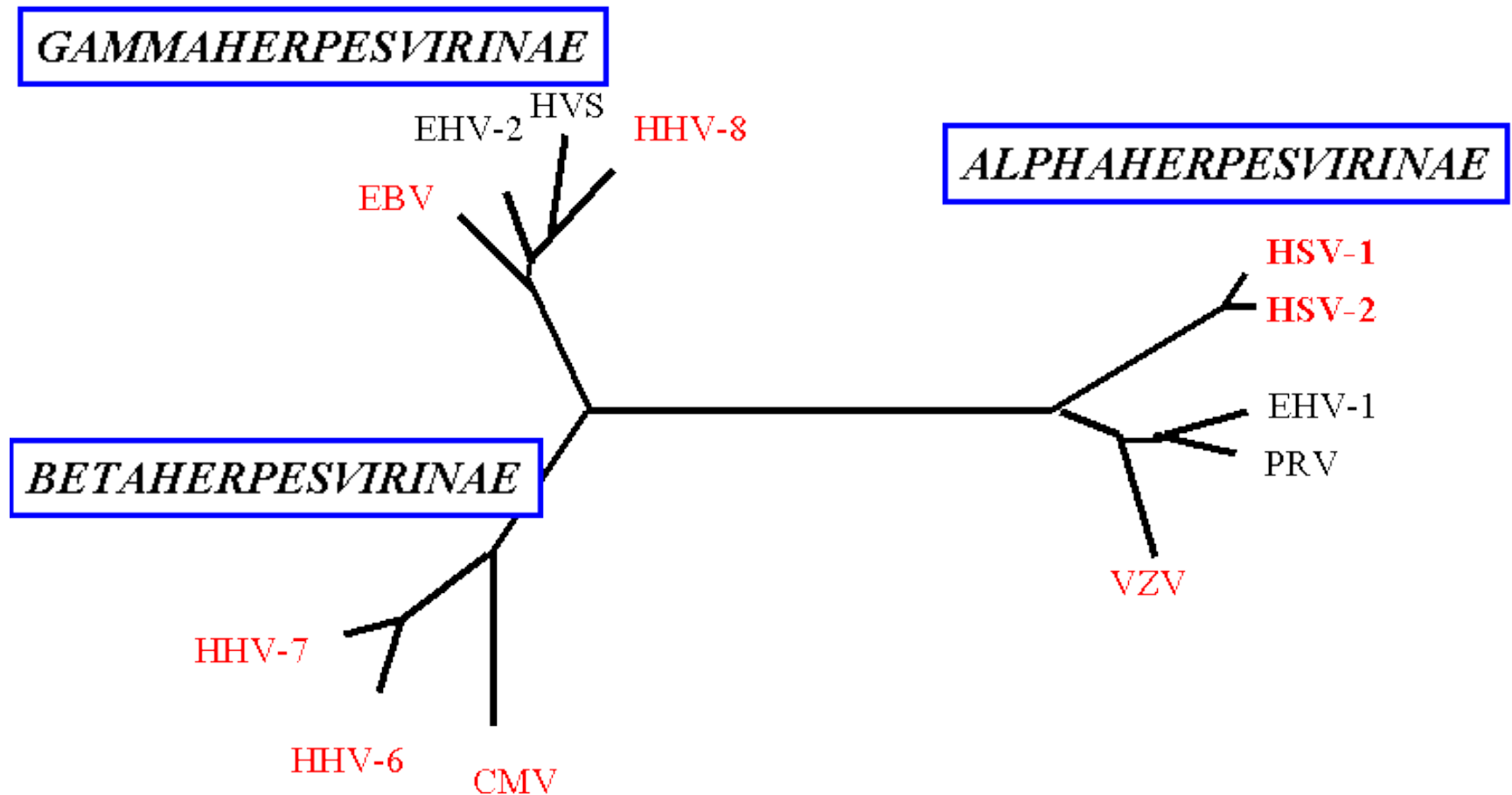
Université Grenoble Alpes

mars 2023

Plan

- Épidémiologie des infections à CMV
- Diagnostic des infections à CMV
- Traitements disponibles
et stratégies thérapeutiques
- Résistance aux antiviraux

Herpesviridae humans

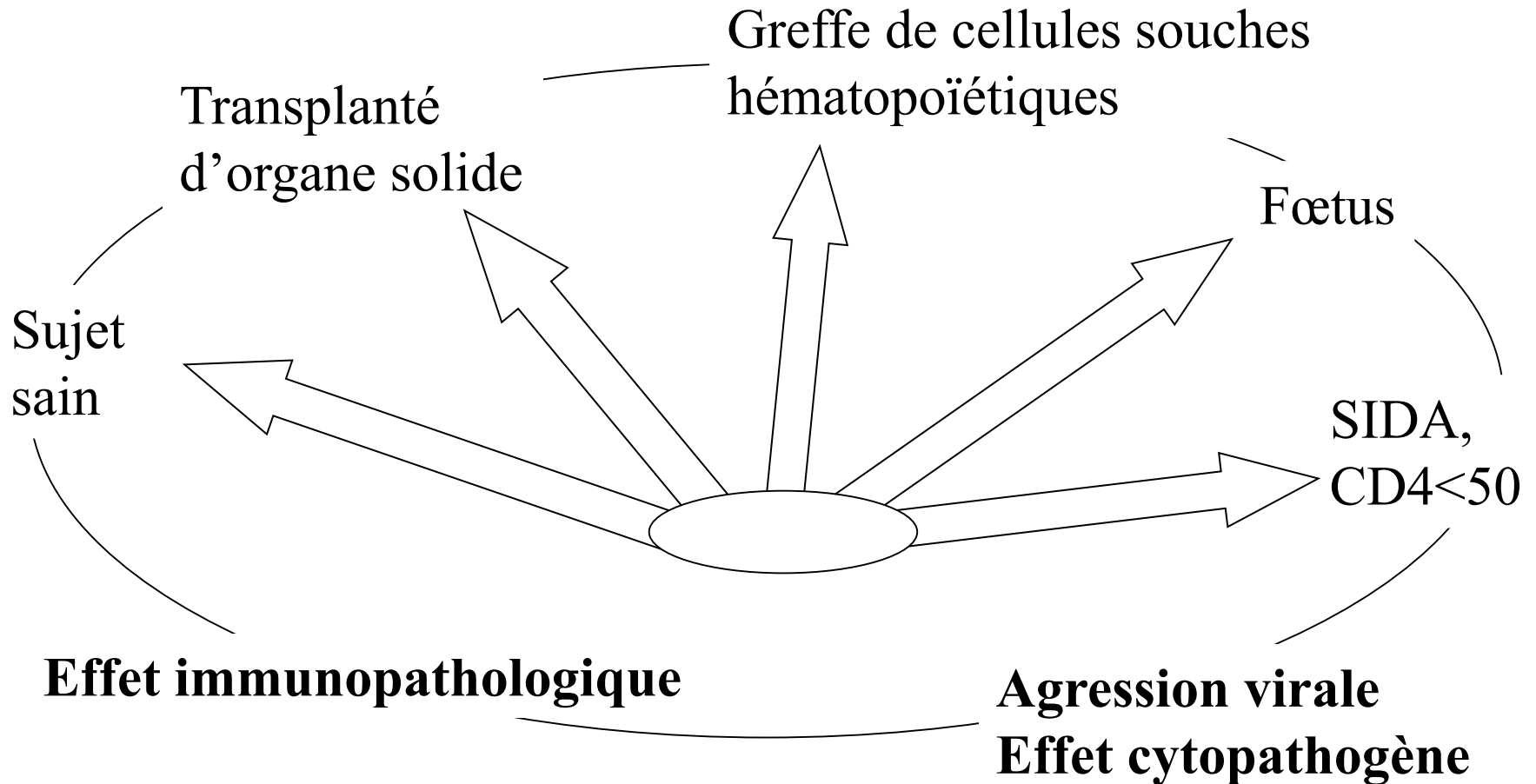


La latence virale

- Existe pour tous les herpesviridae
 - Après la primo-infection
 - De façon définitive
 - À l'origine de réactivations de profils variables
- Excrétion asymptomatique : latence ou réplication à bas niveau? (HSV, CMV, EBV, HHV8)
- Sites de latence spécifiques :
 - ganglions rachidiens postérieurs (VZV, HSV)
 - Lymphocytes B, cellules épithéliales (EBV)
 - Cellules endothéliales, leucocytes (CMV, HHV8)

Cytomégalo­virus

Pouvoir pathogène du CMV



Infections à CMV de l'immunocompétent

- Le plus souvent asymptomatique
- Parfois fièvre, asthénie et lymphadénopathie
- Exceptionnellement grave :
 - Colite
 - Méningite et myélite
 - Pneumopathie interstitielle
 - Guillain-barré
 - Myocardite
 - Hépatite grave
- Une réplication du CMV n'est qu'inconstamment trouvée dans les lésions tissulaires
 - Ex : LCR : PCR généralement négative
 - Mécanisme dysimmunitaire essentiellement



Symptomatic cytomegalovirus gastrointestinal infection with positive quantitative real-time PCR findings in apparently immunocompetent patients: a case series

S. Bernard¹, R. Germe^{2,3}, J. Lupo^{2,3}, M.-H. Laverrière⁴, V. Masse⁵, P. Morand^{2,3} and G. Gavazzi⁶

1) Department of Infectious Diseases, Grenoble University Hospital, 2) Department of Virology, University Hospital, 3) Unit of Virus Cell Interactions, UMI 3265, UJF-EMBL-CNRS, 4) Department of Pathology, Grenoble University Hospital, Grenoble, France, 5) Microbiology and Infectious Diseases, Sherbrooke University Hospital, Sherbrooke, Quebec, Canada and 6) University Clinic of Geriatric Medicine, Grenoble University Hospital, Grenoble, France

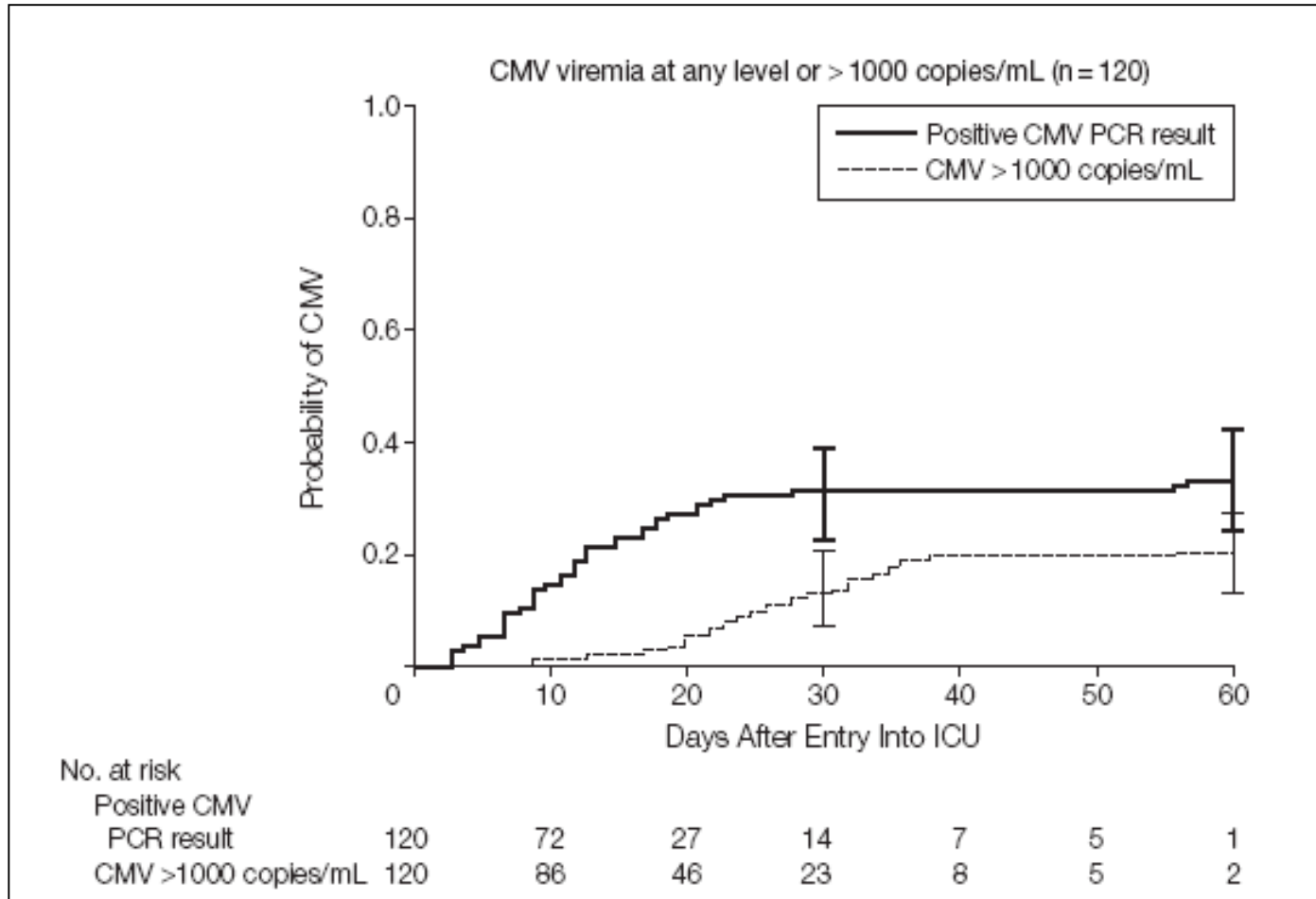
TABLE 1. Characteristics of 13 immunocompetent cases of cytomegalovirus (CMV) gastrointestinal disease

Patient	Age (years)/sex	IM conditions/number of other comorbidities	Clinical manifestations	Endoscopy findings at site of positive biopsy	Tomodensitometry	CMV serological status	CMV DNA load (copies/µg DNA)	Histology	Therapy after diagnosis (length in days)	Length of hospital stay (days)	Other active concurrent disease
1	69/M	Type 2 diabetes/1	Fever and diarrhoea	Sigmoid ulcer	—	Reactivation profile	1150	Negative	Supportive treatment (probabilist antibiotherapy)	5	No
2	83/F	Diabetes mellitus, chronic renal failure/2	Haematemesis	Oesophageal ulcer with confluent erosions	—	Not determined	2675	Negative	Supportive treatment	27	No
3*	71/M	No IM conditions/8	Diarrhoea	Rectal petechiae and whitish plaques	Rectal and colic wall thickening	Reactivation profile	11 750	Negative	Intravenous ganciclovir (3), then oral valganciclovir (24)	18	No
4	88/F	Chronic renal failure, malnutrition/3	Haematochezia	Rectal ulcer (3 cm)	Infiltration of presacral region	Reactivation profile	918	Negative	Intravenous ganciclovir (5), then oral valganciclovir (7)	42	No
5	80/F	No IM conditions/4	Bloody diarrhoea	Deep sigmoid ulcers	—	Reactivation profile	2860	Positive	Oral valganciclovir (17)	33	Refractory ulcerative colitis needed total colectomy
6	83/M	No IM conditions/5	Dysphagia	Oesophageal ulcer with stenosis	—	Not determined	1074	Negative	Supportive treatment	2	No
7	84/F	Type 1 diabetes, malnutrition/4	Fever and diarrhoea	Wide sigmoid ulcers	Sigmoidorectal wall thickening	Reactivation profile	11 800	Negative	Intravenous ganciclovir (3), then oral valganciclovir (21)	47	Breast adenocarcinoma
8	83/M	No IM conditions/6	Dysphagia, haematemesis	Ulcerative oesophagitis	Normal sub-diaphragmatic	Reactivation profile	15 500	Negative	Intravenous ganciclovir (5), then oral valganciclovir (16)	19	Adenocarcinoma of sigmoid with peritoneal carcinosis
9	54/M	Chronic alcoholism/3	Dysphagia, haematemesis	Necrotic oesophagitis	Oesophageal wall thickening (13 mm)	Reactivation profile	173	Negative	Supportive treatment	26	No
10*	65/F	No IM conditions/0	Haematochezia	Multiple rectal ulcers	Sigmoid wall thickening (9 mm)	Not determined	15	Negative	Supportive treatment	41	No
11	81/F	Malnutrition/4	Fever and diarrhoea	Duodenal erosion	Duodenal and colic wall thickening	Reactivation profile	64	Negative	Oral valganciclovir (21)	14	No
12	84/M	No IM conditions/3	Dysphagia	Severe oesophagitis	—	Reactivation profile	84	Negative	Supportive treatment	15	Occlusive syndrome, resolved with medical treatment
13	56/F	Malnutrition/3	Fever and chronic diarrhoea	Deep sigmoid ulcers	Ileocolic wall thickening	Reactivation profile	1920	Negative	Supportive treatment	10	Crohn's disease

F, female; IM, immune-modulating; M, male.

*Symptoms appeared after the onset of hospitalization.

Chez le patient immunocompétent en réanimation, la réactivation du CMV est-elle délétère ?



- ADN CMV détectable dans le plasma chez 33 % des patients
- En analyse multivariée : CV CMV corrélée avec décès et durée de séjour

Infections à CMV de l'immunocompétent

- Faut-il un traitement antiviral ?
- Probablement si lésions tissulaires ET
 - CMV localement (PCR)
 - Ou (moindre certitude) une charge virale CMV élevée dans le sang
 - Pas d'étude apportant de certitude, nombreux *case reports*
 - Valganciclovir en 1^{ère} intention ?
 - **Situation rare**
- Infections à CMV du sujet âgé (colite ++)
 - Immunosenescence ; sous-évaluée
 - Traitement probablement nécessaire
- Cas particulier de la femme enceinte

Infections à CMV de l'immunodéprimé

- Deux risques liés à l'altération de la réponse lymphocytaire T :
 - Réactivation d'une infection en latence
 - Primo-infection non contrôlée
- Principales situations :
 - Greffe de CSHP
 - Greffe d'organe solide (*solid organ transplantation, SOT*)
 - SIDA
- Attention aux patients dont l'immunodépression est sous-estimée
 - Patients âgés

Quelques définitions

- Infection par le CMV
 - Détection d'une **réplication** virale
 - En général par ADNémie
 - Primo-infection ou réactivation
 - Symptomatique ou non
- Syndrome viral à CMV
 - Fièvre, leucopénie, thrombopénie et réplication virale
- Maladie à CMV
 - Infection associée à des lésions d'organes
 - Soit médiées par l'inflammation
 - Soit médiées par l'effet cytopathogène
 - SOT : dite « tardive » si survient après le 3^{ème} mois

- Greffe d'organe solide
 - « syndrome viral » (fièvre, cytopénie, hépatite)
 - Atteinte viscérale
 - Greffon
 - Œsophage, intestin grêle, colon
 - Poumon
 - ...
 - Augmentation des risques de rejet
- Greffe de CSHP
 - Atteinte viscérale :
 - Intestin grêle et colon
 - Poumon
 - Augmentation des risques de GVH

Transplantation d'organe solide

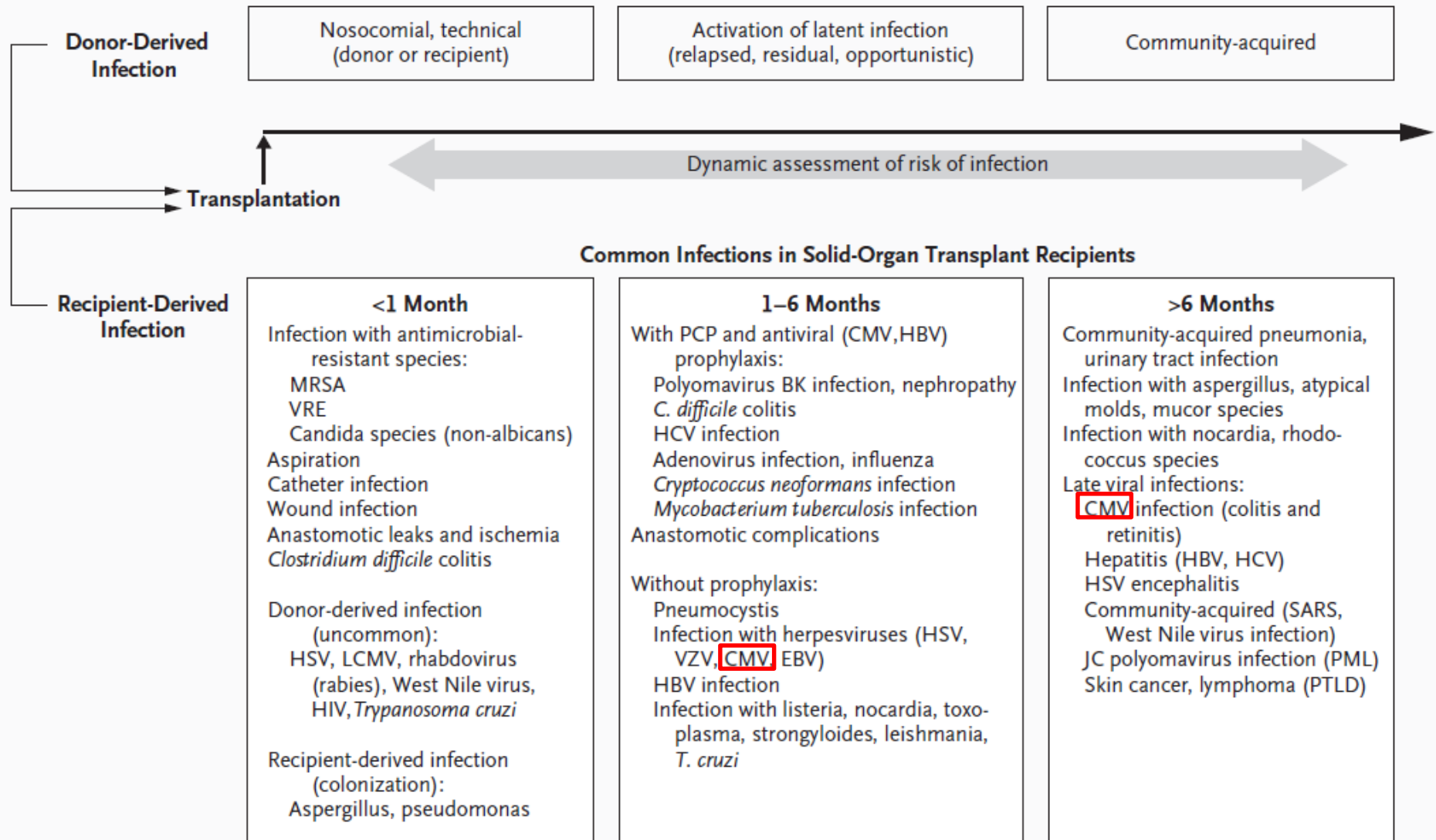


Table 1. Incidence of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation⁴

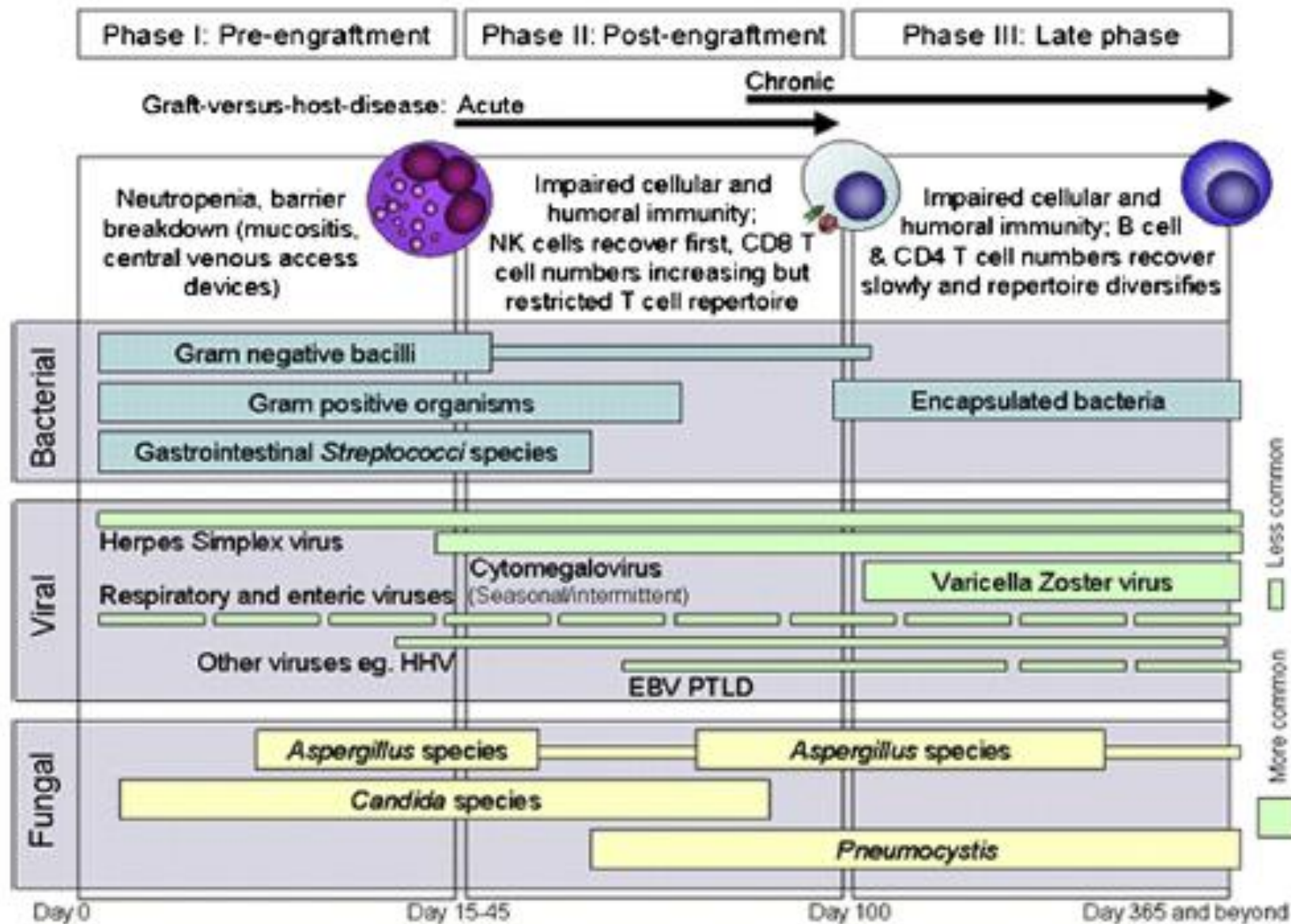
Organ	Infection	Disease
Kidney	8%–32%	8%
Heart	9%–35%	25%
Liver	22%–29%	29%
Lung or heart/lung	39%–41%	39%
Pancreas or kidney/pancreas	50%	50%

Adapted with permission from McDevitt LM. *Am J Health Syst Pharm.* 2006;63:S3–S9.

Facteurs de risques de **maladie** à CMV après TOS

- Sérologie CMV avant greffe :
D+R- > D+R+ > D-R+ > D-R-
- Utilisation d'Ac anti-lymphocytes à la greffe
- Un ou plusieurs épisode(s) de rejet aigu
- Nombre d'incompatibilités HLA D/R
- Organe transplanté riche en tissus lymphoïdes
- Charge virale plasmatique CMV élevée

Allogreffe de CSHP



Trois problématiques chez l'ID

- Comment faire le diagnostic d'infection ?
 - Et faut-il un suivi systématique des paramètres viraux ?
- Comment prévenir les infections / maladies à CMV ?
- Comment les traiter ?
 - Et quelle prophylaxie secondaire ensuite ?

Diagnostic

En préambule

- Temps d'incubation = 3-12 semaines
- Dissémination :
 - Dissémination sanguine = élément clef de l'infection (MM, Neutrophiles, cellules endothéliales ...)
 - Dissémination dans presque tous les tissus (Neurones, hépatocytes, épithélium, myocytes, cellules trophoblastiques.....)
- Réservoir cellulaire
 - Leucocytes - neutrophiles
 - Monocytes/Macrophages
 - Cellules endothéliales
 - Cellules souches hématopoïétiques

} Interaction entre
les réservoirs →
dissémination +++

En préambule

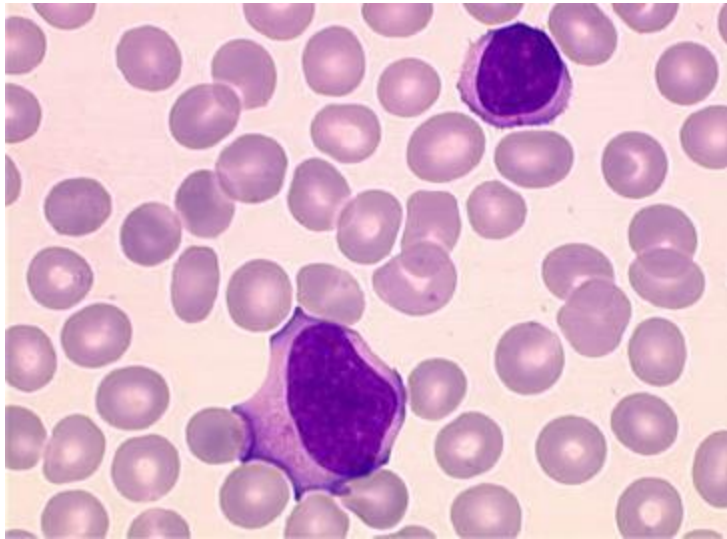
- Présence de virus dans le sang après primo-infection

	Virémie	Antigénémie	ADNémie
1 mois	26%	57%	100%
2 mois		25%	89%
3 mois		0%	27%
4-6 mois			27%
> 6 mois			0%

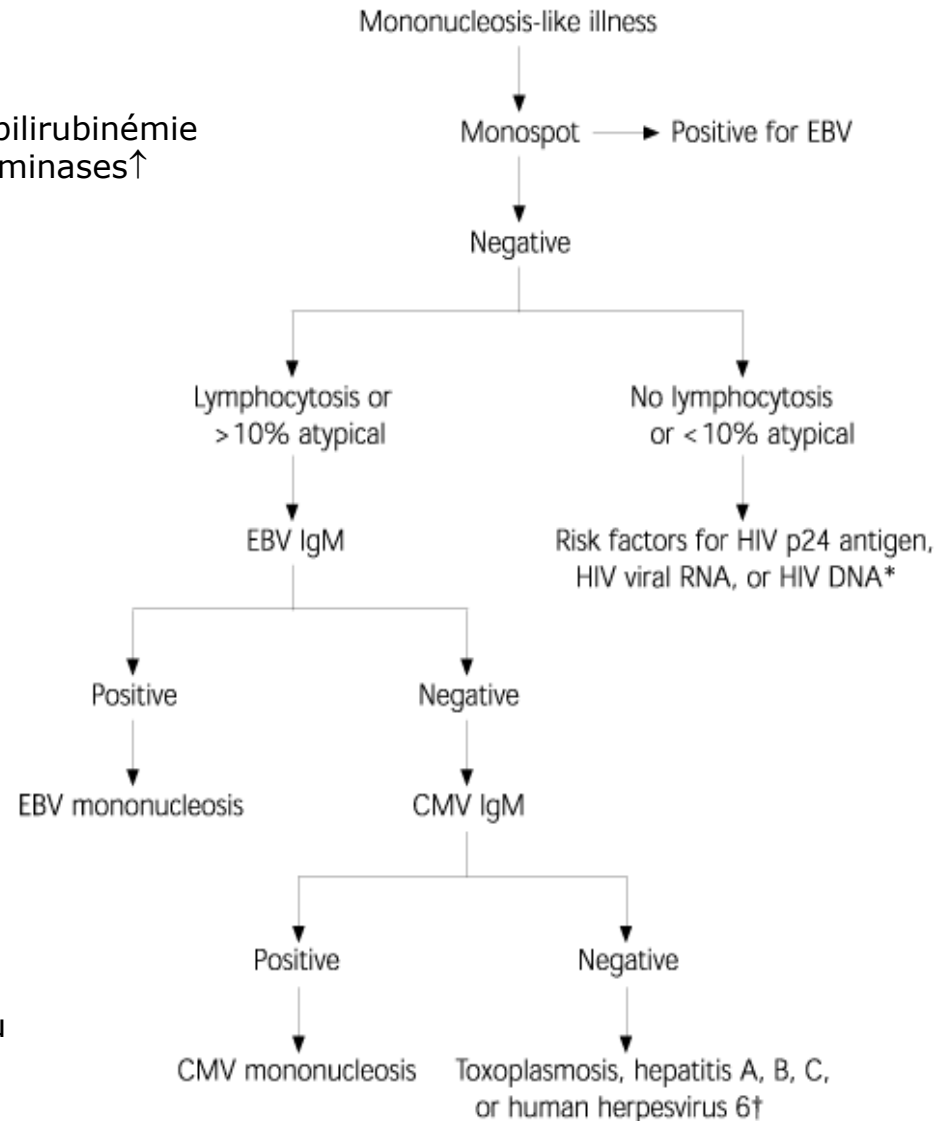
- Excrétion virale urinaire
 - Adultes ~ 6 mois
 - Enfants \geq 1 an
 - Infection Congénitale : plusieurs années

Diagnostic Biologique

- Pas très spécifique
- Bilan hépatique perturbé Hyperbilirubinémie
transaminases↑
- Désordres immunologiques
- Syndrome mononucléosique



hyperlymphocytose > 4 Giga
cellules lymphoïdes activées de grande taille, noyau
rond ou excentré, basophilie du cytoplasme + net
renforcement périphérique.
polymorphisme cellulaire



Diagnostic Virologique

Diagnostic virologique direct : qPCR principalement

→ Utilité principale = Suivi chez l'immunodéprimé

Sera vu dans un second temps

Diagnostic virologique indirect : Sérologie

→ Utilité principale = mettre en évidence une primo-infection mais aussi établir un statut sérologique

- Recherche d'IgG :

- Recherche d'IgM :
 - ▣ Délais : jusqu'à 15 jours après signes cliniques
 - ▣ Pic < 3 mois
 - ▣ Négativation 6 mois voire 1 an

Le diagnostic de la primo-
infection CMV
Et
des infections maternofoetales

Diagnostic virologique indirect : Sérologie

IgM → primo-infection

Diagnostic de séroconversion :

Diagnostic de certitude nécessite un sérum antérieur :

→ Apparition des Ig entre 2 sérums espacés de 2-3 sem

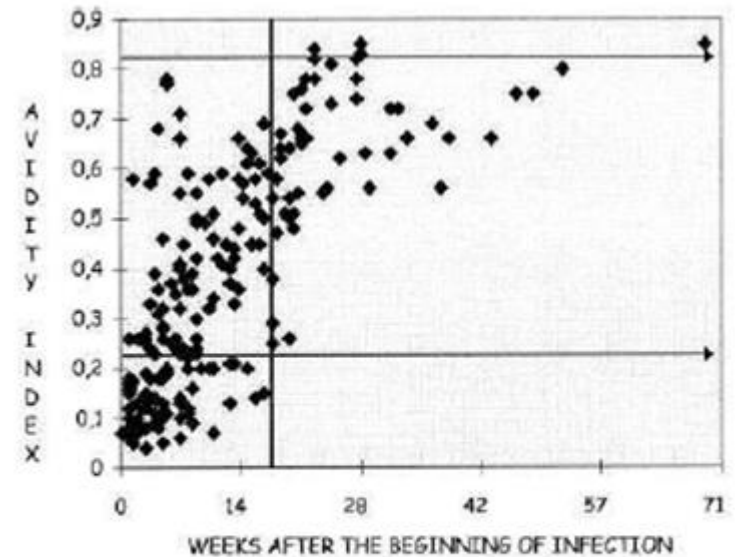
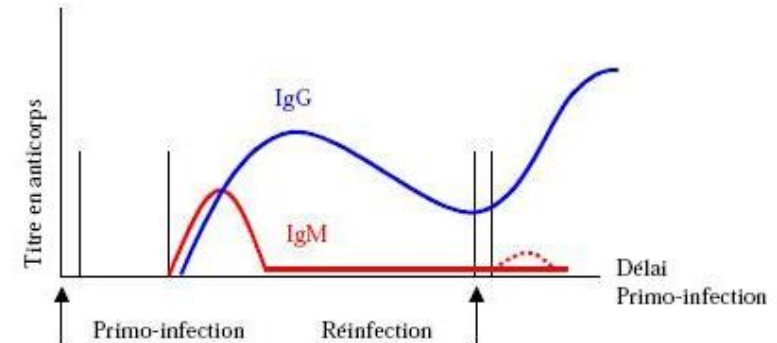
OU

Index d'avidité des IgG :

Basé sur l'évaluation de l'affinité des IgG pour les antigènes CMV

- Lors de la PI: les IgG ont une affinité faible pour les Ag CMV
- La réponse IgG mature pendant une période de plusieurs semaines à plusieurs mois
- Puis les IgG ont une affinité élevée qui se maintient toute la vie

Il faut
qu'il y ait
des IgG !



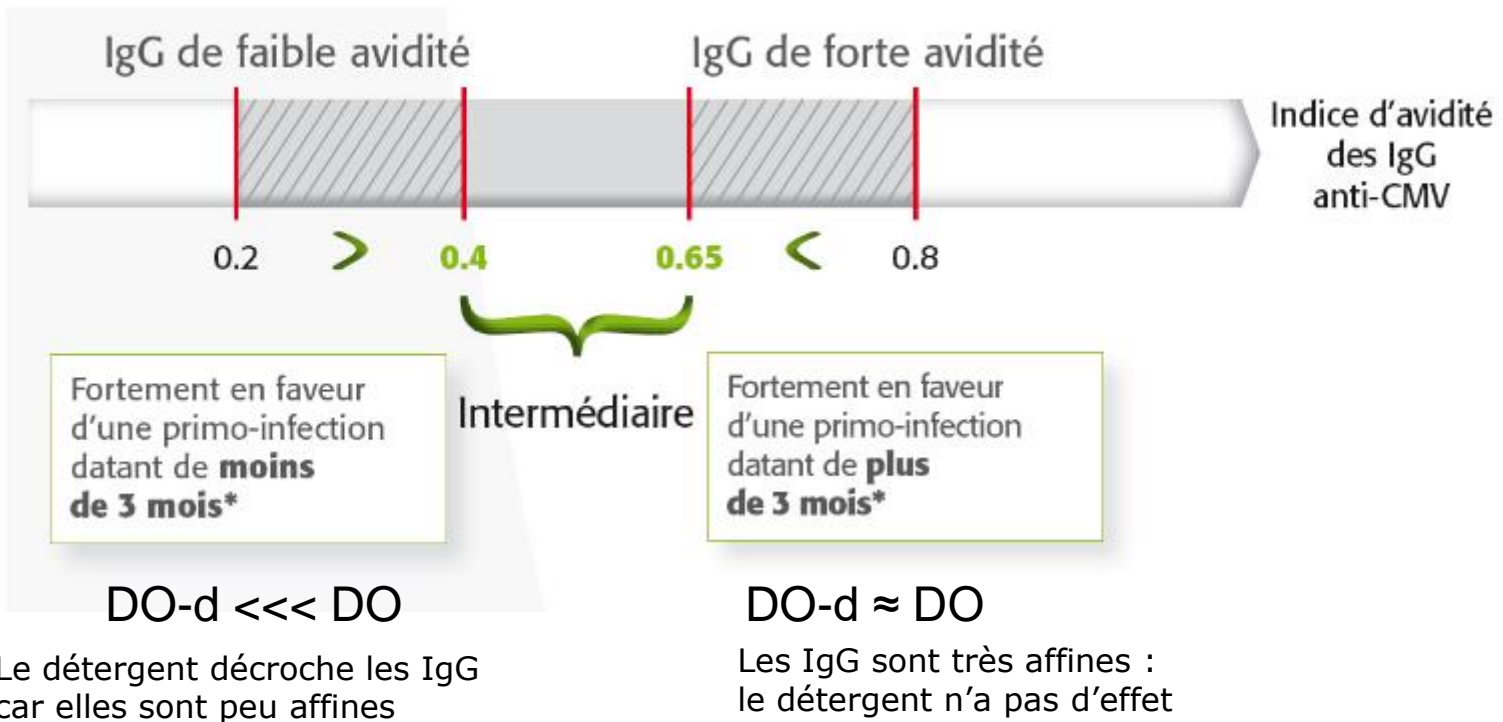
Baccard-Longere
Grangeot-Keros,
2001, Clin Diagn Lab Immunol

Index d'Avidité = affinité des IgG pour les antigènes v

- Mesure du taux d'IgG en présence
- Mesure du taux d'IgG en absence d'un agent dénaturant (urée)
- Rapport entre ces deux mesures (exprimé en %)

IA = DO en présence de détergent / DO sans détergent

IA = DO-d / DO



Pourquoi recherche-t-on une primo-infection en cas de suspicion d'infection MF ?

INFECTION MATERNO-FŒTALE À CMV

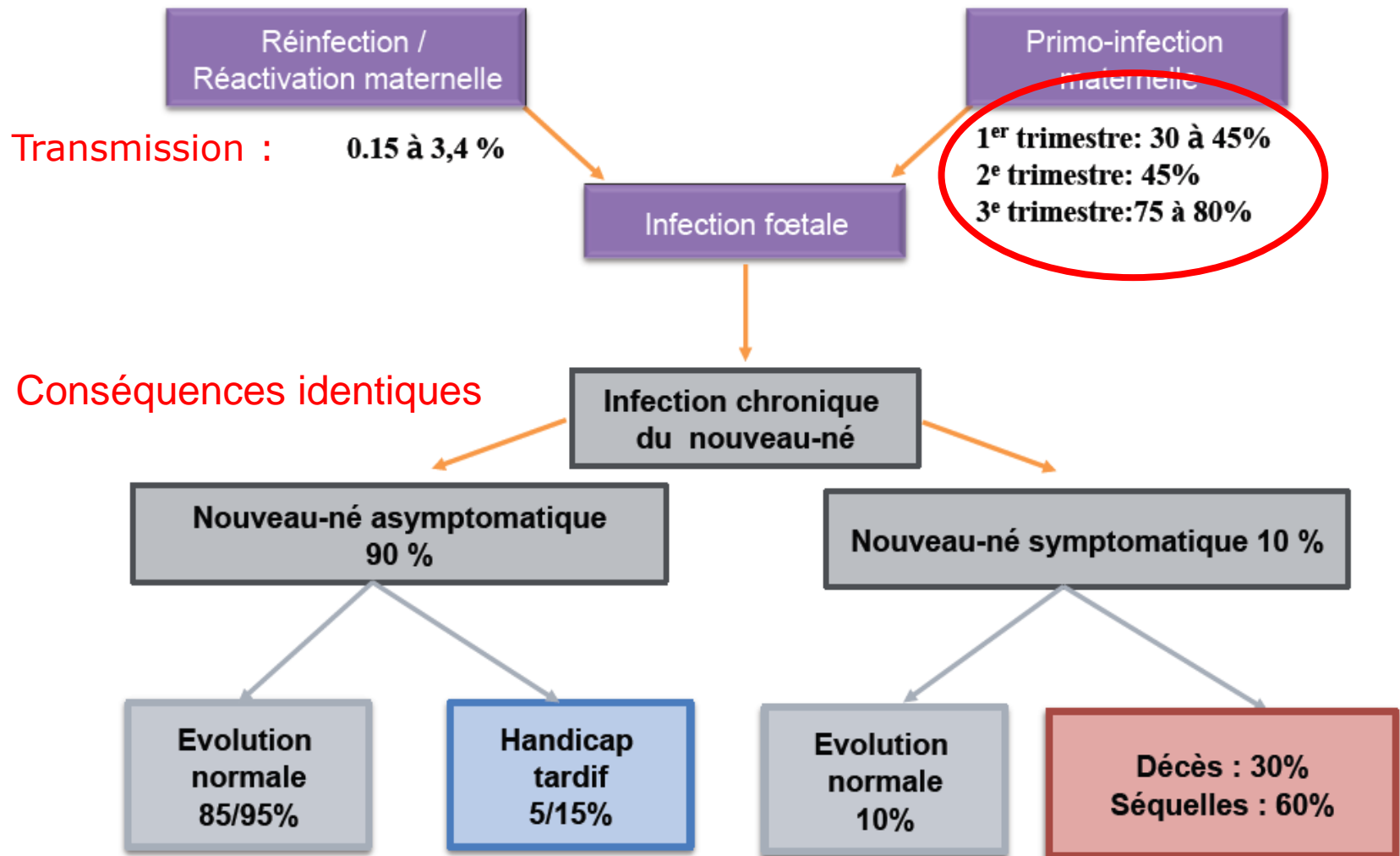
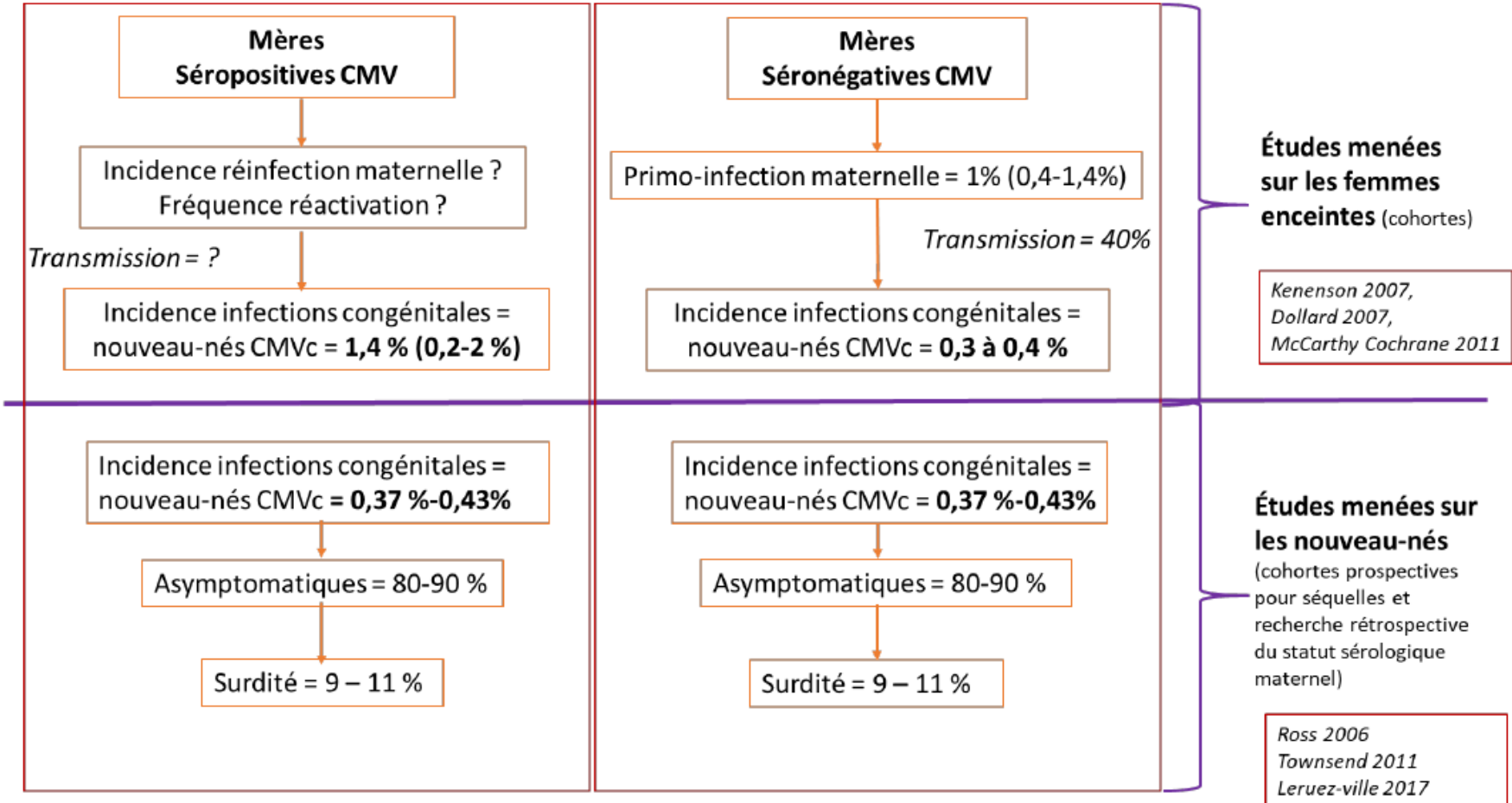


Figure 3-2 : Population source permettant l'estimation du risque d'infection congénitale à CMV en fonction du type d'infection maternelle.⁹



Le HCSP recommande :

- de diffuser largement les informations sur ces mesures d'hygiène par tous les canaux disponibles (professionnels de santé, campagnes de communication...);
- de ne pas dépister l'infection à CMV, ni chez la femme enceinte ni chez le nouveau-né
- de renforcer le repérage de ces infections chez la femme enceinte et le nouveau-né, et en particulier en cas de test douteux d'une seule oreille lors du dépistage néonatal systématique de la surdité.

Etant donné que :

- les mesures d'hygiène (éviter le contact avec la salive, les urines...) sont indispensables pour prévenir l'infection, elles sont recommandées pour toutes les femmes séropositives au CMV ou non (et leurs conjoints) ;
- en cas de transmission materno-fœtale, la fréquence, le risque et la gravité des séquelles sont identiques après primo-infection (mère séronégative en début de grossesse) ou infection secondaire (réinfection ou réactivation, mère séropositive en début de grossesse) ;
- actuellement, aucun traitement n'est disponible ni en prénatal, ni chez le nouveau-né asymptomatique ;
- l'infection congénitale à CMV sévère concerne une cinquantaine de cas par an ;
- la plupart des nouveau-nés infectés asymptomatiques à la naissance ne développeront pas de handicap, seuls 10% pourront développer une surdité jusqu'à l'âge de 5 ans.

Découverte =
fortuite

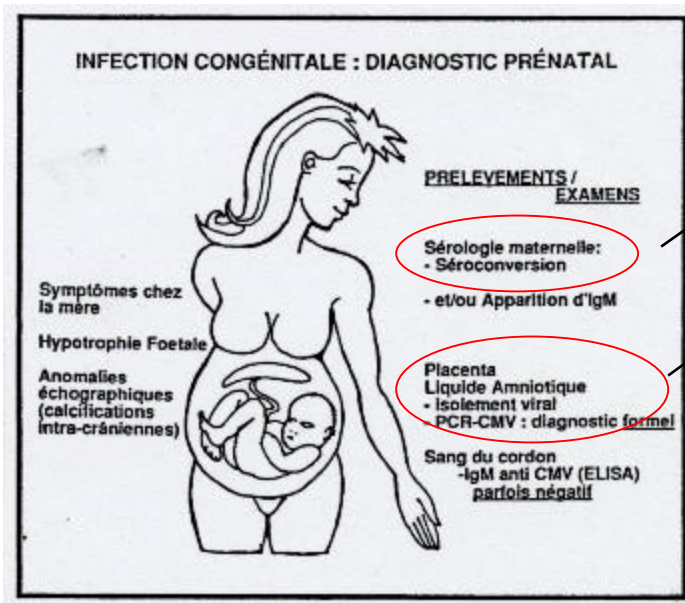
Signes cliniques chez la mère (asthénie, fièvre, céphalées ...)

Signes d'appel échographique

Diagnostic d'infection materno-fœtale de certitude :

→ Diagnostic direct

Diagnostic prénatal de certitude : qPCR sur LA



Index d'avidité des IgG
< 30% = infection récente

qPCR sur liquide amniotique

Physio-pathologie:

- Dissémination chez la mère
- Placentite (réservoir)
- Infection du liquide amniotique
- Inhalation – déglutition
- infection digestive/respiratoire
- Dissémination
- excrétion massive LA

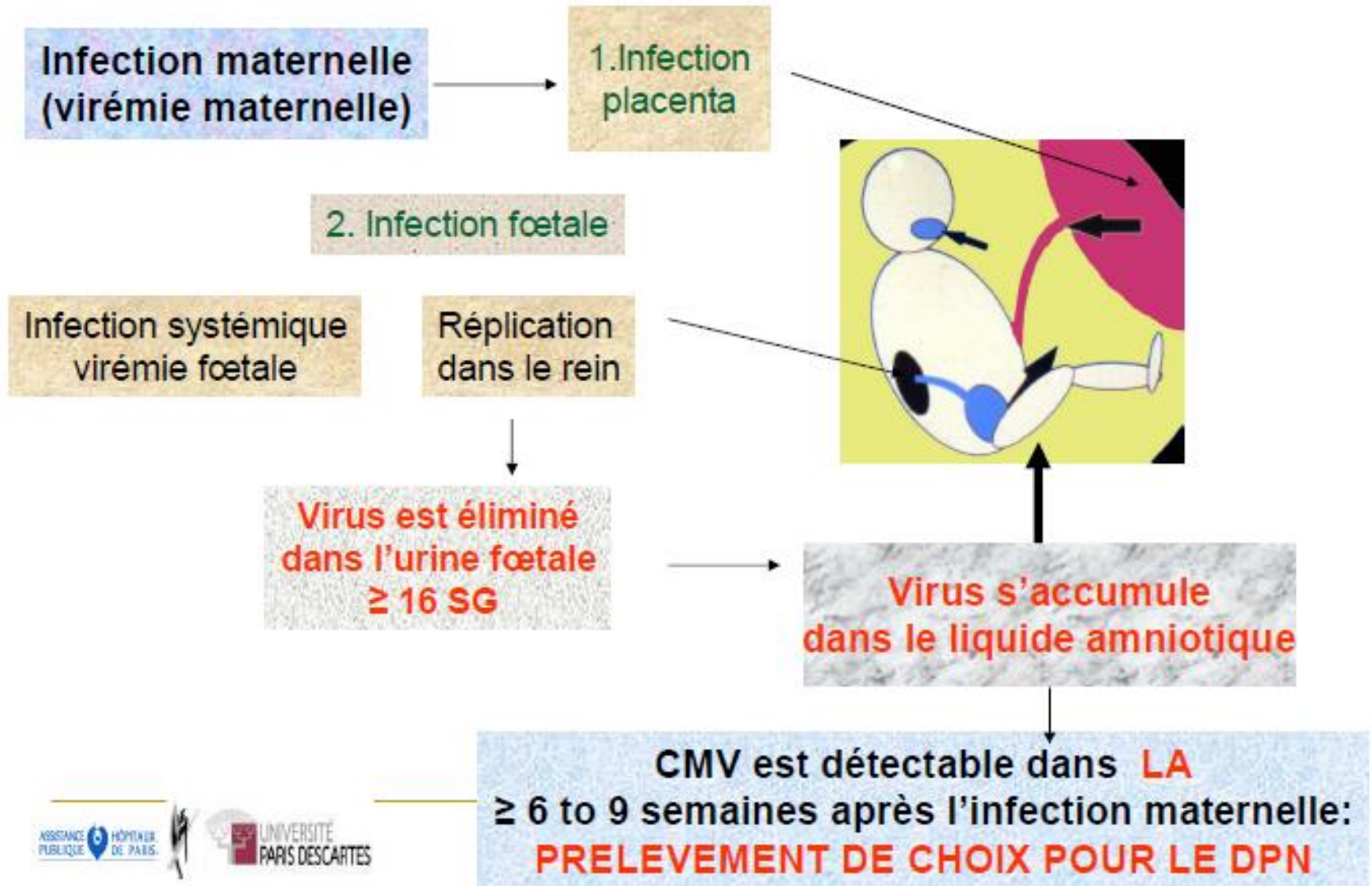
Attention :

Faux - : Amniocentèse réalisée avant 22SA = diurèse foetale pas bien établie

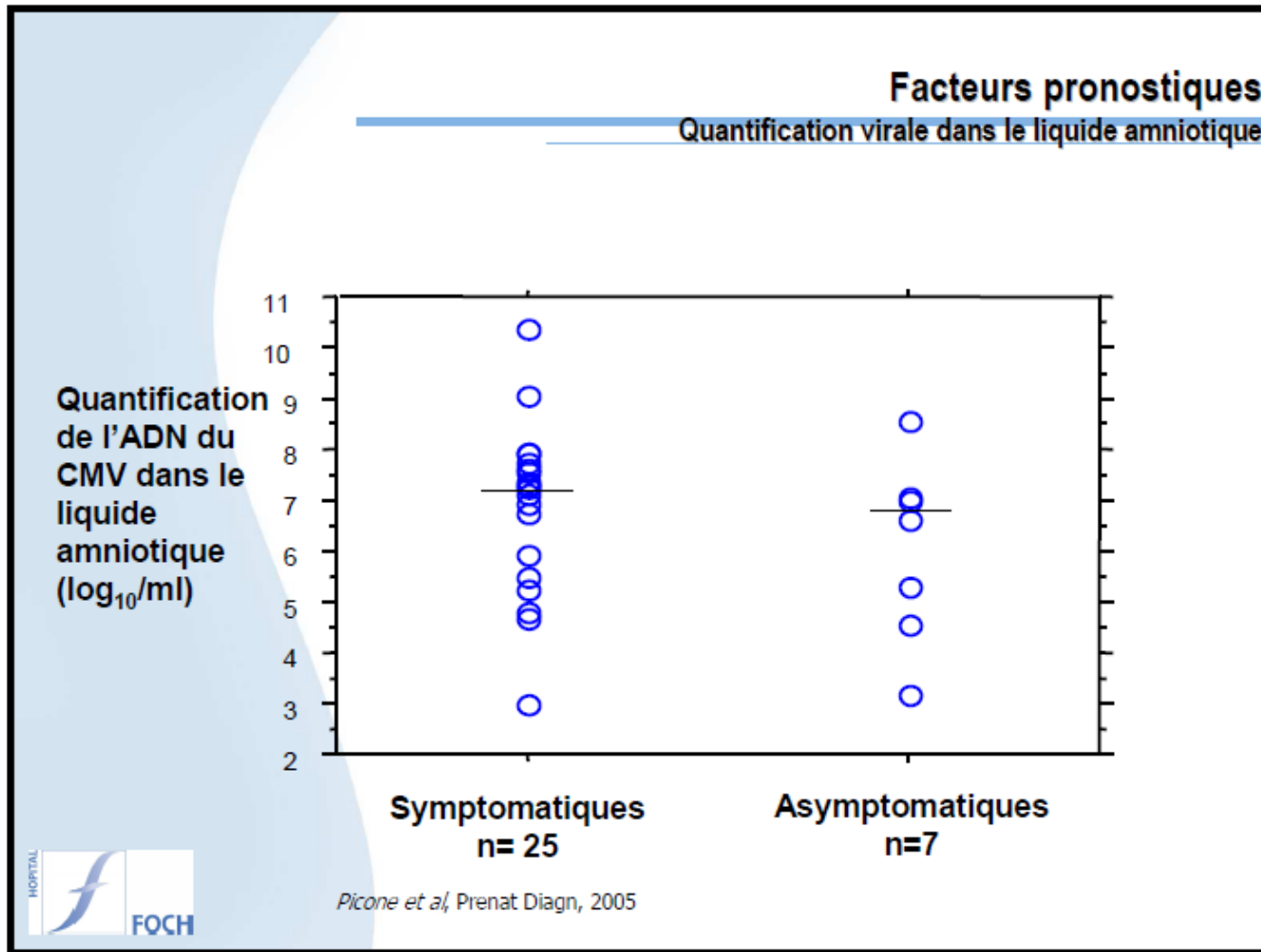
Faux + : principe de précaution : attendre que virémie soit -

→ contamination du LA par le sang maternel ?

Physiopathologie de l'infection fœtale

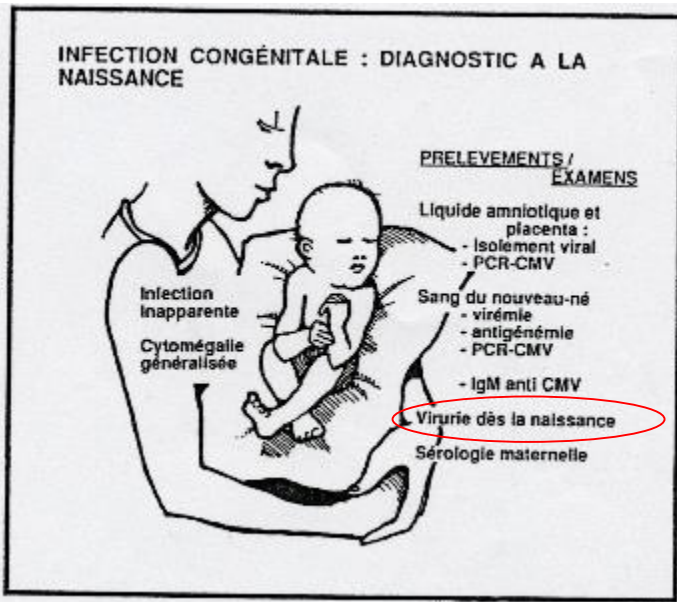


Rôle pronostique de la qPCR sur LA ?



Autres facteurs Pronostiques :

- Echographie cérébrale ?
- Âge gestationnel (avant 20SA) ?



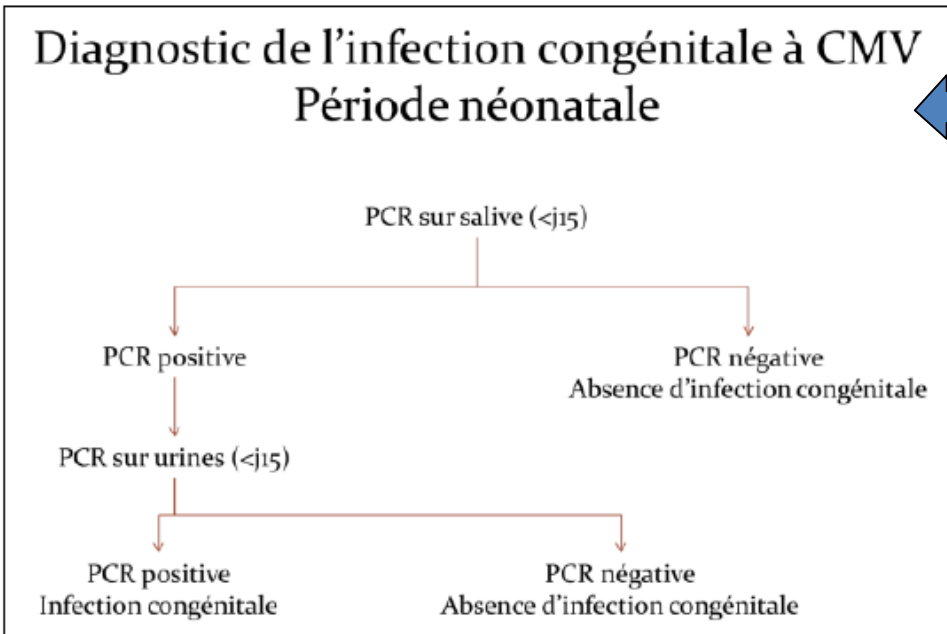
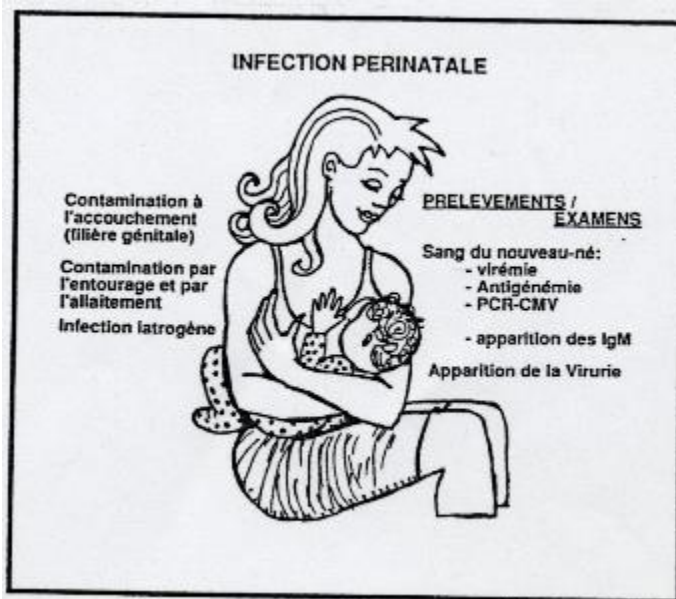
A la naissance :

-Δ Parfois virémie négative

- **Charge virale urinaire/salivaire**

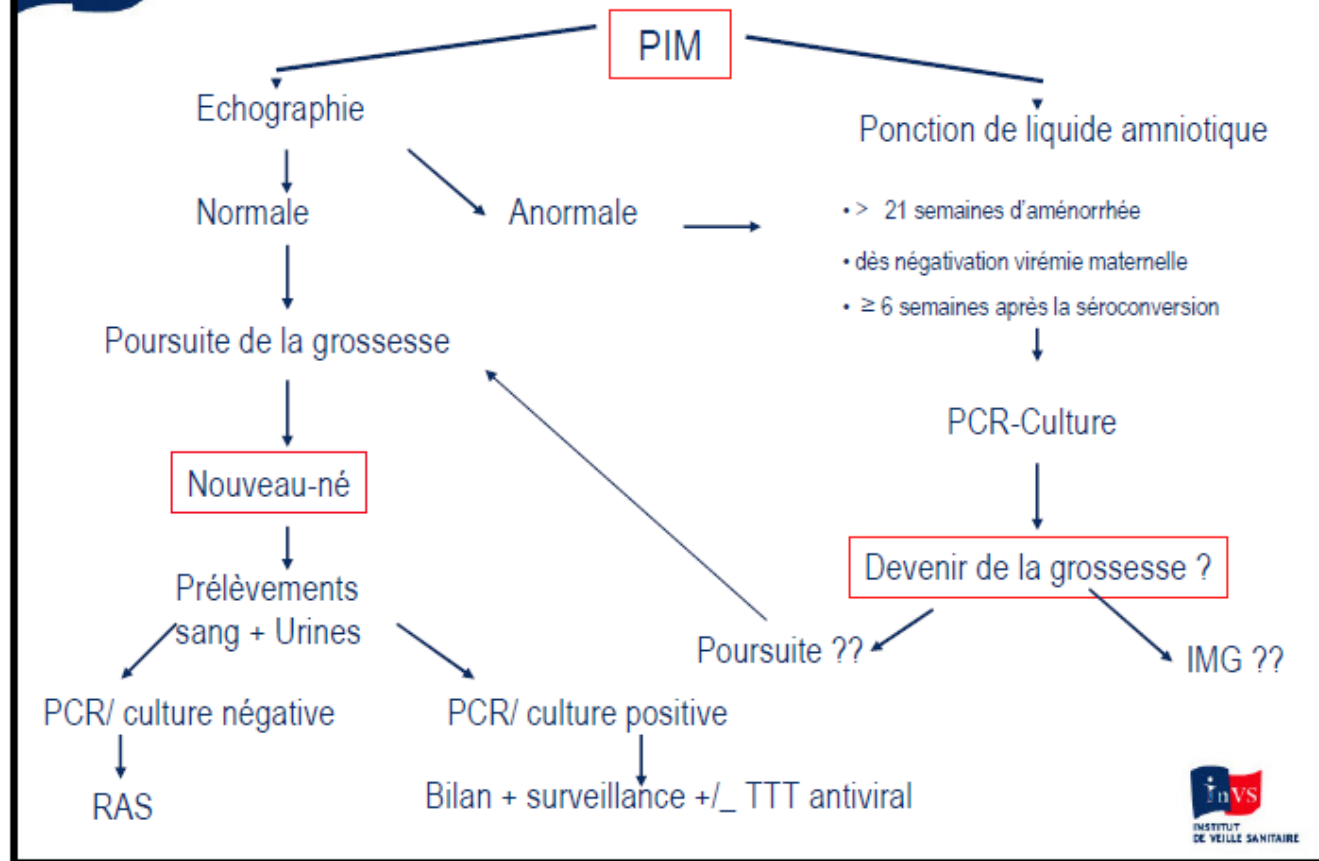
-Δ Parfois virus dans la salive provient du lait maternel

Figure 5-3 Diagnostic de l'infection congénitale à CMV en période néonatale²⁶



si charge virale + → suivi clinique jusqu'à l'adolescence

Surveillance de la grossesse en cas de PIM



Diagnostic de l'infection à
CMV chez
L'Immunodéprimé

Sérologie (Diagnostic virologique indirecte)

- Sérologie pré-greffe :

- IgG +
- IgM -



STOP

- Sérologie post-greffe :

- ↑↑ IgG +
- Réapparition des IgM

qPCR

Quantification des génomes CMV

- Sérologie pré-greffe :

- IgG -
- IgM -

- Sérologie post-greffe :

- Suivi sérologique permet le diagnostic de primo-infection
- qPCR généralement plus précoce

Sérologie (Diagnostic virologique indirecte)

- Apparition des IgM en primo-infection:

- ▣ Jusqu'à 15 jours/ 3 semaines après signes cliniques
- ▣ Pic \approx 3 mois
- ▣ Négativation 6 mois voire 1 an

Attention chez l'ID :

Séroconversion peut être retardée
IgM Peuvent persister longtemps
IgM Peuvent réapparaître si réactivation

- Apparition d'Ac hors contexte PI ou réactivation:

- IgM faible ou valeur seuil

- ▣ Possible faux positif
- ▣ Croisement avec IgM autre virus → recherche primo-infection virale
- ▣ Activation polyclonale non spécifique

- IgG

- ▣ Acquisition passive

qPCR (Diagnostic virologique directe)

charge virale sanguine=qPCR sur sang total

recommandée par consensus

→ Suivi chez l'immunodéprimé

- Sensibilité :
 - PCR Sang total > PCR plasma
- Spécificité
 - Faux + exceptionnels
- VPN : > 90 %
 - Parfois en échec : atteintes d'organe : colon, rétine
- VPP très peu de chiffres :
 - / infection : +++++
 - / maladie : seuil de prédictivité ?

Cut off thérapeutique pour le greffé :

Variable d'un centre à l'autre

Variable d'un service à l'autre (selon type de greffe)

Depuis 2011 :
existence d'un
standard
international

qPCR (Diagnostic virologique directe)

Recommandations internationales Greffe de cellules souches hématopoïétiques

- Surveillance virologique au moins hebdomadaire au cours des 100 jours après la greffe
→ 2 x / semaine possible si facteur de risque
- Surveillance prolongée de 6 à 12 mois en cas de GVH, immunodépression T intense
- Méthodes = charge virale par qPCR → standard international : UI
- Seuil d'intervention : dépend de la méthode utilisée et du compartiment sanguin analysé (seuil plus bas si plasma)

Dans les dernières reco HSCT US : distinction seuil « low risk » et « high risk »

qPCR (Diagnostic virologique directe)

Recommandations internationales en transplantation d'organe

- ❑ Prélèvements hebdomadaires après greffe pendant 3-4 mois
- ❑ Suivi virologique : préférer qPCR
- ❑ Cinétique de charge virale : Plasma ou sang total
résultats exprimés en UI par ml
- ❑ Seuil d'intervention à établir localement
- ❑ Considérer l'augmentation de la charge virale entre deux prélèvements : ($\geq 0,5 \log_{10}$ et $\geq 0,7 \log_{10}$ pour les valeurs < 1000 UI/mL)

qPCR (Diagnostic virologique directe)

Précision / Variabilité

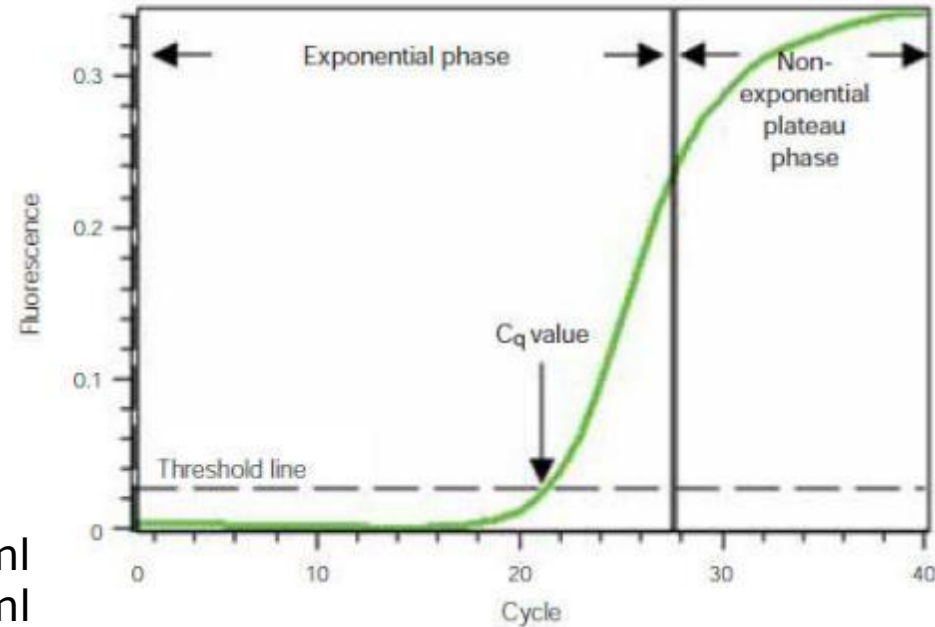
- A chaque cycle de température
Nombre de génome du CMV = x2
- Mesure un nombre de cycle (Ct)
Précision de 1 à 2 Ct :

□ Exemple 1

200 copies/ml	2,3 log copies/ml
X 2 → 400 copies/ml	2,6 log copies/ml
X 2 → 800 copies/ml	2,9 log copies/ml

□ Exemple 2

20 000 copies/ml	4,3 log copies/ml
X 2 → 40 000 copies/ml	4,6 log copies/ml
X 2 → 80 000 copies/ml	4,9 log copies/ml



Variabilité de la technique
= 0,5 log à 0,7 log

qPCR (Diagnostic virologique directe)

Limite de détection

- Limite de détection = 200 – 500 copies/mL
 - Valeur de CV détectée dans 95% des cas
 - Valeur de CV **NON** détectée dans 5% des cas

- CV > seuil peuvent exceptionnellement ne pas être détectée (5% des cas)
CV < seuil sont souvent détectées
 - Exemple de cinétique possible
Mr FB de cardio :
1000 – 0 – 3000 – 1000 – d – 200 – 0 copies/mL
Signe d'absence de clairance virale
Résistance au TTT (voir plus loin)

qPCR (Diagnostic virologique directe)

Cinétique virale et réponse au TTT

- Plus la CV progresse vite, plus la survenue de la maladie est probable (Emery et al Lancet 2000) → 0.1 log / jour = risque de maladie x2
- Pendant le traitement
 - CV se négative en 15-21 jour (GCV IV= 19 j, VGCV = 21 j) (Hanz, JAC, 2010)
→ Voir plus long si CV initiale > 50 000 UI/mL
 - Importance de la pente de la courbe de décroissance virale :
 - 0.5 log/ semaine = OK → charge virale : 1x/sem
 - Pente peut être moins importante la 1^{ère} semaine de TTT
 - Plus la CV décroît lentement, plus il y a risque de rechute (Humar et al JID, 2002)
 - Absence de clearance virale = ↑ risque de rechute

Poursuivre le traitement jusqu'à négativation de la charge virale sur deux examens consécutifs réalisés à 1 semaine d'intervalle

qPCR sur autres liquides biologiques et tissus

Compartiments dans lesquels le virus est normalement absent

- LCR → si atteinte neurologique
- HA → si rétinite
- LA → si suspicion d'infection congénitale
→ **Interprétation de la CV quantitative ?**

Compartiments dans lesquels le virus est présent à l'état latent

- biopsie digestives → si colite
- Biopsies pulmonaire → si pneumopathie
- LBA → si pneumopathie
- urine → ?
→ **Importance de la CV quantitative, mais interprétation ?**
→ **A rapproché de la CV sanguine et de la sérologie**

Biopsies : copies/ μ g \neq liquides biologiques : copies/mL

-Si Atteinte d'organe : **Histopatho** nécessaire (Kotton et al 2013, 2018)

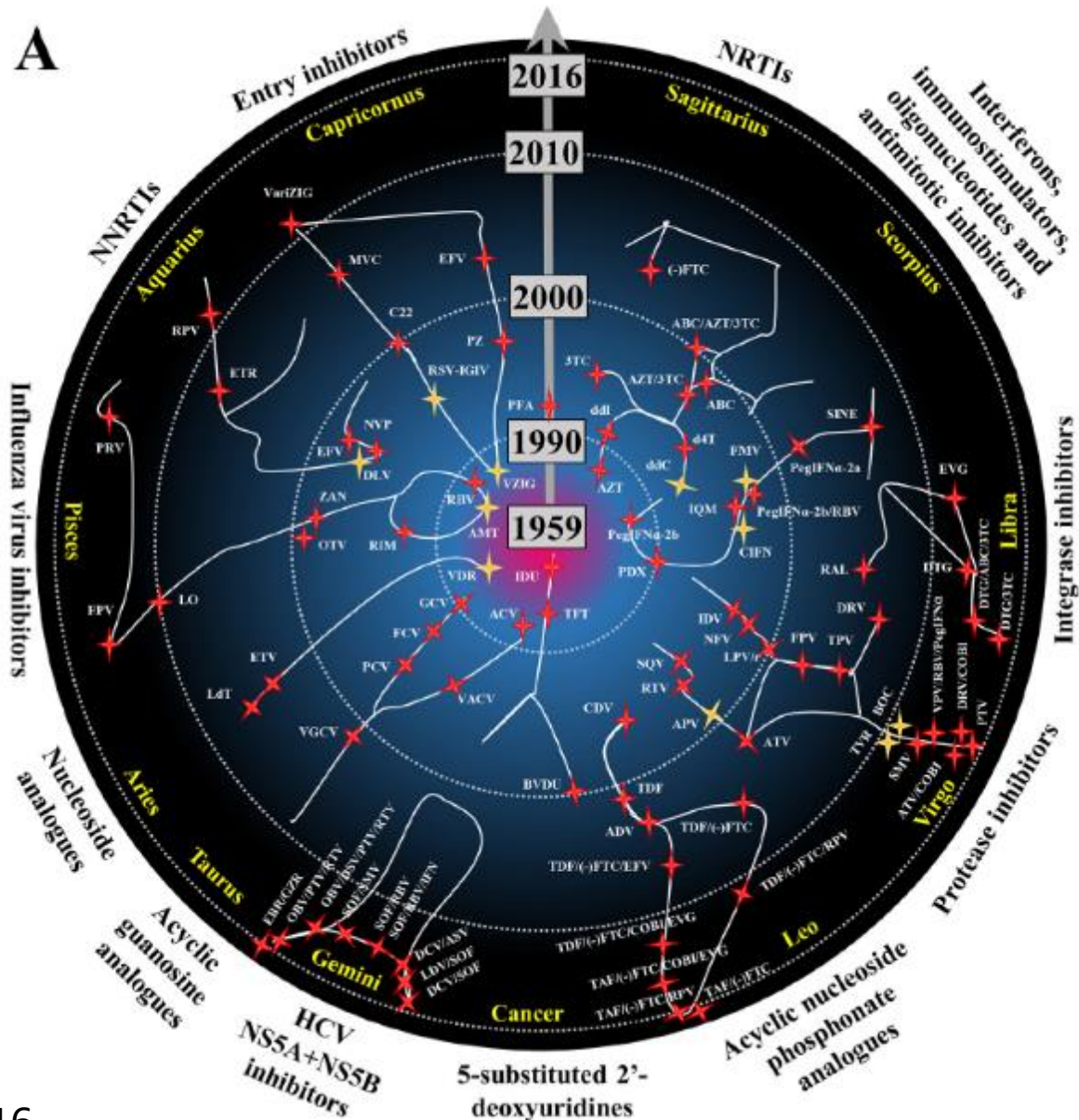
→ PCR tissue recommandée sur biopsies digestives mais signification « ? » si CV faible (Kotton et al 2013, Yong 2021)

-PCR sur LBA et HAQ +/- LCR (T rare) : utiles

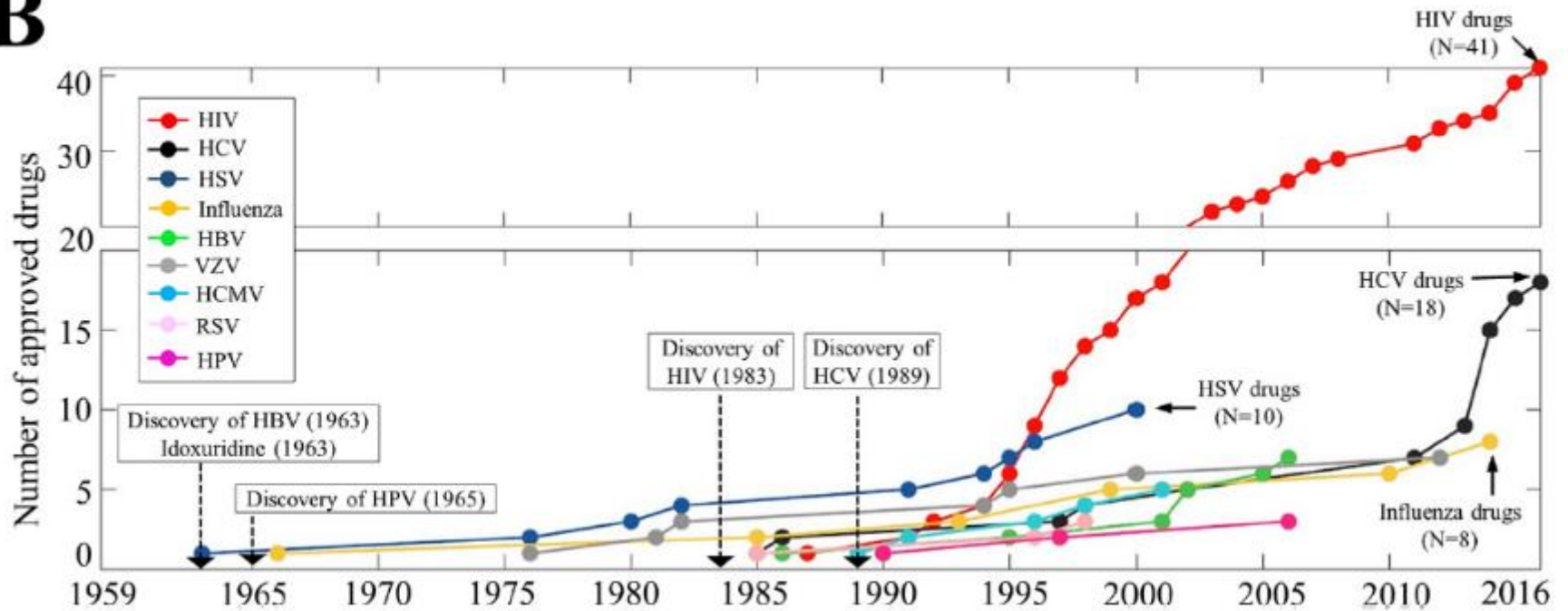
Méthodes de Diagnostic : résumé

	Clinique	Sérologie	PCR	Histologie
Primo-infection	+/-	IgM Avidité IgG+	+	+/-
Infection latente	-	IgG	+/-	-
Réactivation	-	-	+	-
Maladie CMV	++	+/-	++	+

Molécules anti-CMV



De Clercq 2016

B

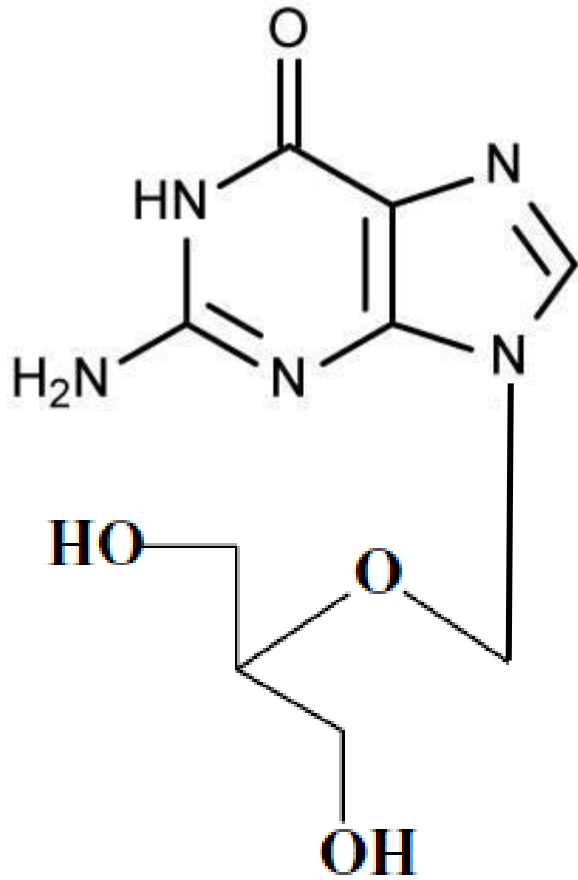
De Clercq 2016

Antiviraux au sens large ...

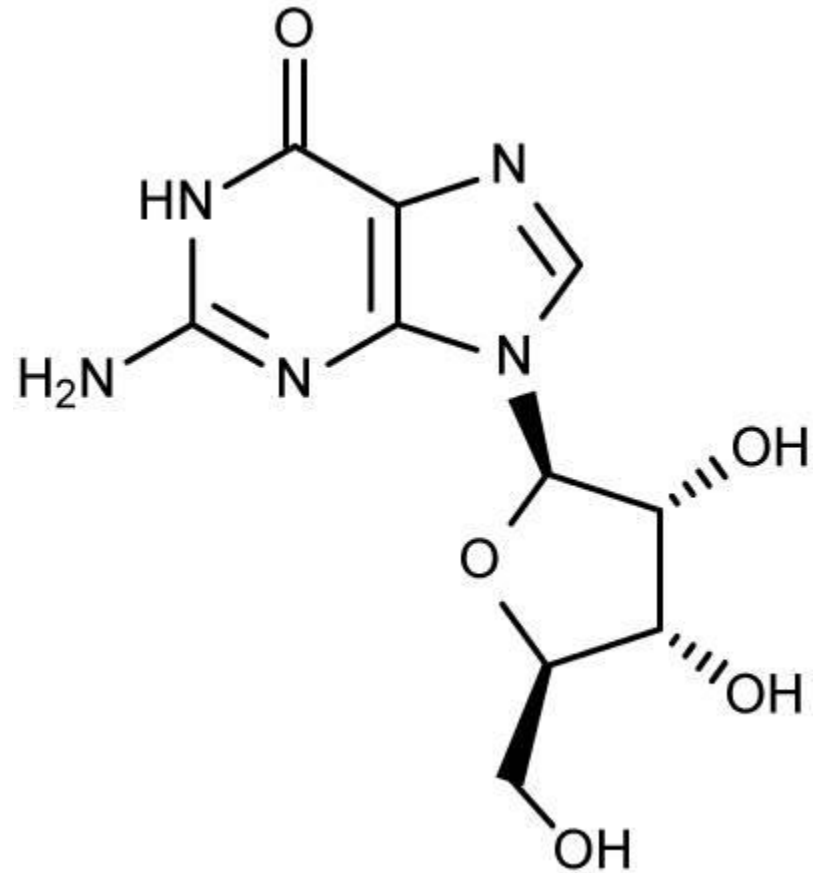
- Virucides :
 - Détergents
 - UV
 - Cryothérapie
- Anti-réplication :
 - Molécules utilisées en systémique
- Agents immunologiques
 - Immunomodulateurs : Interférons, imiquimod
 - Transfert passif d'immunité adaptative :
 - Immunoglobulines
 - Lymphocytes T

Ganciclovir

- Analogue de la guanosine



Ganciclovir



Guanosine

Ganciclovir

- Analogue de la guanosine
- Phosphorylations avant action sur l'ADN polymérase
 - Par une thymidine kinase virale dans les cellules infectées (gène *ul97* pour le CMV) puis par 2 kinases cellulaires
 - [P-GCV] : 10 fois supérieure dans les cellules infectées par le CMV
- Interférence avec la polymérisation de l'ADN
 - Ralentissement puis arrêt
- Activité sur cellules infectées par le CMV 10 fois supérieure à celle de l'aciclovir

Ganciclovir

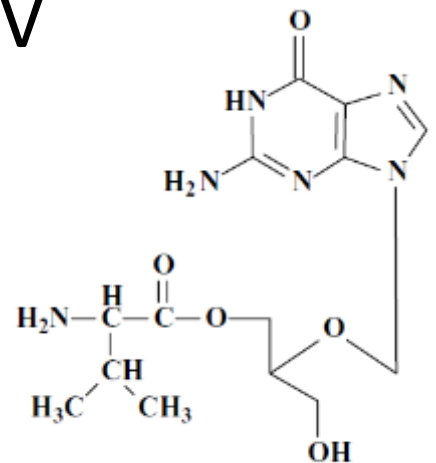
- Pharmacocinétique :
 - Faible liaison protéique
 - Biodisponibilité : GCV : 5-10%
 - Diffusion LCR : 40-70%, oculaire : 100%
 - Excrétion urinaire
 - Demi-vie : 2-4h

Ganciclovir

- Toxicité :
 - Neutropénie (20-40%), thrombopénie (20%)
 - Après 1 semaine de traitement généralement
 - Survenue même sans surdosage
 - La même concentration est inhibitrice sur les cellules infectées et sur les progéniteurs médullaires
 - Encéphalopathie (5-10%)
 - Mutagène et Tératogène
- Indications
 - Infection à CMV : thérapeutique

Valganciclovir

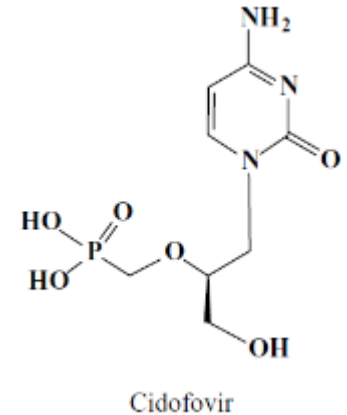
- Ester de valine du ganciclovir
- Biodisponibilité 60% (meilleure avec les repas)
- Taux de GCV après prise orale comparable au taux après perfusion de GCV
- 900mg de V-GCV = 5mg/kg de GCV IV



Valganciclovir

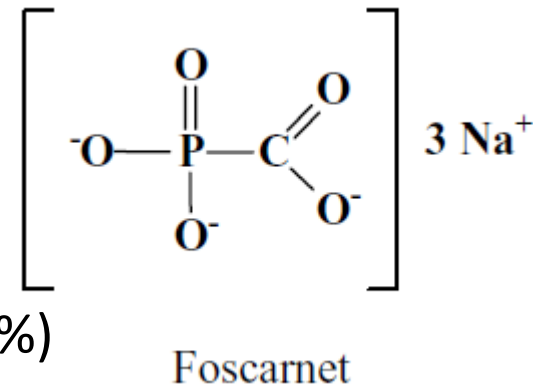
Cidofovir (Vistide)

- Analogue de la cytidine
 - Phosphorylation par les kinases cellulaires
- Demi-vie 17-65 heures
 - Perfusion hebdomadaire (hyperhydratation/probénicide)
- Faible fixation protéique, bonne diffusion
- Spectre : tous les herpesviridae
- Élimination urinaire
- Toxicité :
 - Atteinte tubulaire proximale +++
 - Protéinurie, glycosurie, insuffisance rénale
 - Neuropathie, uvéite
 - Baisse de la pression oculaire

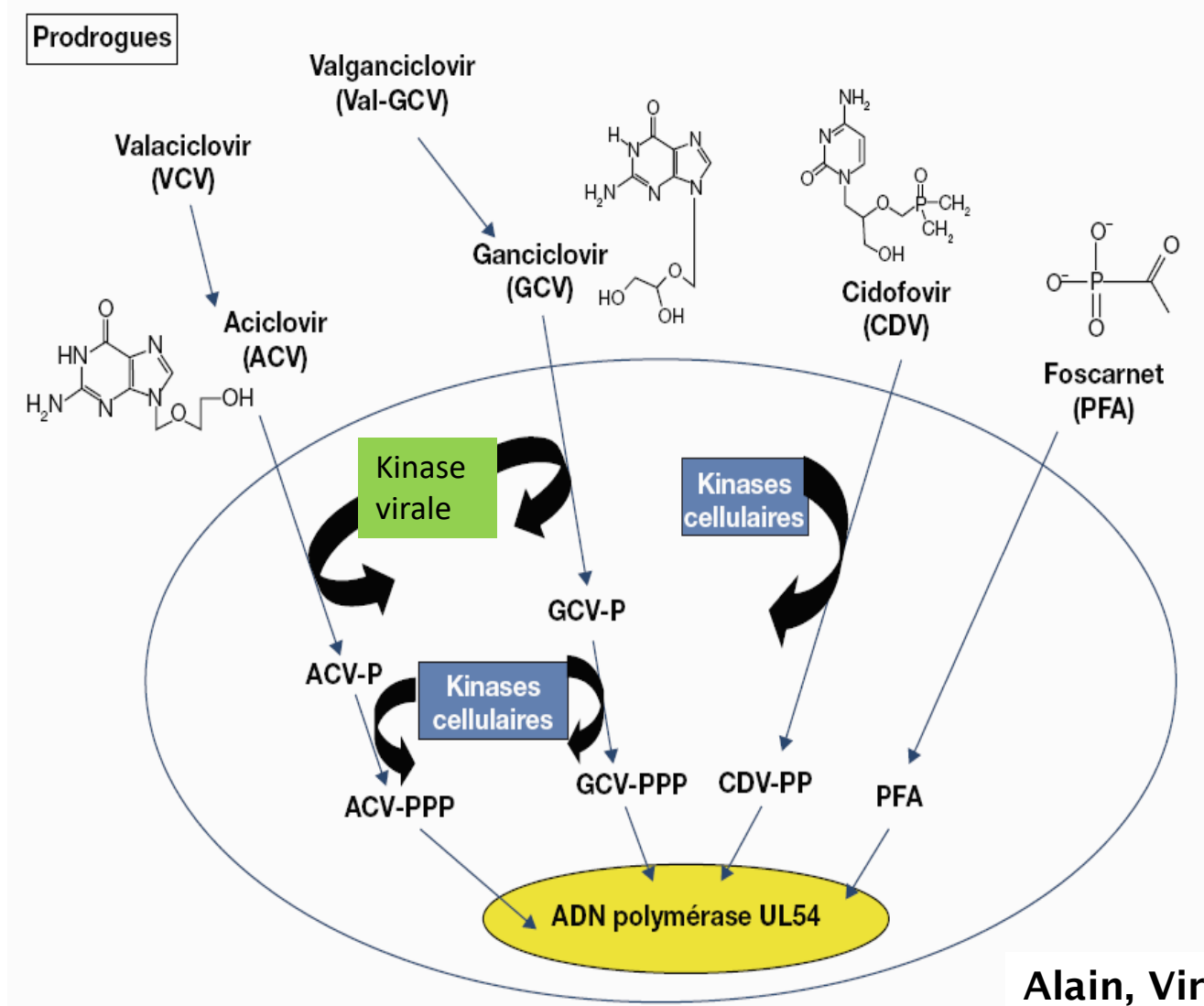


Foscarnet

- Pas de métabolisation nécessaire en intracellulaire
- Inhibition directe des ADN polymérases virales
 - Analogue pyrophosphate
 - Compétition avec la liaison des nucléotides
 - Affinité 100 fois plus importante qu'avec l'ADN polymérase humaine
- Spectre : tous les herpesvirus
 - Sans résistance croisée avec les analogues nucl.
- Pharmacocinétique
 - Biodisponibilité : 5-10%
 - Excrétion rénale
 - Demi-vie : 4-8h
 - Bonne diffusion cérébrale (66%) et oculaire (140%)
- Toxicité :
 - Rénale : tubulopathie
 - Hypocalcémie, hypokaliémie, dysphosphatémie
 - Ulcérations génitales (mucite de contact)



Mode d'action des anti-herpesviridae

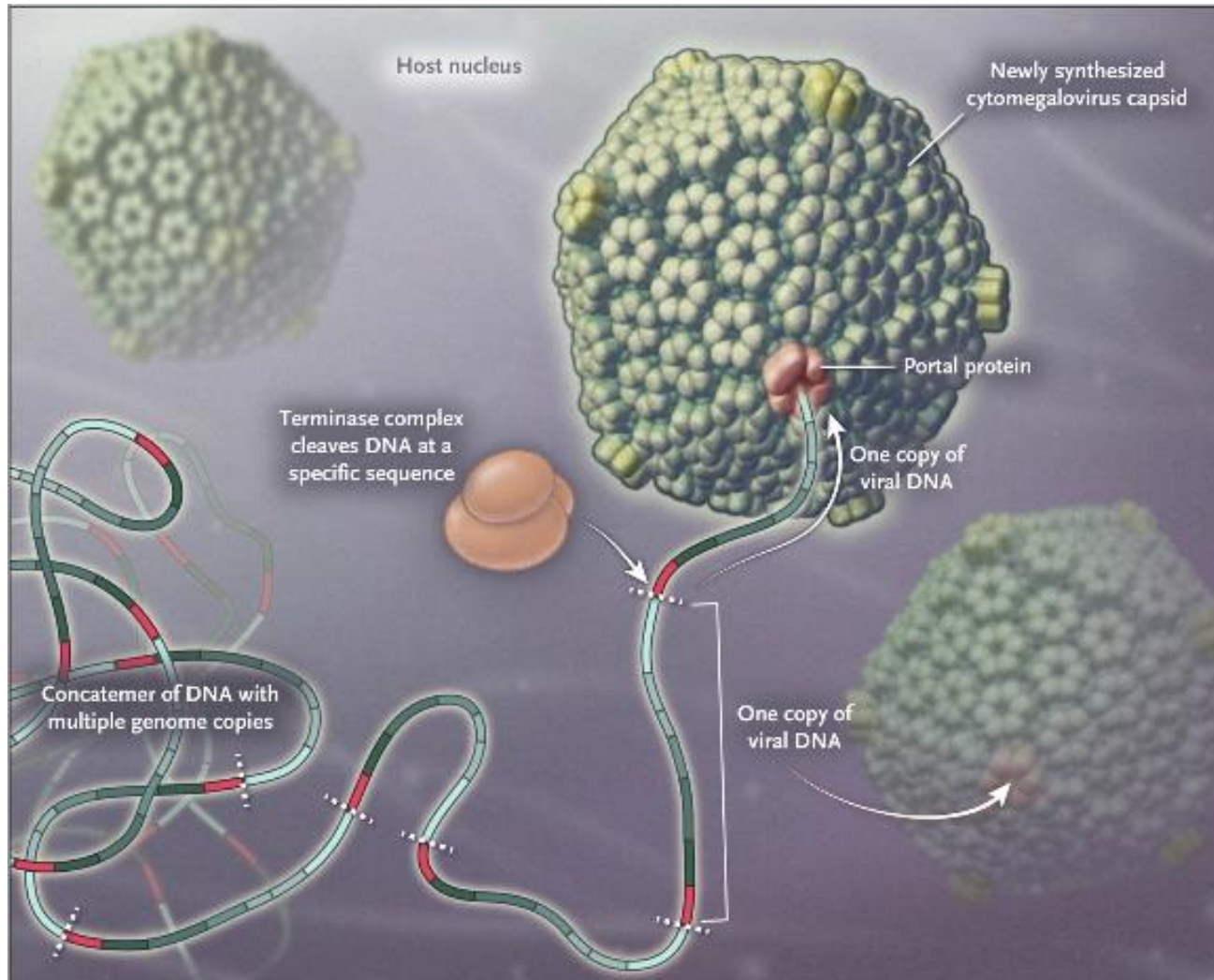


Affinité analogue > substrat naturel

Maribavir

- Cible : UL97 (phosphorylase des nucléotides)
- Développement initial en prophylactique
 - Mais probablement sous-dosé
- Développement actuel en curatif
 - En particulier en cas de résistances
- L'avenir du traitement anti-CMV de 1^{ère} intention ?
 - Bonne biodisponibilité
 - Faible toxicité

Létermovir



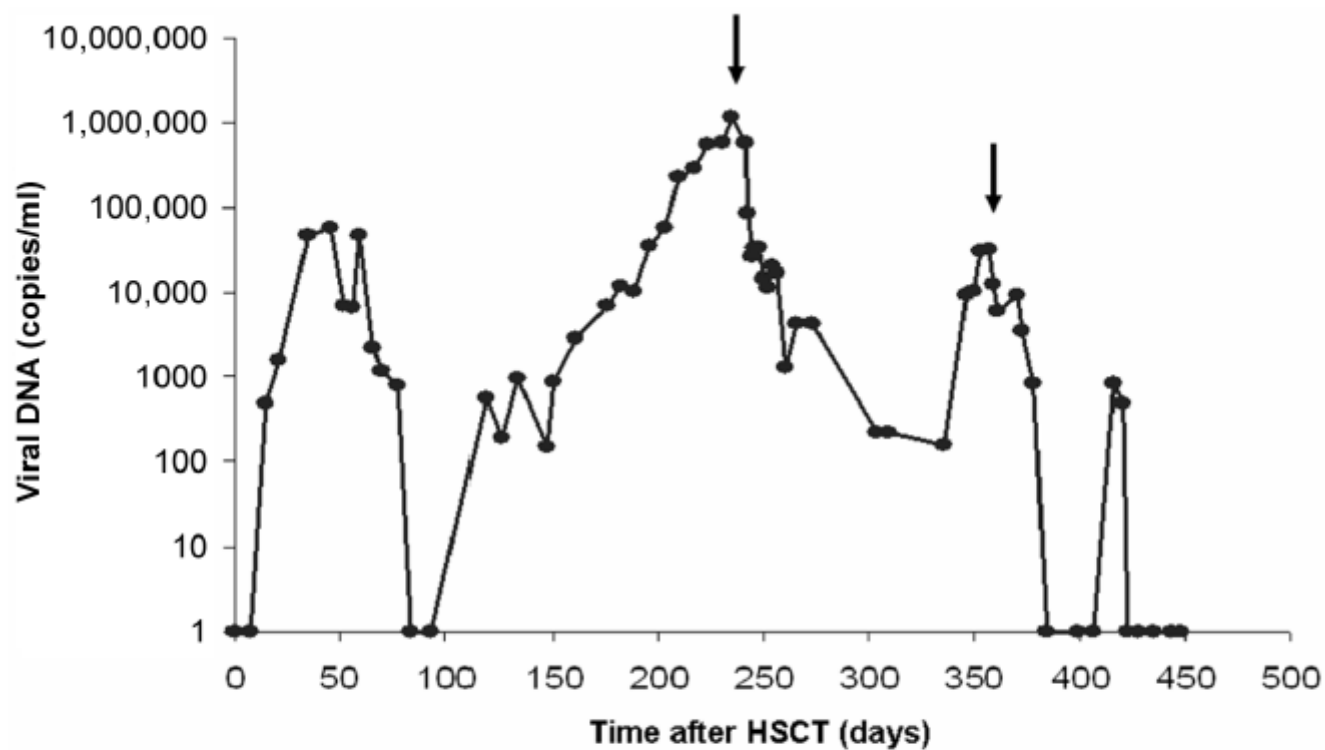
Létermovir

- Cible : complexe terminase
- Usage actuel en prophylactique en greffe de CSH
 - Et on commence à l'utiliser hors AMM en curatif ...
- Tolérance et biodisponibilité satisfaisante

Artesunate as a Potent Antiviral Agent in a Patient with Late Drug-Resistant Cytomegalovirus Infection after Hematopoietic Stem Cell Transplantation

**Michael Y. Shapira,¹ Igor B. Resnick,¹ Sunwen Chou,³
Avidan U. Neumann,² Nell S. Lurain,⁴ Thomas Stamminger,⁵
Orit Caplan,¹ Niveen Saleh,¹ Thomas Efferth,⁶ Manfred Marschall,^{5,a}
and Dana G. Wolf^{1,a}**

CID 2008





Short Communication

Success and failure of artesunate treatment in five transplant recipients with disease caused by drug-resistant cytomegalovirus



R. Germa^{a,b,*}, C. Mariette^c, S. Alain^d, J. Lupo^{a,b}, A. Thiebaut^e, J.P. Brion^c, O. Epaulard^{a,b,c}, C. Saint Raymond^f, P. Malvezzi^g, P. Morand^{a,b}

^a Department of Virology, University Hospital, Grenoble, France

^b Unit of Virus-Host Cell Interactions UM63 UMS 13P-FRAN-CRMS, B.P. 187, 6, rue Jules Horowitz, 38047 Grenoble Cedex 9, France

^c Department of Infectious diseases, University Hospital, Grenoble, France

^d Department of Virology, French National Cytomegalovirus Reference Center, University Hospital, Limoges, France

^e Department of Hematology, University Hospital, Grenoble, France

^f Department of Pneumology, University Hospital, Grenoble, France

^g Department of Nephrology, University Hospital, Grenoble, France

R. Germa et al. / Antiviral Research 101 (2014) 57–61

59

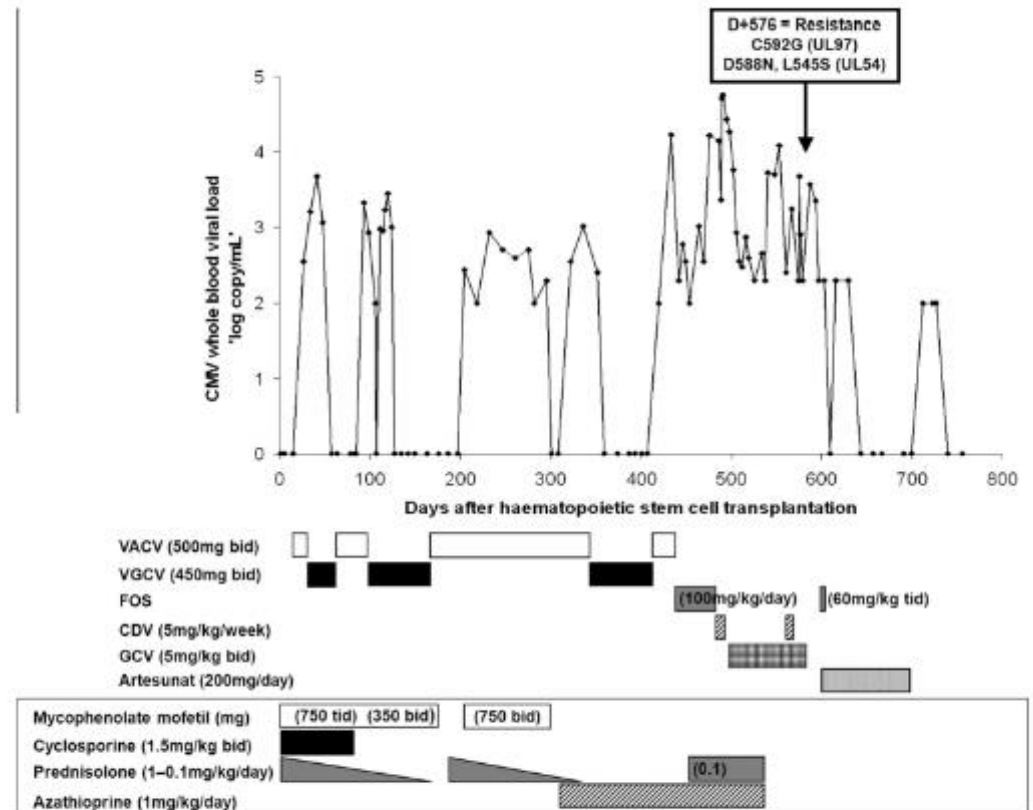


Fig. 1. Follow-up of CMV DNA load and associated antiviral treatment in a haematopoietic stem cell transplant recipient with multidrug-resistant CMV strain (patient 1). VACV, valaciclovir; VGCV, valganciclovir; FOS, foscarnet IV; CDV, cidofovir IV; GCV, ganciclovir, artesunate (temporary approval). D + 576, 576 days after transplantation. Resistance, presence of three resistance mutations, one in the UL97 gene (C592G) responsible for ganciclovir resistance and two in the UL54 gene (D588N, L545S) responsible for foscarnet and cidofovir resistance, respectively. Three-drug resistance was confirmed by a phenotypic assay.

Stratégies thérapeutiques chez l'immunodéprimé

Prévention des infections à CMV en greffe d'organe solide

- Éviter les mismatch CMV D/R si R-
- Épargne des immunosuppresseurs
- Éviter les primo-infections sur transfusion (produits déleucocytés)
- Anti-viraux : plusieurs schémas possibles

Utilisation des antiviraux contre l'infection à CMV chez l'immunodéprimé

Préventif

Prophylaxie Universelle

Prophylaxie identique chez tous les transplantés

Prophylaxie ciblée

patients à haut risque : D+/R- ou situation à risque (tt rejet)

Peu d'études comparatives des 2 stratégies

Utilisation des antiviraux contre l'infection à CMV chez l'immunodéprimé

Préventif

Prophylaxie Universelle

Prophylaxie identique chez tous les transplantés

Prophylaxie ciblée

patients à haut risque : D+/R- ou situation à risque (tt rejet)

Curatif

Traitement Préemptif

Traitement précoce si infection à CMV asymptomatique (PCR CMV +)

Traitement curatif

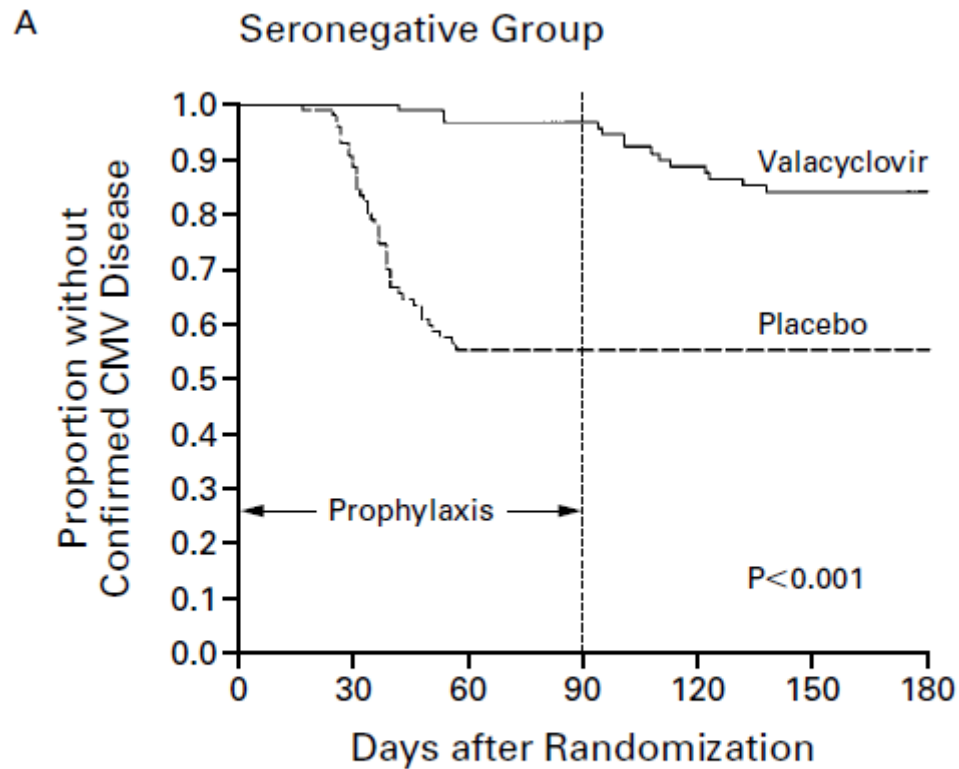
Traitement d'une maladie à CMV (symptomatique)

Peu d'études comparatives des 2 stratégies

Prophylaxie anti-CMV

- Avantages
 - Plus simple
 - Moins d'infections
 - Moins de perte de greffon ?

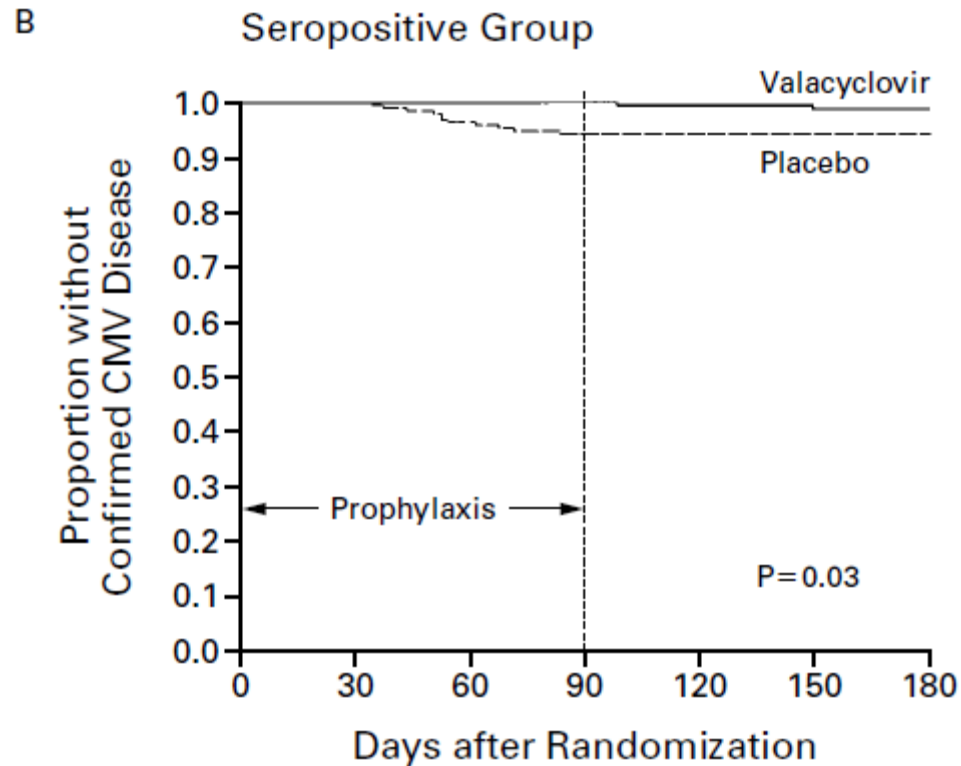
CMV & SOT : maladie à CMV



No. AT RISK

Valacyclovir	102	87	56
Placebo	106	47	36

CMV & SOT : maladie à CMV

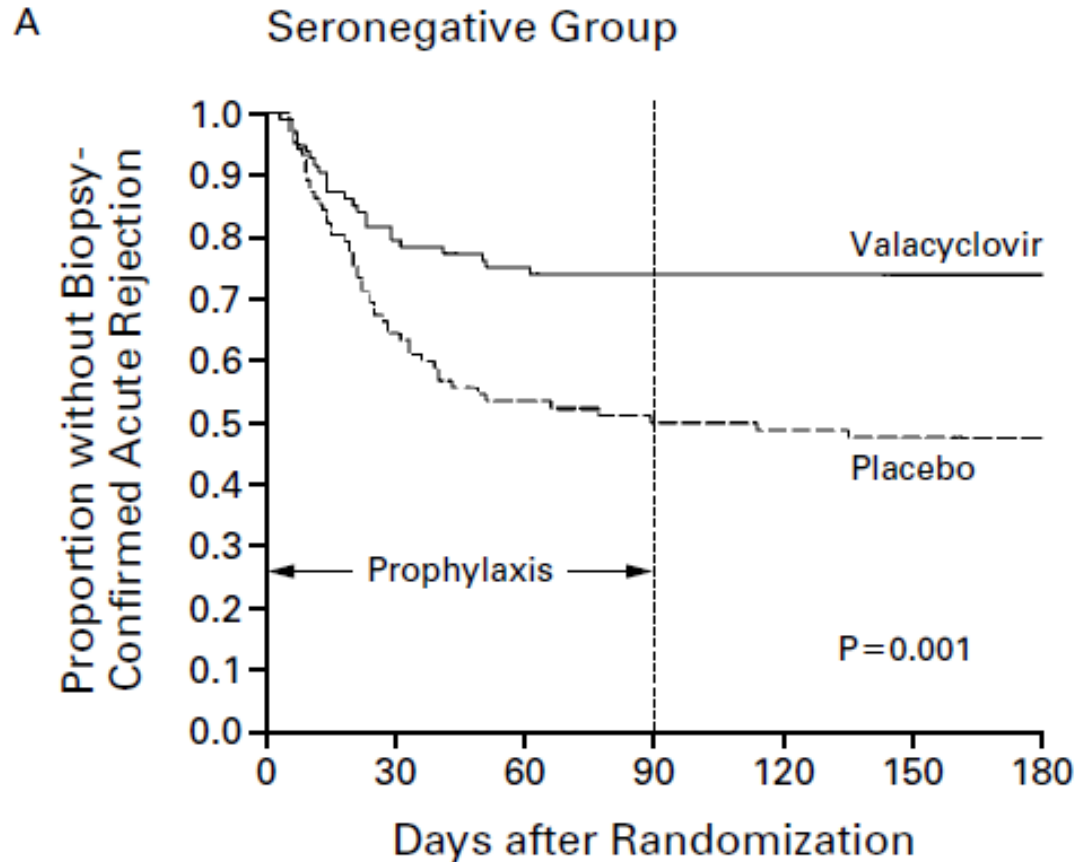


NO. AT RISK

Valacyclovir	204	170	128
Placebo	204	171	123

Figure 1. Kaplan–Meier Estimates of the Proportions of Patients without Laboratory-Confirmed CMV Disease in the Seronegative Group (Panel A) and the Seropositive Group (Panel B).

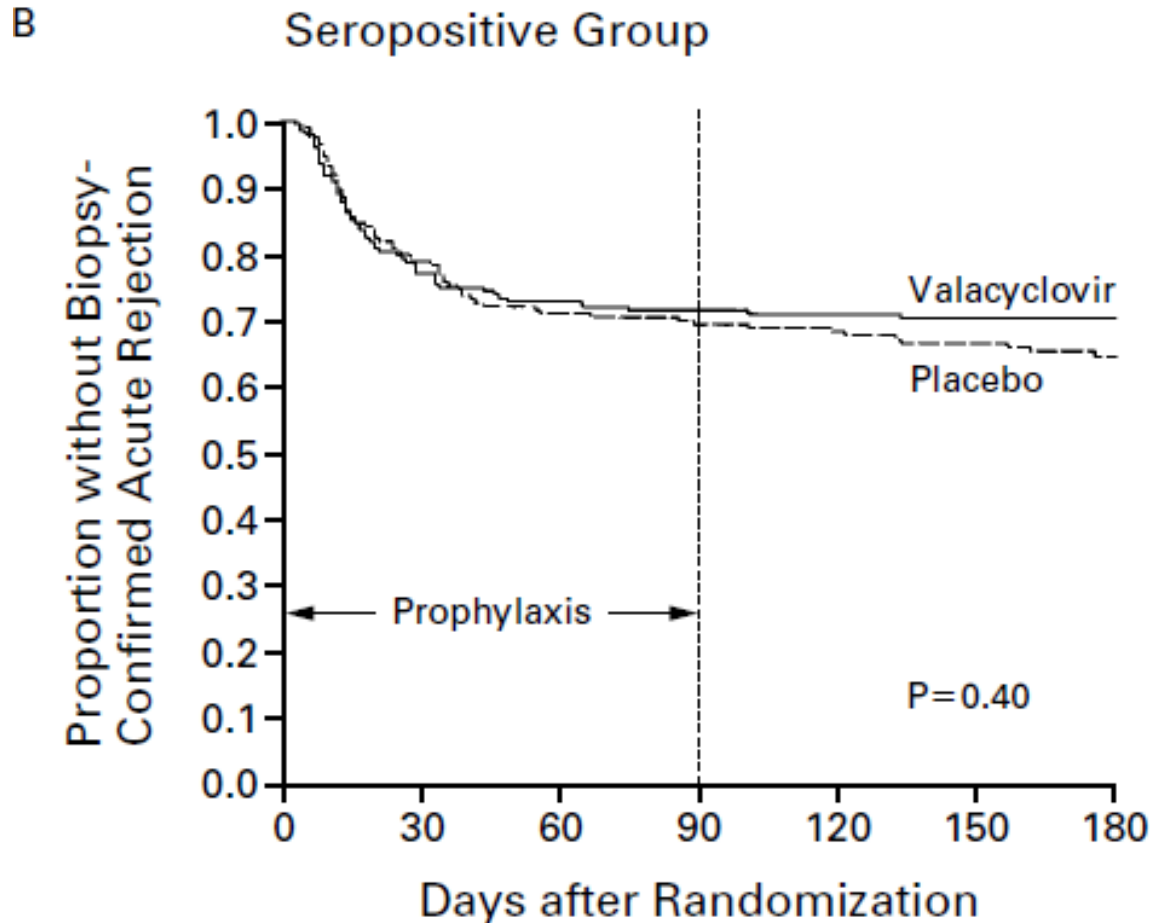
CMV & SOT : rejet d'organe



NO. AT RISK

Valacyclovir	102	66	46
Placebo	106	42	23

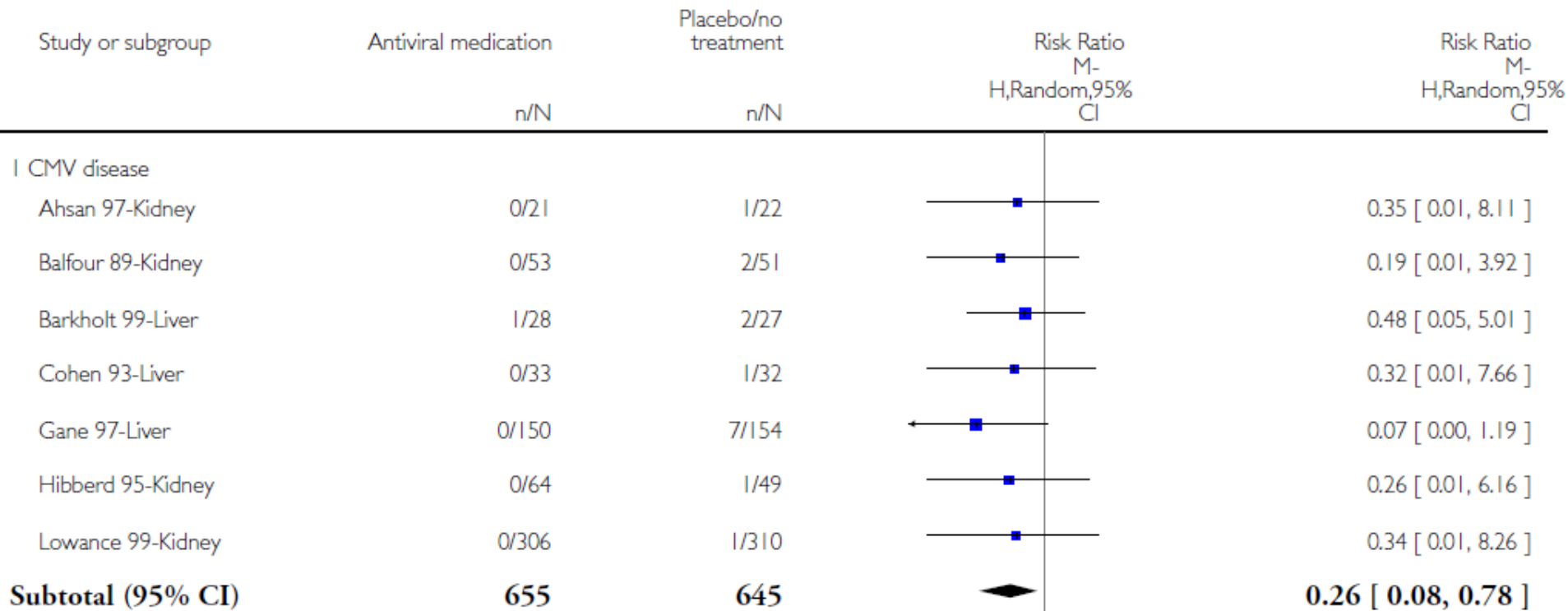
CMV & SOT : rejet d'organe



No. AT RISK

Valacyclovir	204	127	80
Placebo	204	127	80

Antiviral prophylaxis versus placebo/no treatment, Outcome **Death**.



Hodson 2010

Prophylaxie anti-CMV

- Avantages
 - Plus simple
 - Moins d'infections
 - Moins de perte de greffon ?
- Inconvénients
 - Volume de prescription
 - Toxicité
 - Développement de résistance
 - Obstacle au développement d'une immunité anti-CMV
 - Avec risque d'infection tardive

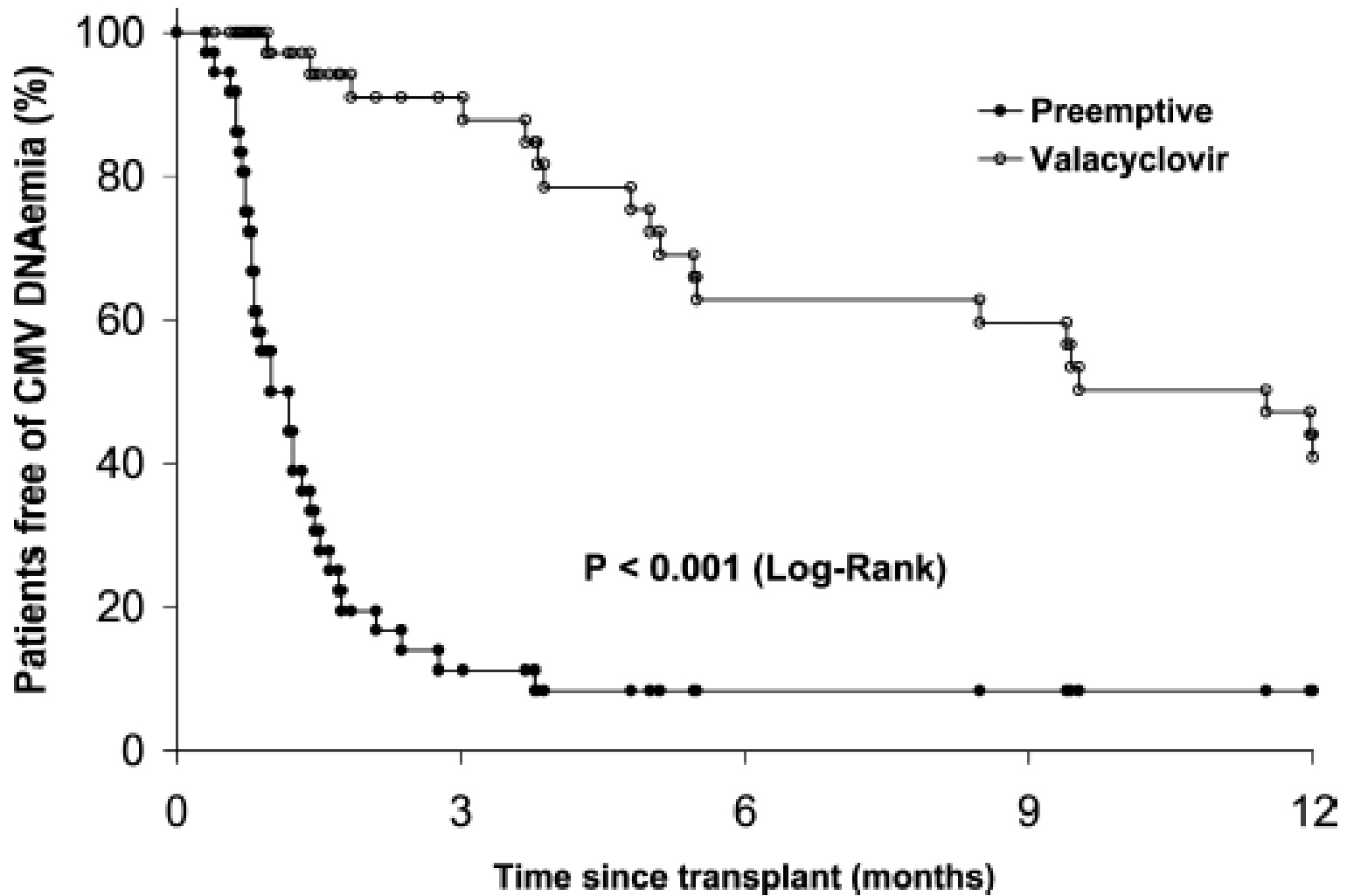
Prophylaxie

- Valganciclovir 900 mg/j PO
- 6 (12...) mois au moins pour les Tx pulmonaires et du grêle
- 3 mois pour les autres

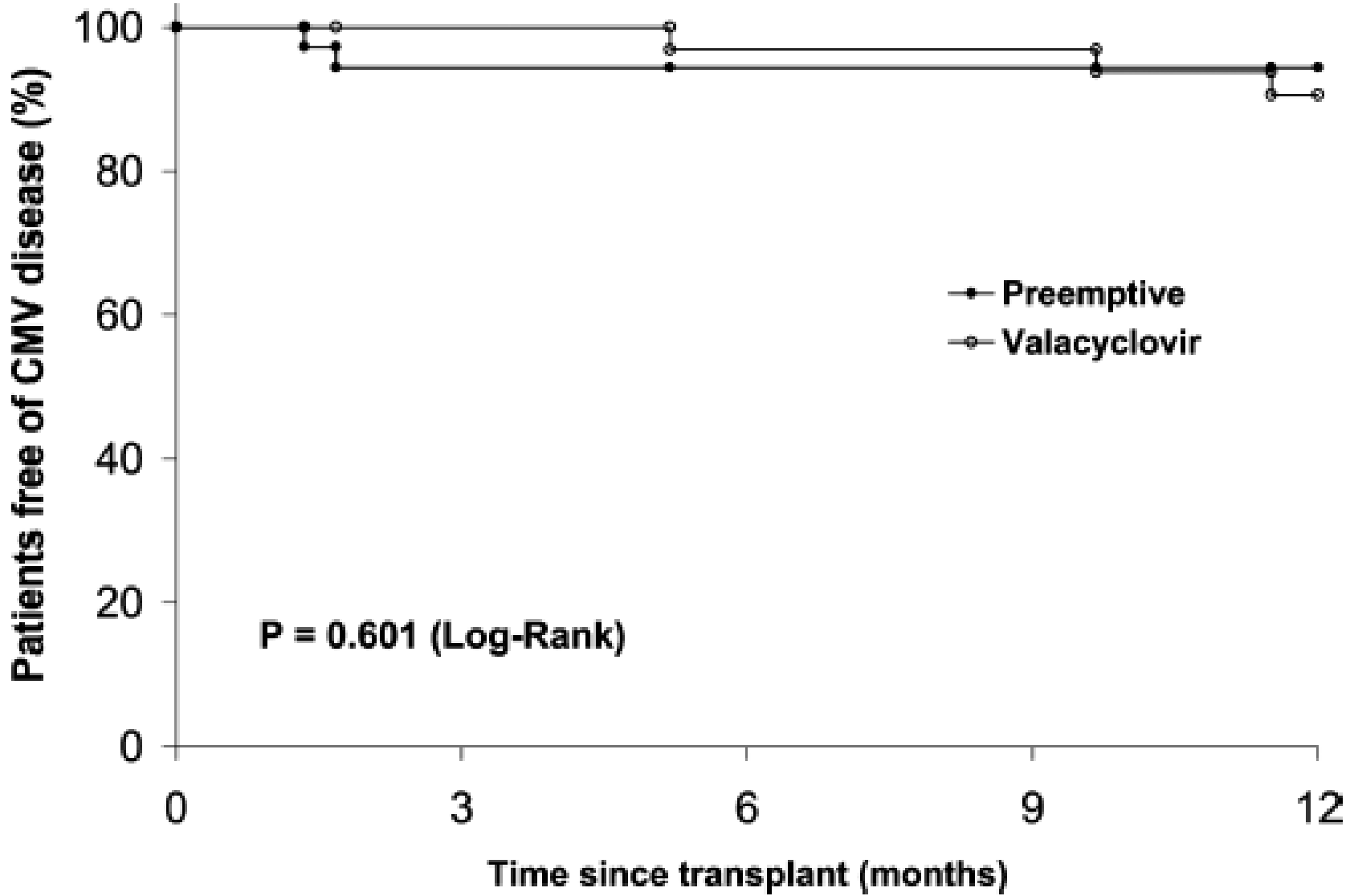
Traitement préemptif

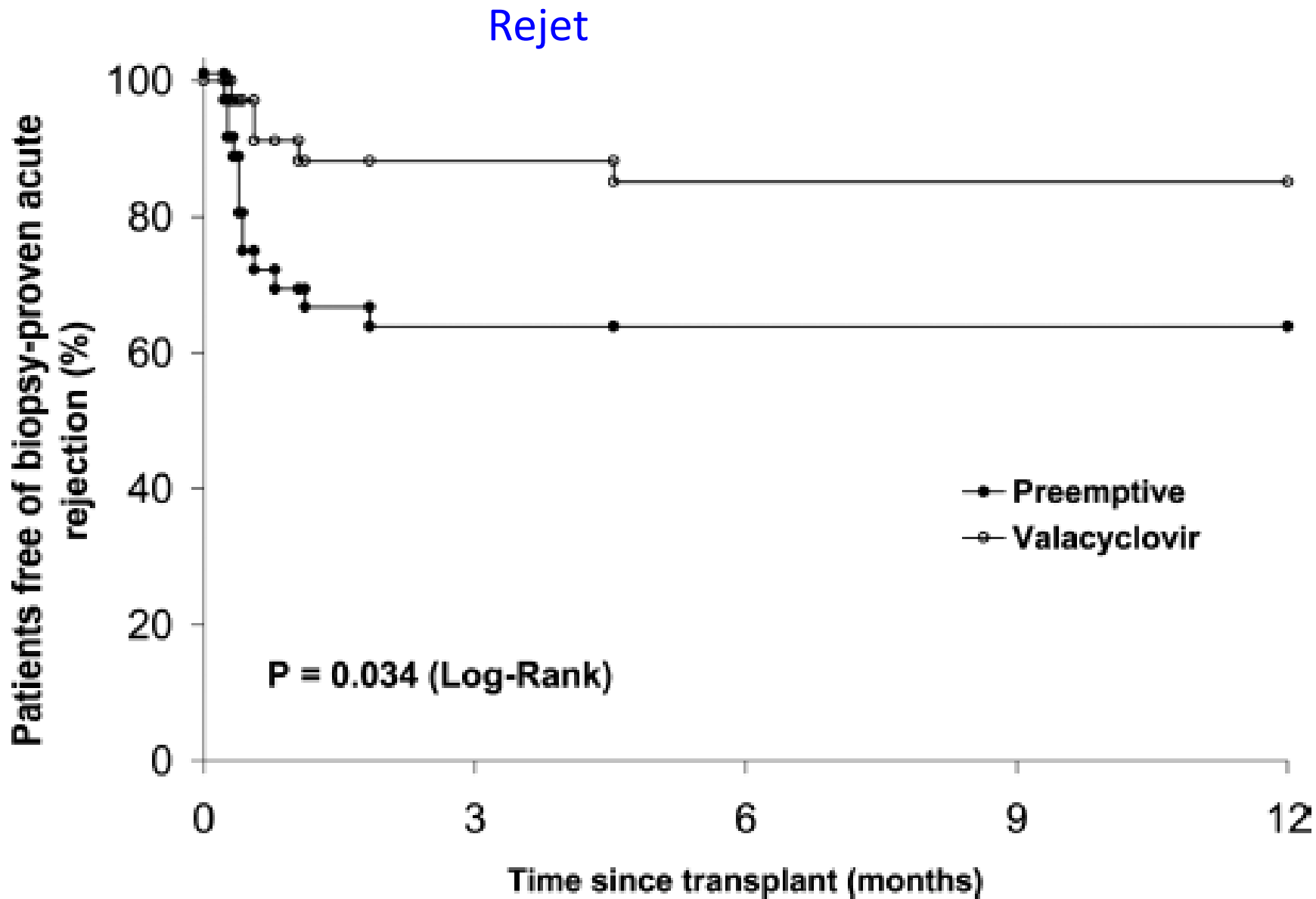
- Charge virale CMV hebdomadaire
- Alerte si positive
- Traitement antiviral d'attaque :
 - Dès la positivisation de la CV ?
 - Selon le temps de doublement de la CV ?
 - En fonction de l'immunodépression ?

CV CMV détectable ou non ...



Maladie liée au CMV





SOT : Quel traitement d'attaque ?

- V-GCV per os si tableau de réplication isolée (**préemptif**)
 - 900mg x2
- GCV IV sinon (surtout si maladie à CMV : **curatif**)
 - 5 mg/kg x2
- Jusqu'à négativation de la PCR CMV dans le sang à 2 reprises à 1 semaine d'intervalle
 - Durée minimale du traitement d'attaque : 2 semaines
- Puis traitement d'entretien ?
 - 1 à 3 mois ?
 - Grande variabilité entre centres
 - D'autant plus long si CV initiale élevée, si intensification du traitement anti-rejet, si primo-infection
 - Probablement si atteinte digestive (clairance virale plus lente)

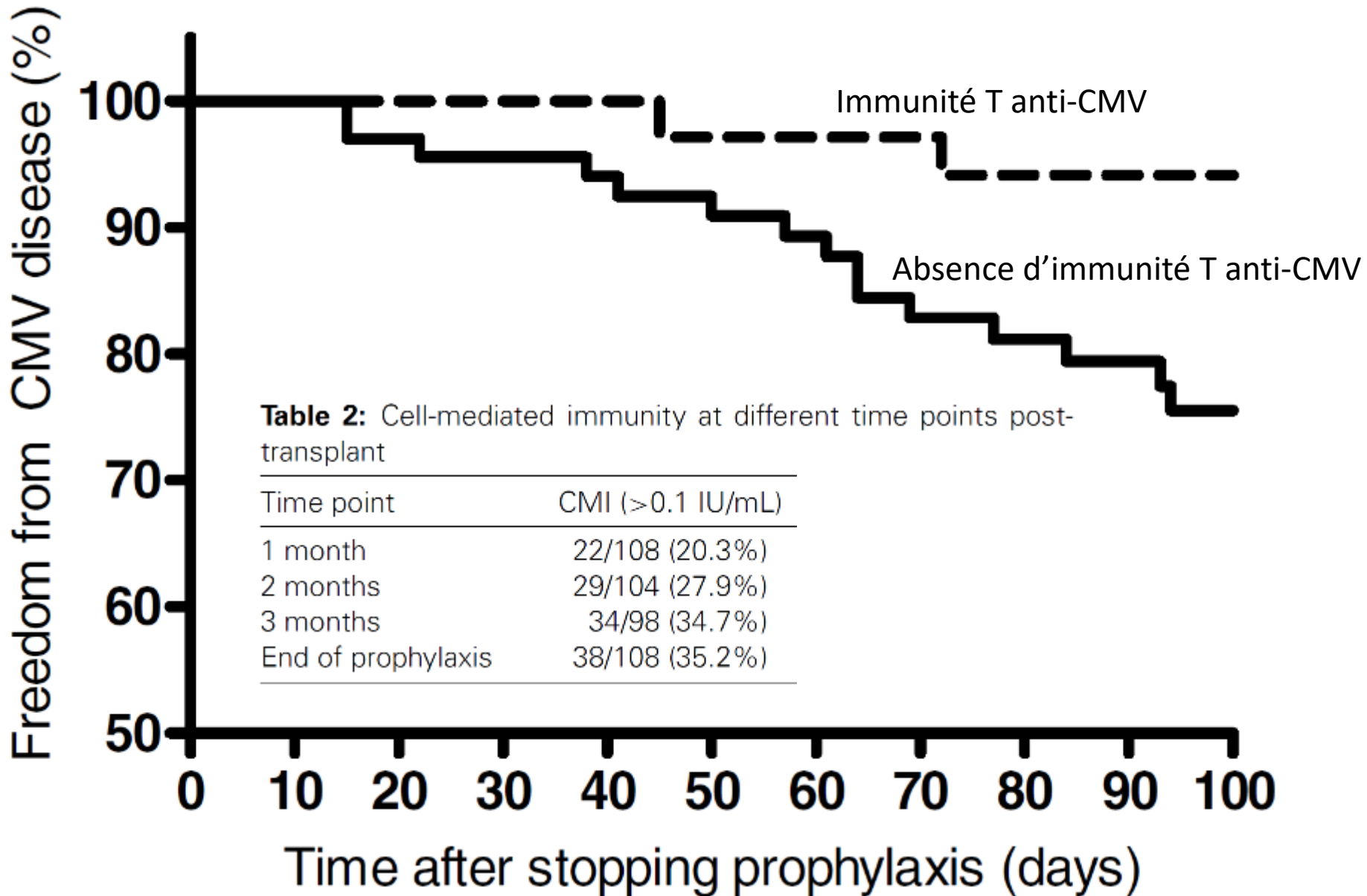
Si toxicité hématologique ... ou si résistance ...

- Foscarnet
 - 180 mg/kg/j en attaque
 - Tubulopathie ...
- Artesunate ...
- Maribavir : en autorisation d'accès compassionnel

VIH et CMV

- Atteinte ophtalmique
 - Essentiellement rétinite ; dépistage systématique si lymphopénie $CD4 < 100/mm^3$
 - Mais aussi uvéite, épisclérite, conjonctivite ...
- Tube digestif dans son ensemble
- Foie et voies biliaires (cholangite sclérosante)
- Système nerveux central
- Surrénales
- Poumon (réactivation délétère ou non ?)

Intérêt de l'immunomonitoring ?



Résistances

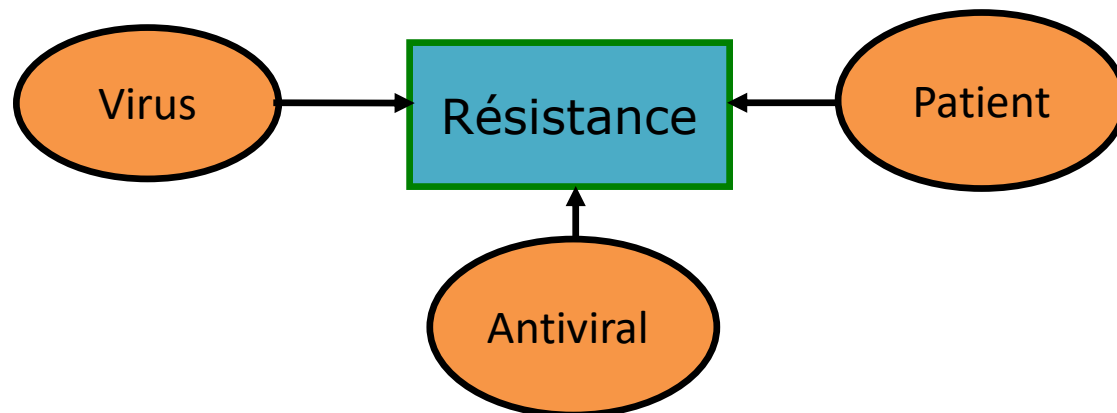
Résistance au traitement

Résistance clinique

= persistance d'une réplication virale
sous traitement bien conduit

= absence de réponse virologique

Causes virologiques/pharmacologiques/immunologiques



Résistance au traitement

Facteurs de risque d'apparition de la Résistance

- Absence d'immunité initiale : D+/R-
- Immunosuppression intense

- Réplication virale : persistance, pic ou récurrence

- TTT antiviral prolongé (> 5 mois)
- TTT antiviral inadapté

- Immunité hôte
- Rejet ou GVH

Table 1
Risk factors for R/R CMV

Risk Factor	
Transplant-related	HLA mismatch
	Haploidentical donor [5]
	Cord blood
	Pediatric HLA-mismatched donor [97]
	T-cell depleted transplant [6]
	CMV seronegative donor
Viral-related	Persistent low level CMV viremia
	High peak level CMV viremia [32]
	Recurrent episodes of CMV [14]
	CMV central nervous system disease [7–9] e.g. retinitis, ventriculitis
Drug-related	Sub-therapeutic exposure to antivirals due to non-adherence, dose interruption and/or adjustments due to renal impairment or dose limiting toxicity
	Prolonged exposure to anti-CMV drugs in the presence of replicating virus [5,10]
Host-related	Lymphopenia
	Poor immune recovery
	Graft versus host disease

Résistance au traitement

Epidémiologie de la Résistance

Hanz, JAC, 2010

- 346 patients : 59 HSCT 287 SOT
- 198 patients = TTT prophylactique
- Suivi moyen = 993 jours (493-1493)

Rein	224
cœur	28
foie	24
poumon	7
multiO	4
HSCT	59

- Résistance **suspectée** chez 10.7% (37/346)

- 6.8% HSCT (4/59)
- 11.5% SOT (33/287)

50%

- Résistance **virologique** chez 5,2% (18/346)

- 1.7% HSCT (1/59)
- 5.9% SOT (17/287)

→ tous au moins 1 fois du (val)ganciclovir
→ 9 avaient eu une prophylaxie antivirale

- Incidence résistance = 4.12 cas pour 100 patients/an

- Rein 10.3%
- Cœur 7.1%
- Foie 12.5%
- Poumon 71.4%

- Rein 6.2%
- Foie 8.4%
- Poumon 14/3%

Résistance au traitement : Le virus

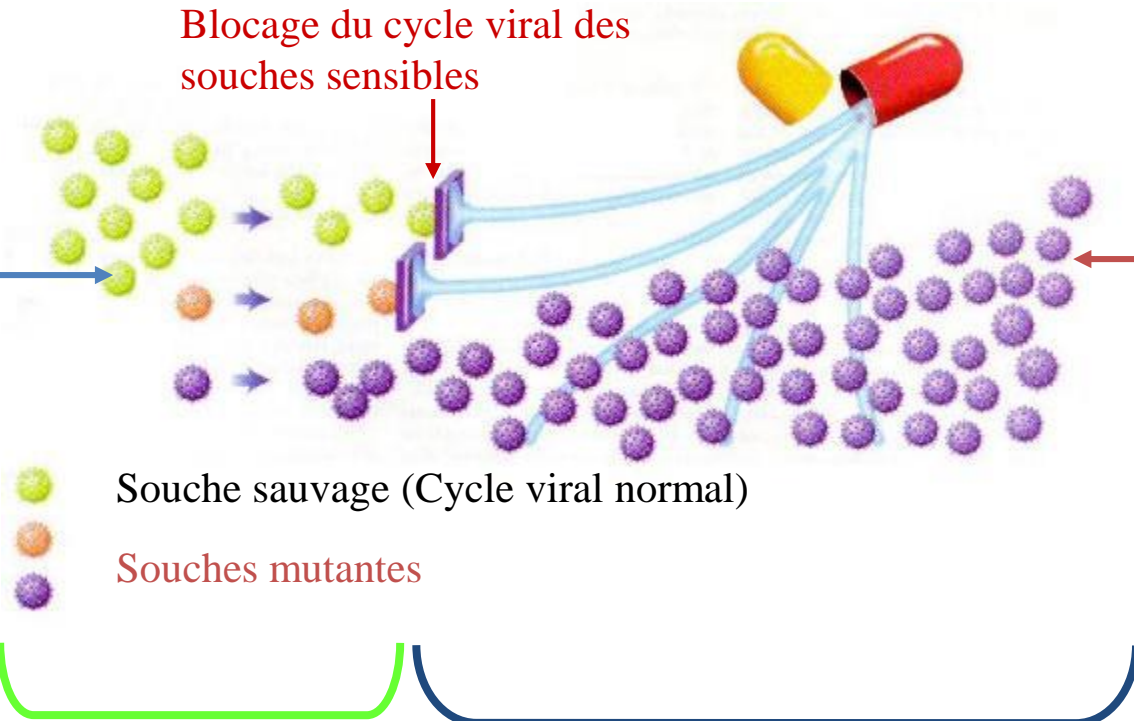
Mécanismes d'émergence d'une souche résistante *in vivo*?

Avant traitement Traitement Après traitement

Blocage du cycle viral des
souches sensibles

Prédominance
de la souche
sauvage

Prédominance
de la souche
résistante

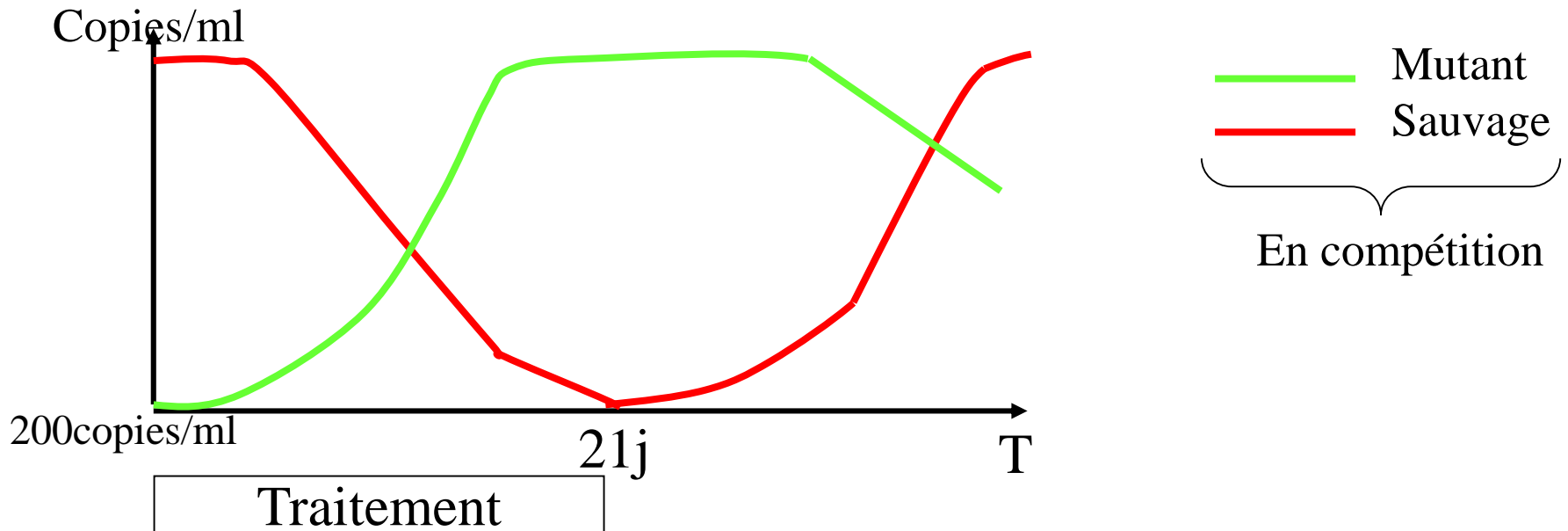


● Souche sauvage (Cycle viral normal)
● Souches mutantes
● Souches résistantes

Réplication virale =>
mutations +/- favorables

Sélection

Cinétique de l'émergence d'une souche résistante *in vivo*?



- La souche mutée :
 - préexiste au traitement
 - devient dominante sous traitement
 - redevient indétectable à l'arrêt du traitement ou persiste
 - N'est généralement pas la souche persistant à l'état latent
 - Ne sera pas forcément retrouvée à la prochaine réactivation

Résistance au traitement : Le virus

Détermination virologique de la Résistance

Etude phénotypique

- Isolement du virus en culture nécessaire : urines/salive/sang (hépariné)
- Détermination des IS50 (indice de sensibilité) =
CI50 souche étudiée / CI50 souche sensible de référence AD169
- → R si IS > 3

Etude génotypique

- séquençage des isolats ou ADN extraits du sang (EDTA)
- sensibilité 1000 copies/mL de sang
- 2 gènes impliqués UL97 et UL54

→ Yong et al, Transpl cell ther 2021 préconise RCMV sur plvt local

Corrélation Génotype/ phénotype = excellente sauf si nouvelle mutation

Résistance au traitement : Le virus

Mécanisme d'action des molécules antivirales

• Inhibiteurs de l'ADN polymérase virale = UL54

• Ganciclovir (Cymevan®) : Analogue nucléosidique

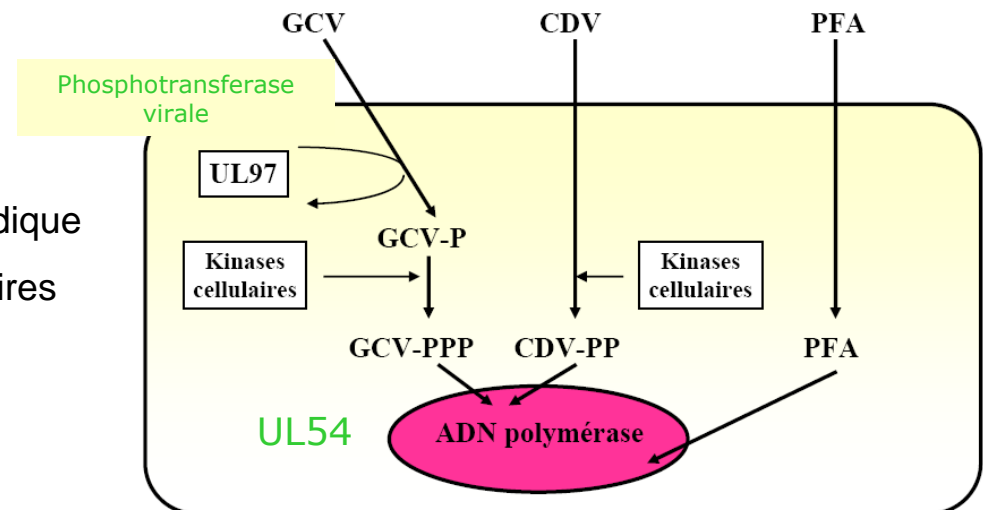
→ 1^{ère} phosphorylation par la phosphotransférase virale : UL97

• Cidofovir (Vistide®) : Analogue Nucléotidique
→ phosphorylation par les kinases cellulaires uniquement

• Foscarnet (Foscavir®) : analogue du pyrophosphate

→ pas de phosphorylation nécessaire

Figure 1 : Métabolisme intracellulaire des antiviraux



GCV-P : ganciclovir phosphate, CDV-P : cidofovir phosphate, PFA : foscarnet

• Autres inhibiteurs :

• Maribavir : Inhibiteur de la phosphotransférase virale : UL97

• Letermovir : Inhibiteurs de terminases UL56 et UL89

← Transpl cell ther 2021

Résistance au traitement : Le virus

Mutations de Résistance aux antiviraux

UL97 : mutations de résistance au GCV

- Les premières à apparaître (> 3 mois de traitement)
- Résistance de bas niveau (CI50 < 30 μ M)
- Diminuent peu ou pas la capacité répliquative du virus mutant

TABLE 8.

GCV resistance levels associated with selected UL97 genotypes

Genotype frequency	Fold change in GCV EC50 ^a		
	5-15 \times	2-5 \times	<2 \times
Most common	M460V/I, H520Q, A594V, L595S, C603W	C592G	
Less common at codons 460, 590-607	M460T, A594G, 595del ^b , L595F/W, E596Y, 597del2 ^b , 599del, K599T, 600del, 601del, 601del2, C603R, C607Y, del(\geq 3) ^c	A591V, A594E/T, E596G, C603S, 596del ^b , 600del2, C607F	E596D, N597D, K599E/R, L600I, T601M, D605E ^d
Atypical loci	F342S ^e , K355M ^e , V356G ^e , V466G ^e , C480R ^e , C518Y, P521L ^e	L405P, I610T, A613V	M615V, Y617H, A619V, L634Q, E655K, A674T

^a Moderate resistance (5-15 \times), low-grade resistance (2-5 \times), or insignificant resistance (<2 \times).

^b del = in frame deletion of codon.

^c In frame deletion of \geq 3 codons in the 590-607 range can be assumed to confer moderate GCV resistance (eightfold to 15-fold). Deletion of less than 3 codons may confer varying degrees of GCV resistance (fourfold to 10-fold).³⁰²

^d D605E is a baseline sequence polymorphism common in east Asia, unrelated to drug resistance.

^e Marbavir cross-resistance documented; all except F342S are markedly growth-inhibited.

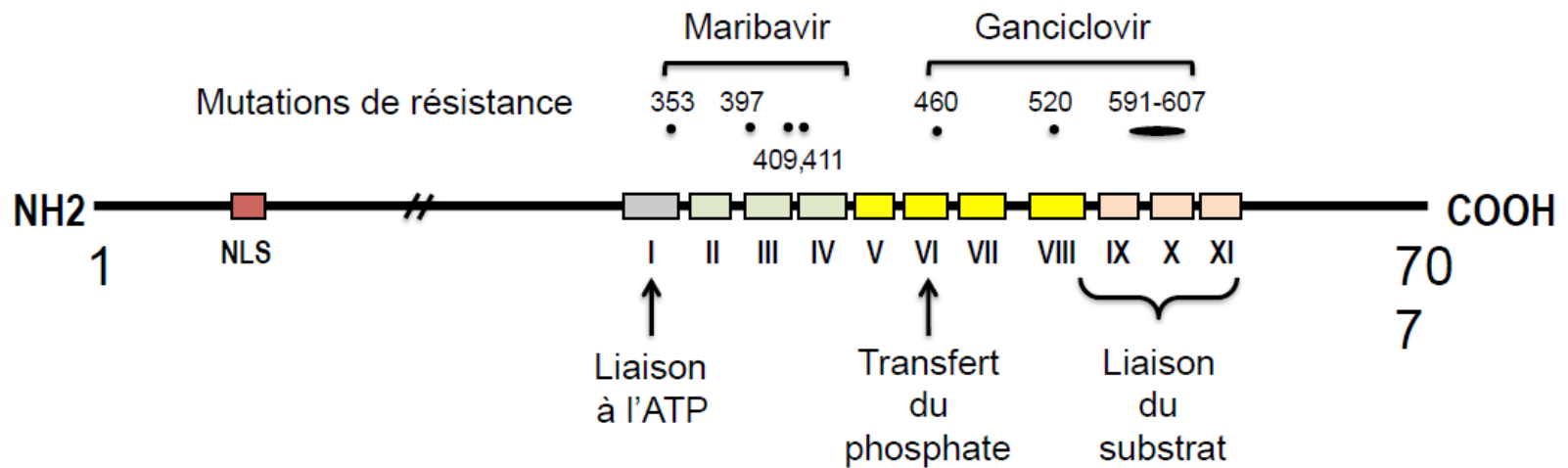
(Kotton et al., Transplantation, 2018)

Résistance au traitement : Le virus

Mutations de Résistance aux antiviraux

UL97 : mutations de résistance au Maribavir

→ généralement différentes des mutations de R au GCV



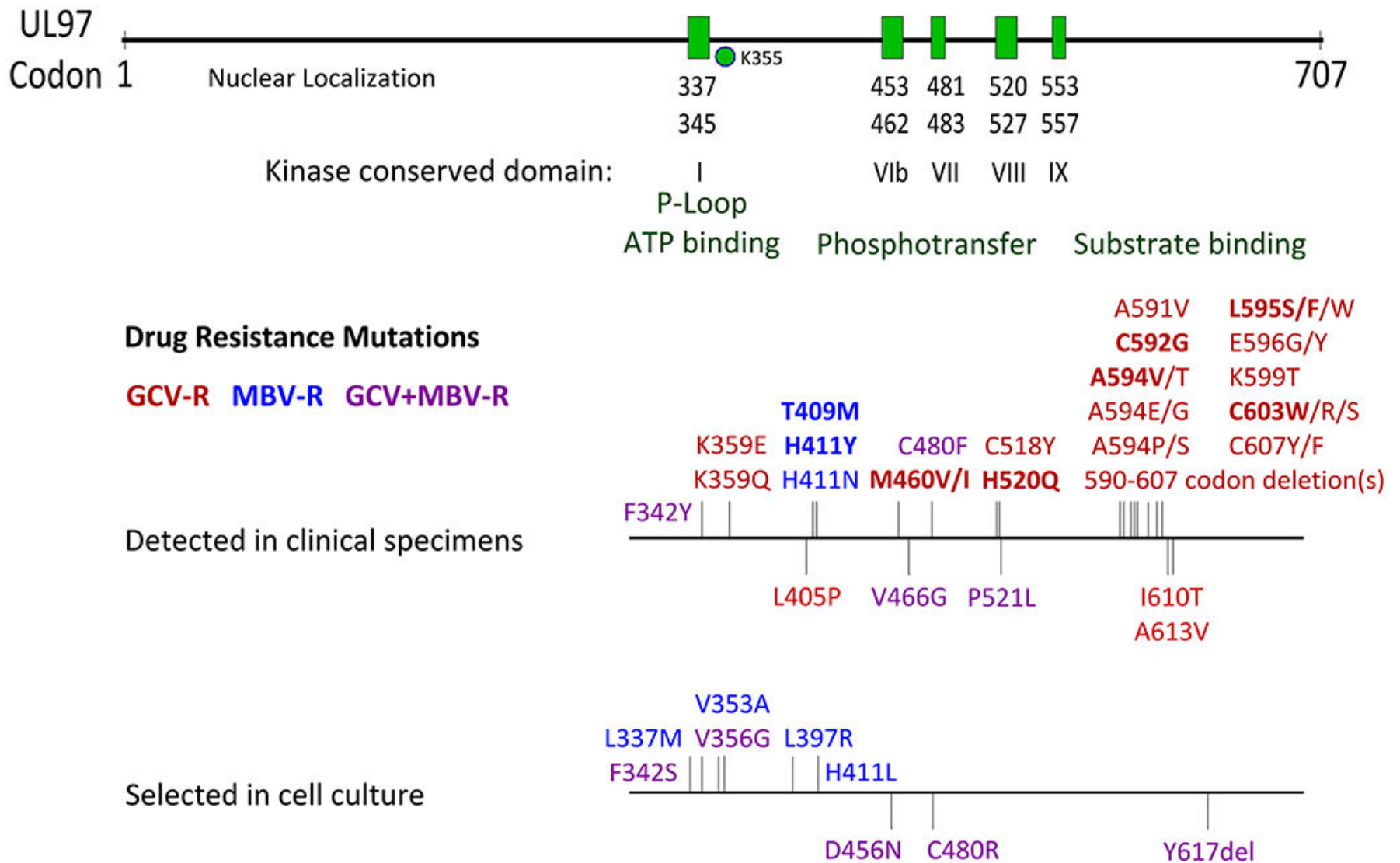


Figure 1. UL97 mutation map.

Conserved kinase domains are shown. Drug resistance mutations are color coded by their resistance phenotype. Mutations detected in clinical specimens are in the upper map, with the most common ones in bold. Those below the line are considered potentially less significant due to some combination of detection in a single specimen or minor subpopulation, severe growth impairment or borderline resistant phenotype. Mutations detected in cell culture are shown in the lower map; those displaying cross-resistance were selected in the presence of methylenecyclopropane guanosine analogs and those below the line are severely growth-impaired.

Résistance au traitement : Le virus

Mutations de Résistance aux antiviraux

UL54

- Apparaissent suite à un ttt prolongé (6-9 mois en moyenne)
- Résistance de haut niveau
- R GCV généralement associée à une R au cidofovir
- R croisée GCV FOS = rare → touche pas la S au cidofovir
- Diminuent la capacité répliquative du virus

(Kotton et al.,
Transplantation,
2018)

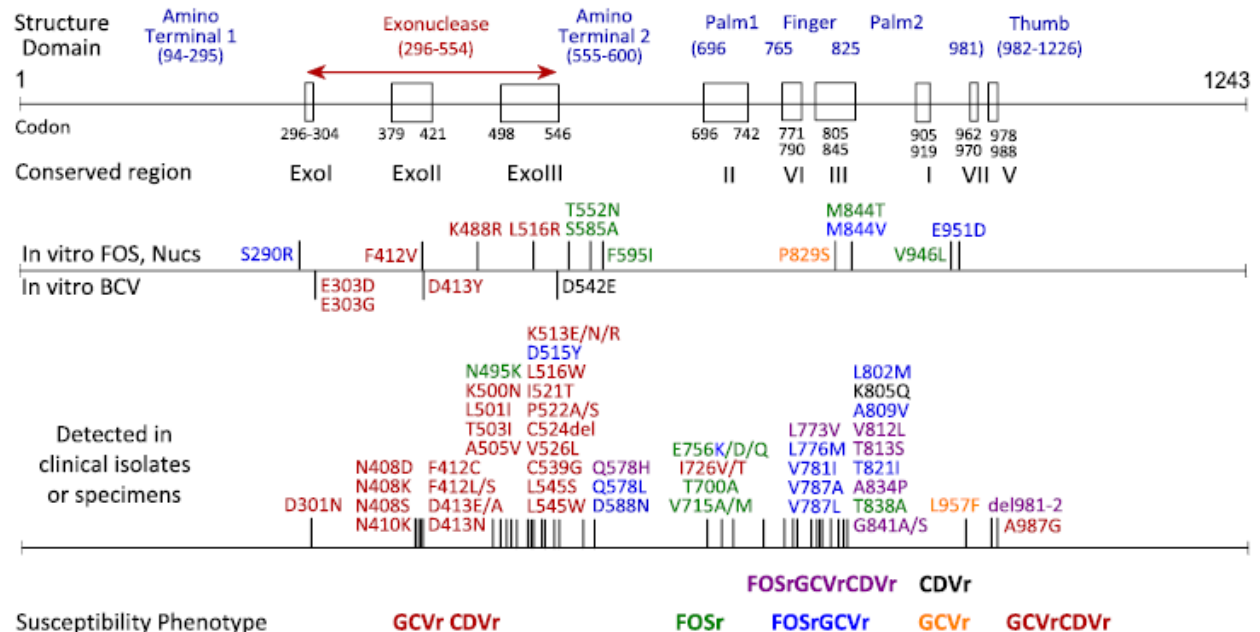


FIGURE 1. CMV UL54 DNA polymerase gene mutation map. Shown are the structure domains and regions of amino acid sequence conservation in herpesvirus polymerases, where resistance mutations are clustered. Corresponding resistance phenotypes are color coded for the involved drugs. Adapted and updated from prior publications.^{5,276} BCV, brincidofovir; Nucs, various nucleoside analogs.

Résistance au traitement : Le virus

Mutations de Résistance aux antiviraux

Associations de mutations UL97 et UL54

- Association sur une même souche
- Coexistence de plusieurs souches mutées
- Surviennent au cours de ttt prolongés
- R de haut niveau au GCV
- R aux 3 molécules possible

Résistance au traitement : Le virus

Mutations de Résistance aux antiviraux

UL56 et UL89 : mutations de résistance au letermovir

Nombreux polymorphismes décrits (Champier et al., 2007), pas de résistance *in vivo* à ce jour malgré des mutations de résistance décrites *in vitro*

Intérêt de tester toute nouvelle substitution apparaissant sous traitement

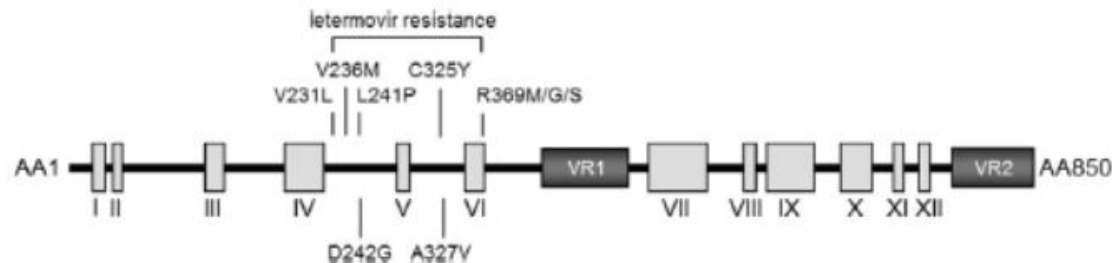


Fig. 1. Schematic representation of the UL56 domain organization according to [Champier et al., 2008](#). Conserved regions are indicated as gray boxes (I–XII); variable regions (VR1 and VR2) as black boxes. Amino acids (AA) associated with *in vitro* resistance to letermovir are indicated above. Two natural occurring UL56 polymorphisms located within the letermovir resistance region are indicated below ([Goldner et al., 2014](#)).

Goldner et al., Antiviral Research 116 (2015) 48–50

Diapositive Pr Alain

→ R Letermovir pourrait apparaitre pour des durée courte de prophylaxie (blip)

Résistance au traitement : La drogue

Résistance Pharmacologique

- Adaptation du valganciclovir à la fonction rénale → concentrations incorrectes dans 50 % des cas (ORVAL).
- Une diminution de dose est justifiée par une neutropénie dans 10% des cas (ORVAL)
- Un sous dosage en ganciclovir favorise l'inefficacité clinique et donc la résistance (Emery et al., PNAS 2000)
- Changement de ligne thérapeutique (dose, molécule) et sous dosage associés à la non réponse (cohorte française)

Adaptation des doses d'antiviral

TABLE 7.

Dosage recommendations for ganciclovir and valganciclovir and valacyclovir for adult patients with impaired renal function (using Cockcroft-Gault formula)

Intravenous ganciclovir (adapted from²⁶⁵)

CrCl, mL/min	Treatment dose	Maintenance/prevention dose
≥70	5.0 mg/kg q12 h	5.0 mg/kg q24 h
50-69	2.5 mg/kg q12 h	2.5 mg/kg q24 h
25-49	2.5 mg/kg q24 h	1.25 mg/kg q24 h
10-24	1.25 mg/kg q24 h	0.625 mg/kg q24 h
<10	1.25 mg/kg 3 times a week after hemodialysis	0.625 mg/kg 3 times a week after hemodialysis

Valganciclovir (adapted from^{263,264})

CrCl, mL/min	Treatment dose	Maintenance/prevention dose
≥60	900 mg every 12 h	900 mg once daily
40-59	450 mg every 12 h	450 mg once daily
25-39	450 mg once daily	450 mg every 2 d
10-24	450 mg every 2 d	450 mg twice weekly
<10	200 mg 3 times a week after hemodialysis ^a	100 mg 3 times a week after hemodialysis ^a

Valacyclovir (high dose)¹⁶⁷

CrCr, mL/min	Prevention dose (kidney only)
>75	2000 mg 4 times per day
51-75	1500 mg 4 times per day
26-50	1500 mg 3 times per day
10-25	1500 mg twice daily
<10 or dialysis	1500 mg once daily

^a Oral solution must be used in this instance (as VGCV tablets cannot be split).

Résistance au traitement : Le patient

Le rôle de l'immunité T

- Le suivi de la réponse T peut être un outils prédictif du risque de charge virale CMV + ou de maladie à CMV
- Utile en complément de a charge virale pour guider:
 - L'initiation ou l'arrêt d'un TTT antiviral
 - Arrêter une prophylaxie universelle
 - Adapter le monitoring

(Kotton et al., →
Transplantation, 2018;
(Westall et al,
transplantation 2018)

TABLE 3.				
Potential clinical uses and management based on CMV-specific immune monitoring				
Clinical settings	Viral load	Immune monitoring result ^a	Action	Interpretation
Pretransplant				
Pretransplant R+		Neg	Prophylaxis or surveillance	Indicates low level protection
Pretransplant Seropositive patients with potential passive antibodies		Neg		Passive immunity; T cells are not transferred
		Pos		True Infection
Posttransplant prophylaxis				
End of prophylaxis		Pos	Stop prophylaxis	Indicates protection
		Neg	Continue prophylaxis or stop prophylaxis and do surveillance	Indicates lack of protection
Posttransplant preemptive therapy				
Asymptomatic R+ patients (>1 month posttransplant)	Neg	Pos	Continue surveillance	Low risk, indicates protection
	Neg	Neg	Close surveillance	Increased risk, indicates lack of protection
	Pos	Pos	No treatment; close monitoring	Low risk, indicates sufficient immunity
	Pos	Neg	Treatment	Indicates lack of protection
End of treatment	Neg	Pos	Stop treatment	Low risk of relapse, sufficient immunity
	Neg	Neg	Secondary Prophylaxis	High risk of relapse, lack of protection

^a Positive (or Reactive) immune monitoring result suggests a threshold has been established; viral load negative means below lower limit of quantitation. Limited information in heart and lung transplant recipients and pediatric recipients.
Neg, negative; Pos, positive.

Résistance au traitement : Le patient

- Les techniques : **QuantiFERON** ou ELISpot : basés sur la détection de la production de l'interféron γ après stimulation des lymphocytes (SGT ou PBMC)
 - Test QuantiFERON-CMV (Qiagen) :
 - 3 tubes : gris (-), **bleu (Ag CMV)** et **pourpre (mitogène)**
 - Prélever 1ml de sang dans chaque tube (trait)
 - Agiter 10x (mélange Ag/SGT)
 - Envoyer rapidement au laboratoire → 24h à 37° C
 - NE JAMAIS METTRE AU FRIGO



Interprétation des résultats

Les résultats QuantiFERON-CMV sont interprétés selon les critères suivants :

CMV moins valeur zéro (UI/ml)*	Mitogène moins valeur zéro (UI/ml)	Résultat du test QF-CMV	Rapport/interprétation
< 0,2	≥ 0,5	Non réactif	Réponse immunitaire aux antigènes de CMV NON détectée
≥ 0,2	Tous	Réactif	Réponse immunitaire aux antigènes de CMV détectée
< 0,2	< 0,5	Indéterminé†	Impossibilité de détection de réponse immunitaire aux antigènes de CMV et au Mitogène

* Les réponses d'IFN- γ au contrôle positif pour l'Antigène de CMV et le Mitogène peuvent souvent sortir de la plage de valeurs du lecteur de microplaque. Ce cas de figure n'a aucun impact sur la qualité des résultats.

† Voir la section « Dépannage » pour les causes possibles.

Risque
↑↑

Conclusion : conduite à tenir

Savoir rechercher une résistance devant une non réponse

Persistance de la virémie plus de 21 jours
Ou baisse de charge virale $< 0,5$ log/semaine
Ou augmentation de charge virale
Absence d'amélioration clinique (si maladie)

Facteurs de risque?

Primo-infection
Durée tt > 1 mois
Modification itératives du TT
Immunosuppression profonde

Prélèvement
virologique

Dosage de
l'antiviral

Levée de
l'immunosuppression?

Génotype de
résistance

Adaptation des
doses

Adaptation du traitement antiviral

Algorithme de prise en charge en cas de suspicion de résistance

(Kotton et al.,
Transplantation,
2018)

