

Traitements des infections à cytomégalovirus (immunocompétent et immunodéprimé)

Marianne Leruez-Ville
Laboratoire Virologie Necker
Laboratoire associé CNR cytomégalovirus

DIU

Stratégie Thérapeutiques en
Maladies Infectieuses

Sommaire

- Rappels physiopathologiques
- Rappels sur antiviraux efficaces contre le CMV
- La résistance du CMV aux anti-viraux
- Les stratégies thérapeutiques de l'infection à CMV

Circonstances du traitement des infections à CMV

- Le traitement des infections à CMV est uniquement indiqué chez les patients immuno-déprimés (infections graves)
- Pas de traitement en cas d'infection chez l'immunocompétent (infection bénigne)
- Des essais en cours pour le traitement de la primo-infection pendant la grossesse mais aucune recommandation

Physiopathologie : Rappels

Les cellules cibles du cytomégalovirus

Les monocytes-macrophages

Réplication virale: présence d'ARN m précoces et tardifs

Les polynucléaires neutrophiles

Pas de réplication virale

Virions phagocytés véhiculés par les PNN

Les cellules endothéliales

cellules endothéliales infectées dans le flux sanguin

Les cellules épithéliales?

Cellules épithéliales pulmonaires et rénales

Les cellules nerveuses?:

Cellules de Schwann, neurones des ganglions optiques

Physiopathologie : rappels

La dissémination virale

Virémie

Dissémination de monocytes/macrophages infectés



Moelle osseuse: cellules cd34+ PCR+

Glandes salivaires: leucocytes infectés ds épithélium salivaire

Poumons: cellules cytomégaliqes ds épithélium des alvéoles pulmonaires

Reins: cellules infectées dans épithélium du tube contourné proximal

Foie: cellules géantes dans l'épithélium des canaux biliaires

Tube digestif: cellules géantes ds l'épithélium au niveau des ulcérations

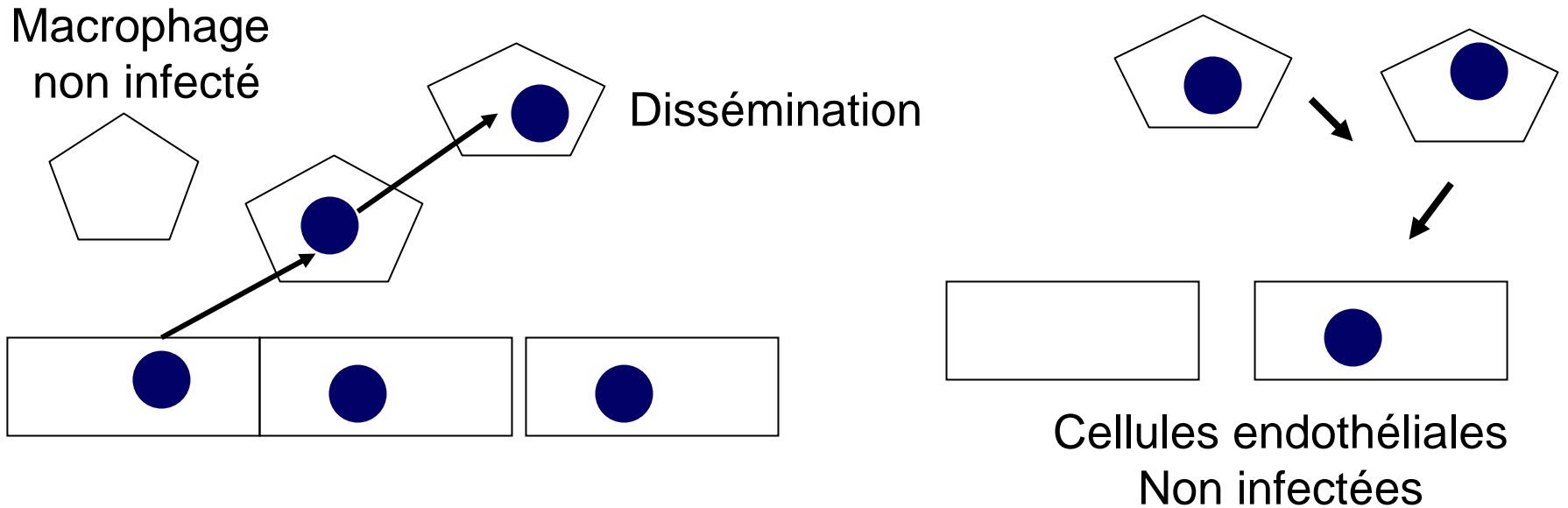
SNC: cellules infectées ds endothélium vasculaire

SNP: cellules endothéliales du tronc nerveux, cellules de Schwann

Œil: cellules infectées ds épithélium rétinien

Les mécanismes d'échappement du CMV à la réponse immunitaire humorale

*Le CMV passe de cellules en cellules échappant aux anticorps



*B2 microglobuline fixée sur l'enveloppe masque les sites antigéniques

Les mécanismes d'échappement du CMV à la réponse immunitaire cellulaire

* **Le mimétisme moléculaire:**

* **Echappement à la lyse par les cellules NK** par expression du gène UL18 qui code pour un homologue des molécules du CMH de classe I (*Farrel, Nature, 1997*).

* **Séquestration des chimiokines** dans l'environnement cellulaire par expression d'homologues viraux des récepteurs de ces chimiokines (RANTES, MCP-1, MIP1...).

* **L'inhibition de l'expression des molécules du CMH de classe I et II:** d'où limitation de la lyse des cellules infectées par les lymphocytes T cytotoxiques

* dégradation des molécules CMH par rétrogradation dans le cytosol

* maintient des molécules CMH néoformées dans ergastoplasme (US3)

(*Warren, J Virol, 1994 - Miller, J Exp Med, 1998*).

La latence virale

La latence s'établit dans

- les monocytes /macrophages:
sanguins, rénaux, pulmonaires
- les cellules endothéliales?

Chez le sujet immunocompétent séropositif :

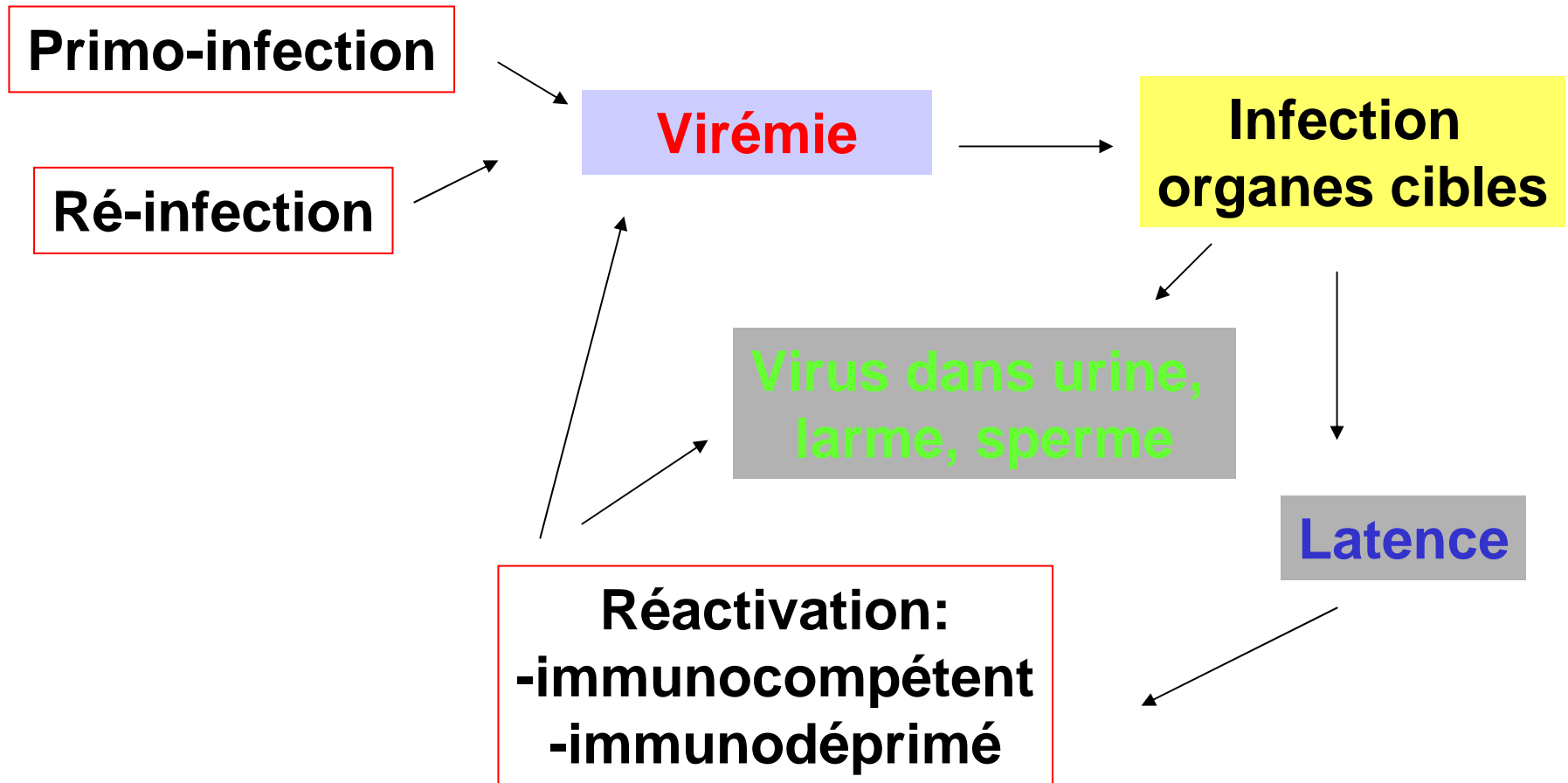
- *des taux élevés de CD8+ spécifiques du CMV (*Gillespie, J Virol, 2000*).
- *contrastant avec des charges virales CMV (ADNémies)
négatives (plasma sanguin) ou très faiblement positives
(leucocytes sanguins: 0.004 à 0,01% des cellules mononuclées).

Génome viral sous forme épisomale

Production de transcrits spécifiques région IE1 et 2

Expression de protéines virales en phase de latence permettant
la persistance de ce taux élevé de CTL?

Infection à CMV: physiopathologie



Infection à CMV chez les allogreffés

**Aggravation
de la GVH**

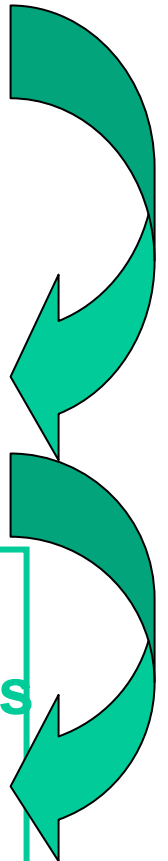
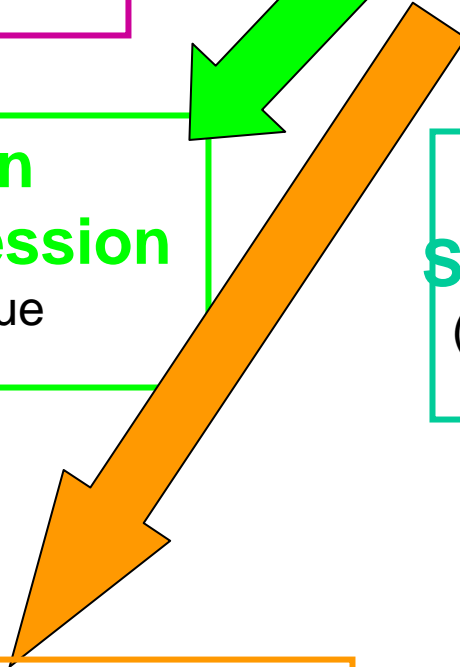
**Stade I:
Infection à CMV**
(Virémie-Antigénémie-PCR)

**Aggravation
immunosuppression**
infection fongique

**Stade II:
Syndrome pseudo-grippal**
(fièvre, leucopénie, transaminases
hépatiques augmentées)

**Aggravation
insuffisance médullaire**

**Stade III:
Localisations tissulaires**
Pneumopathie+++
Gastro-entérite
Hépatite
Rétinite



Conséquences de l'infection à CMV au cours du sida

Stade avancé d'immunodépression

=> <50-100 L CD4+/mm³

Localisations préférentielles

œil => rétinite => cécité

TD => ulcérations (colon +++, œsophage...)

SNC

neuropathies périphériques

Myélites

Encéphalites

ANTIVIRAUX ACTIFS SUR LE CYTOMEGALOVIRUS

Traitements curatifs et préventifs

Ganciclovir (1988)

Valganciclovir (2001)

Foscarnet (1991)

Cidofovir (1997)

Cible :

**ADN polymérase
virale**

Prophylaxie chez les R de greffe

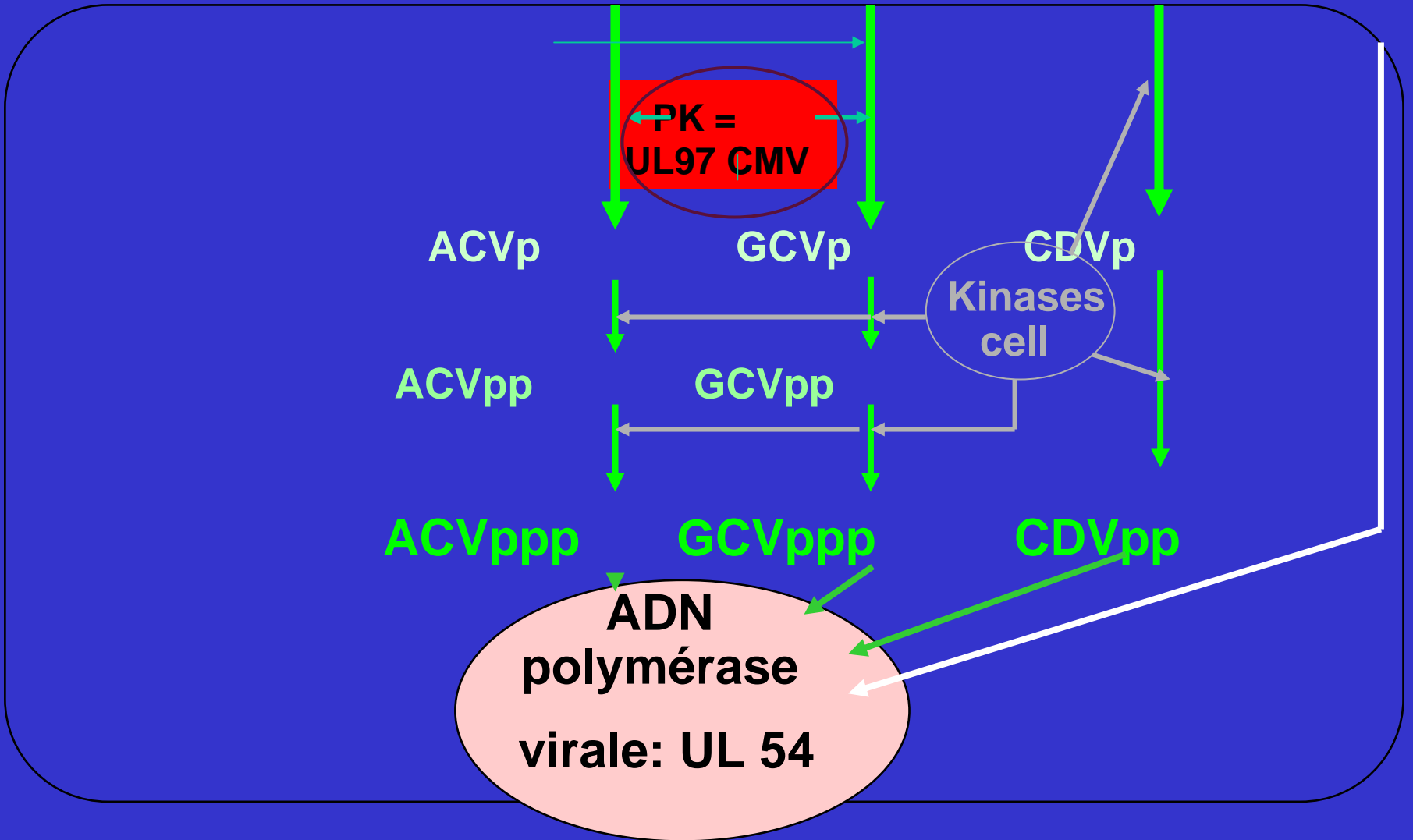
Valaciclovir (1999)

valACV **valGCV**

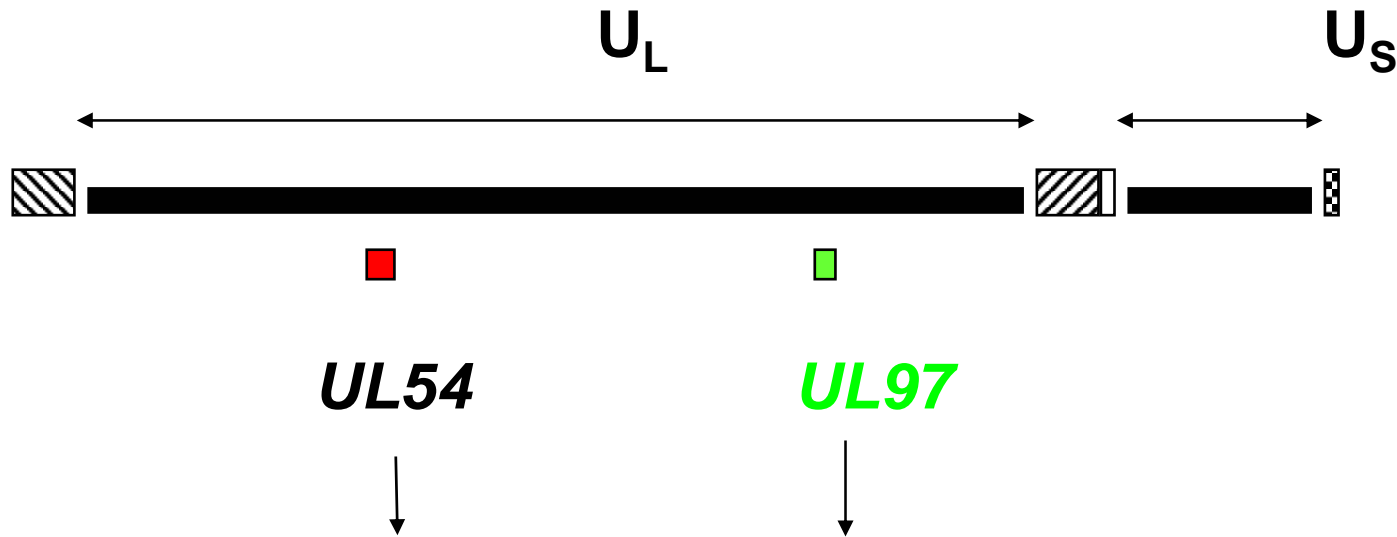
ACV **GCV** **CDV** **PFA**

↓ ↓

(Préventif CMV) **(CMV)** **(CMV)** **(CMV)**



RESISTANCE DU CMV AUX ANTIVIRAUX



UL54

UL97

Mutations de résistance sur le gène de l'ADN polymérase:

- Gancyclovir
- Valacyclovir
- Cidofovir

Mécanisme:

ADN polymérase moins inhibée par les molécules

Mutations de résistance sur le gène de la Protéine kinase:

- Gancyclovir
- Valacyclovir

Mécanisme:

Diminution du taux de GCV-PPP

Moyens d'analyse de la résistance

- **Analyse par le génotypage**
séquence nucléotidique des gènes UL97 et UL54 :
recherche de mutations connues associées à une
résistance clinique
- **Analyse par le phénotypage :**
Culture : calcul IC_{50} résistance si
GCV $IC_{50} > 6 \mu M$
FOS $IC_{50} > 400 \mu M$
CID $IC_{50} > 2.0 \mu M$

Facteurs favorisant l'émergence de la résistance

- **Durée** : Traitement prolongé (> 3 mois) ou répété en raison de la persistance de l'immunodépression
- **Puissance antivirale** insuffisante : traitement à posologie réduite, problèmes de pharmacocinétique
- **Charge virale élevée** : situation réalisée en cas de D+/R- ou de diagnostic tardif
- **Infection par des souches multiples?**

RESISTANCE AU GANCICLOVIR

- **Mutations du gène *UL97***

les premières à apparaître

induisent une résistance de bas niveau au GCV

- **Mutations du gène *UL54***

-apparaissent secondairement

-se surajoutent aux mutations de *UL97*

-induisent une résistance croisée au CDV et au FOS

-sont responsables d'une résistance de haut niveau au GCV

Résistance du CMV au ganciclovir

Sous-domaine UL97	AA	Modification	Transfert de marqueur
VI	460	Mut ponct	+
VIII	520	Mut ponct	+
IX	594	Mut ponct	+
	595	Mut ponct	+
	595	Délétion	+
	590-593	Délétion	+
	590-596 591-594	Délétion	+
	591	Mut ponct	-
	592	Mut ponct	+
	596	Mut ponct	-
	603	Mut ponct	+
	607	Mut ponct	+
591-607	Délétion	+	

Résistance du CMV aux antiviraux

ADN polymérase UL54

Régions conservées actives



IV δ région C II III VII
VI I V

Mutations de
UL54



Mutations identifiées dans des souches résistantes à :

GCV+CDV , PFA , GCV, CDV, PFA



UL54	Substitution	GCV	CDV	PFA
IV	N408D	R	R	S
	F412V/C	R	R	S
	D413E	R	R	S
δ-region C	N495K	S	S	R
	L501I	R	R	S
	K513E	R	R	S
	P522S	R	R	S
	L545S	R	R	S
	D588E	S	S	R
II	V715M	S	S	R
	T700A	S	S	R
	I722V	R	R	S
VI	V781I	S	S	R
III	L802M	R	R	R
	T821I	R	R	R
V	G987A	R	R	S
	del981-982	R	R	R

Quelles stratégies pour la prise en charge des infections à *CMV* des immunodéprimés?

Le traitement préventif

- Objectif :
éviter l'infection virale et donc la maladie virale
- Moyen :
traitement à dose préventive de tous les sujets transplantés pendant la période à plus haut risque
- Difficultés :
 - nécessite d'utiliser des médicaments peu toxiques
 - risque de survenue de résistance virale (utilisation prolongée)
 - risque de survenue tardive de l'infection

Quelles stratégies pour la prise en charge des infections à *CMV* des patients immuno-déprimés?

Le traitement «préemptif» ou anticipé

- Objectif :

traiter l'infection virale dès qu'elle survient avant qu'elle ne se complique d'une maladie virale

- Moyen :

surveillance virologique de tous les sujets et traitement à dose thérapeutique de ceux développant une infection

- Difficultés :

- nécessite la mise au point d'outils virologiques ayant une forte sensibilité et une bonne valeur prédictive positive : définition d'un seuil de charge virale annonciateur d'évolution vers la maladie
- traitement en excès avec des molécules toxiques

Quelles stratégies pour la prise en charge de l'infection à CMV des patients transplantés ?

Le traitement curatif

- Échec du traitement préventif et/ou préemptif
traitement de la maladie à CMV

Stratégie du traitement de l'infection à cytomégalovirus chez le transplanté

Stade I:

Infection à CMV asymptomatique

(Antigénémie pp65-PCR)



Traitement
préventif

Traitement
préemptif



Stade II:

Infection à CMV symptomatique

(fièvre, leucopénie, transaminases
hépatiques augmentées)

Stade III:

**Localisations tissulaires ou
maladie à CMV**

Pneumopathie+++

Colite ++

Rétinite+



Traitement
curatif

Traitement préventif de l'infection à CMV : chez l'allogreffé

- Les antiviraux :

Chez les transplantés d'organe: **valaciclovir** et **valganciclovir**

Chez le transplanté de moelle: **aciclovir IV**

- Les schémas thérapeutiques :

Valaciclovir (2g x 4 / jour, 100 jours)

Valganciclovir (450 mg X 2 / jour pendant 100 jours)

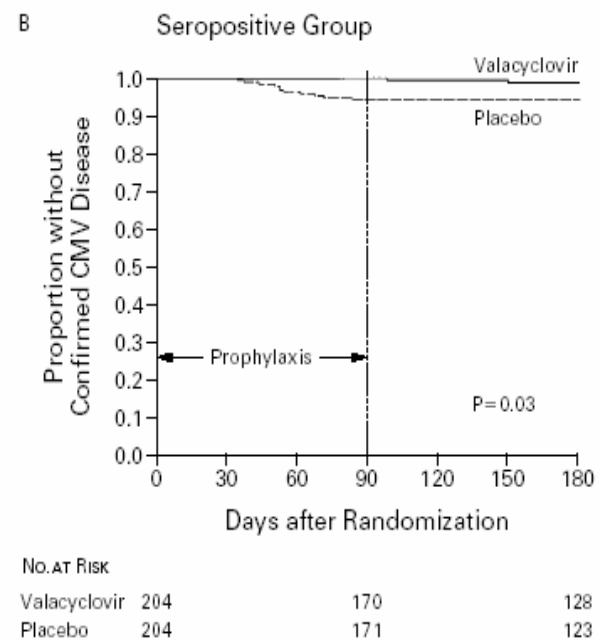
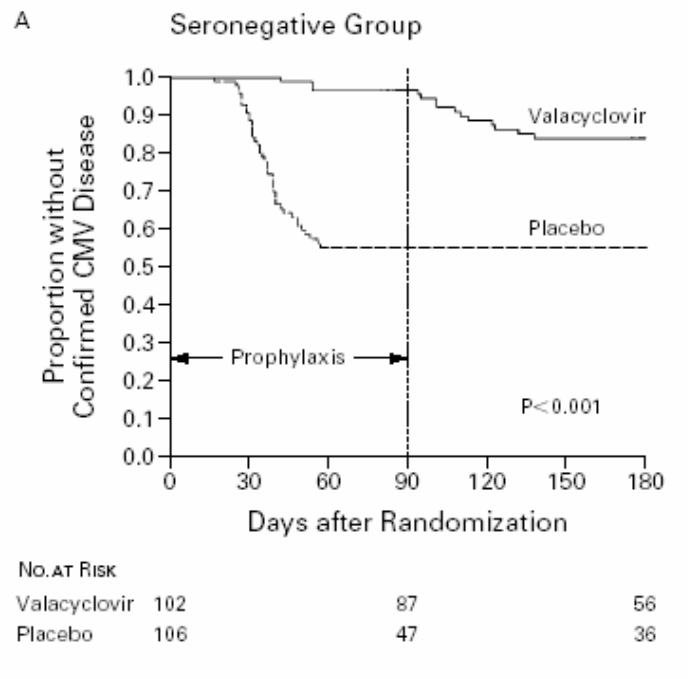
Aciclovir IV (5 mg/kg x 3/jour)

- Les indications:

* **Systematique pour les D+/R-**

* En fonction du type de greffe et du degré d'immunosuppression
pour les R+

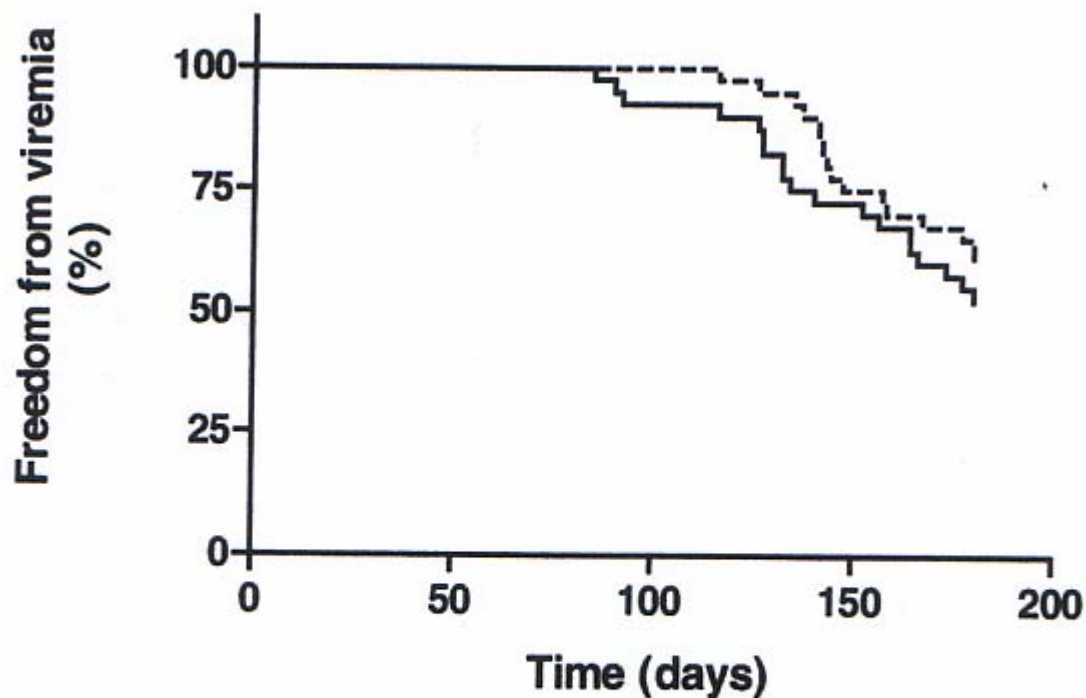
Effacité de la prophylaxie par valaciclovir



Lowance et al, N Eng J Med, 1999, 340: 1462-70

Transplantés de rein

Effacité de la prophylaxie par valganciclovir



Humar et al,
Am J Transplantation,
2005

Figure 1: Kaplan-Meier curve of time to CMV viremia in the two arms. Solid line is ganciclovir and dotted line is valganciclovir. Viremia is defined as any detectable viral load. $P = NS$ log rank statistic.

Le traitement préventif de l'infection à cytomégalovirus chez le transplanté d'organe : méta-analyse

Méta-analyse de 34 études randomisées sur la prophylaxie de l'infection à cytomégalovirus par l'aciclovir, le valaciclovir ou le ganciclovir

Réduit la mortalité globale de 40%

Réduit le risque de maladie à CMV de 60%

Réduit le risque d'infections à HSV et VZV de 70%

Réduit le risque d'infections bactériennes de 35%

Réduit le risque d'infections fongiques de 70%

quelque **soit le type d'organe greffé**

quelque **soit le statut sérologique du couple donneur/receveur**

Risque d'émergence de résistance au cours du traitement préventif

Exposition au valaciclovir



Résistance au GCV ?

In vitro* : CMV en culture en présence de concentrations croissantes d'ACV => mutations de *UL97

***In vivo* : mutation de *UL97* identifiée chez un receveur de greffe de rein après prophylaxie par valaciclovir (*Alain et al, J med Virol, 2004*)**

Reste très rare

Risque d'émergence de résistance au cours du traitement préventif II

Exposition au valganciclovir en prophylaxie



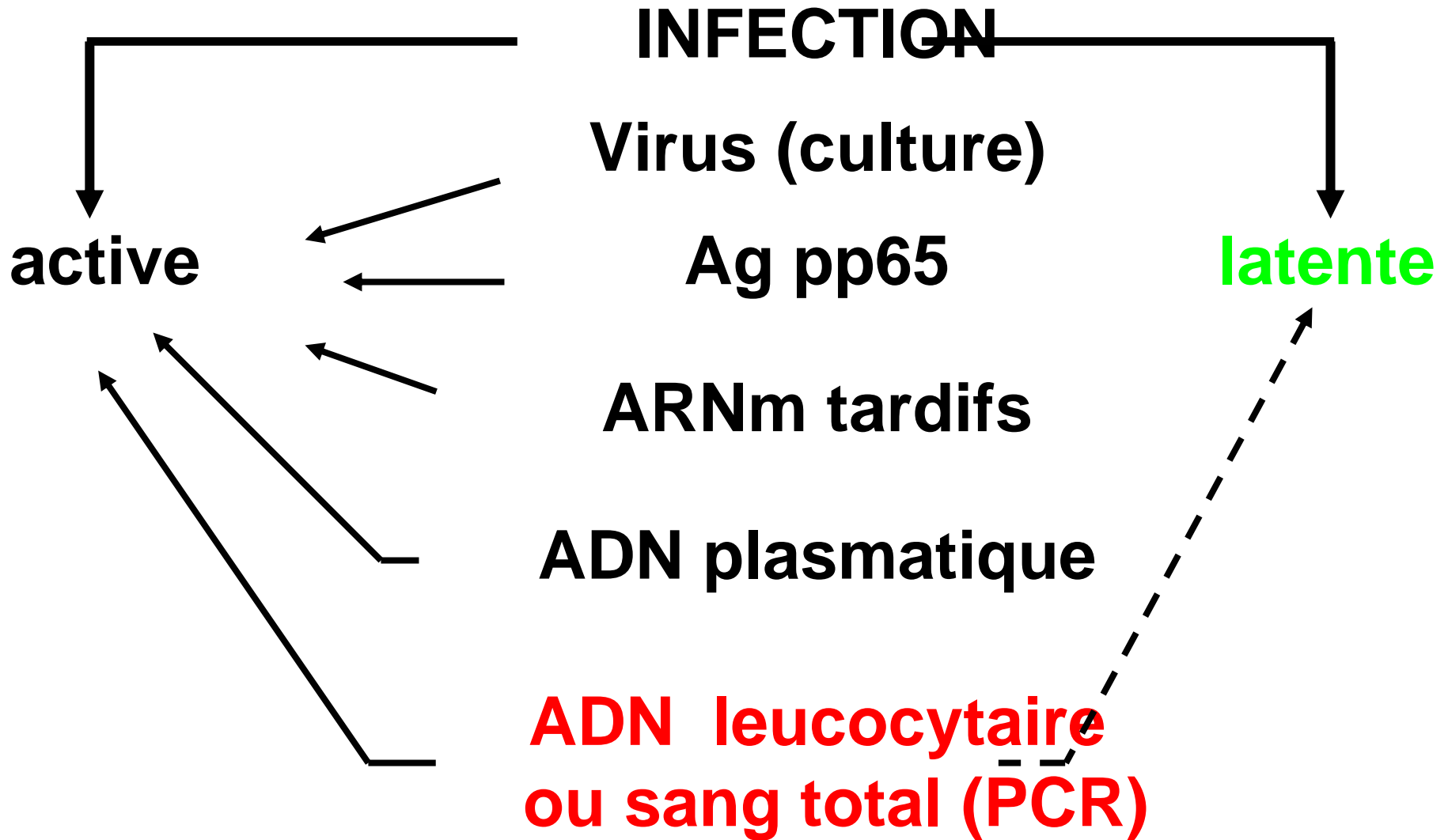
Quel risque de Résistance au GCV ?

Peu encore connue

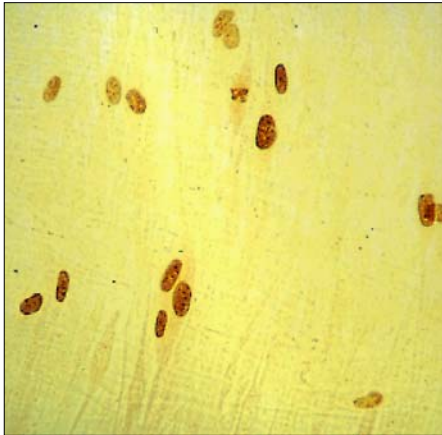
Description de cas cliniques isolés

**La stratégie du traitement préemptif
doit s'appuyer sur l'utilisation d'outils virologiques
performants : sensibles et spécifiques**

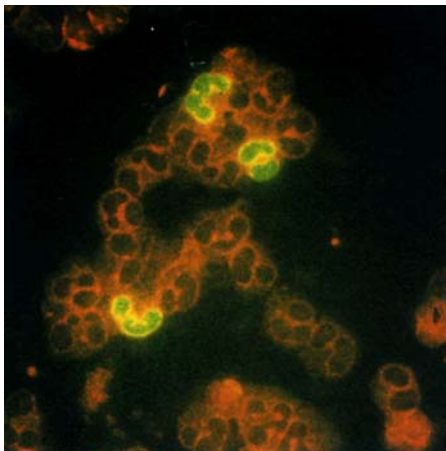
MARQUEURS SANGUINS DE L'INFECTION



Les méthodes virologiques traditionnelles



- Culture cellulaire:
abandonnée dans ce contexte : manque de sensibilité

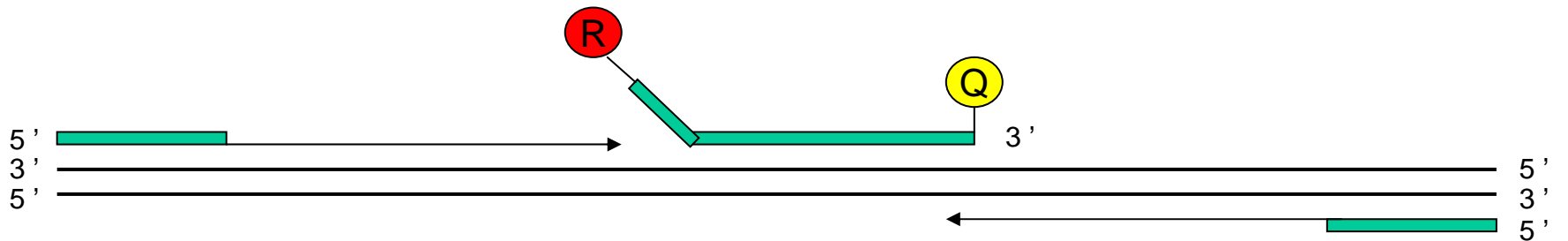


- **Antigénémie pp65:**
non standardisée, lecture subjective,
quantification peu précise
longue à réaliser, non automatisable,
de moins en moins utilisée

PCR Taqman®: principe (1)

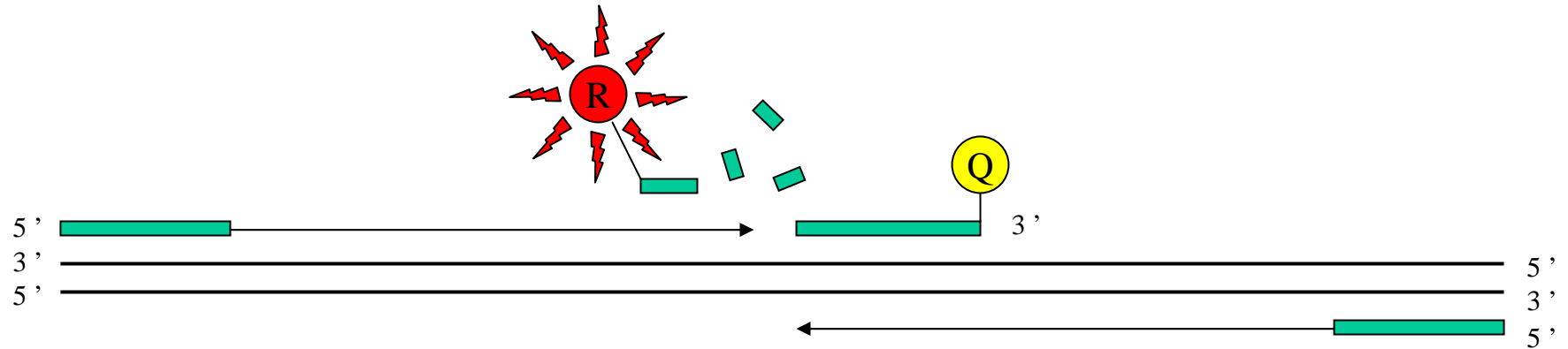


Polymérisation

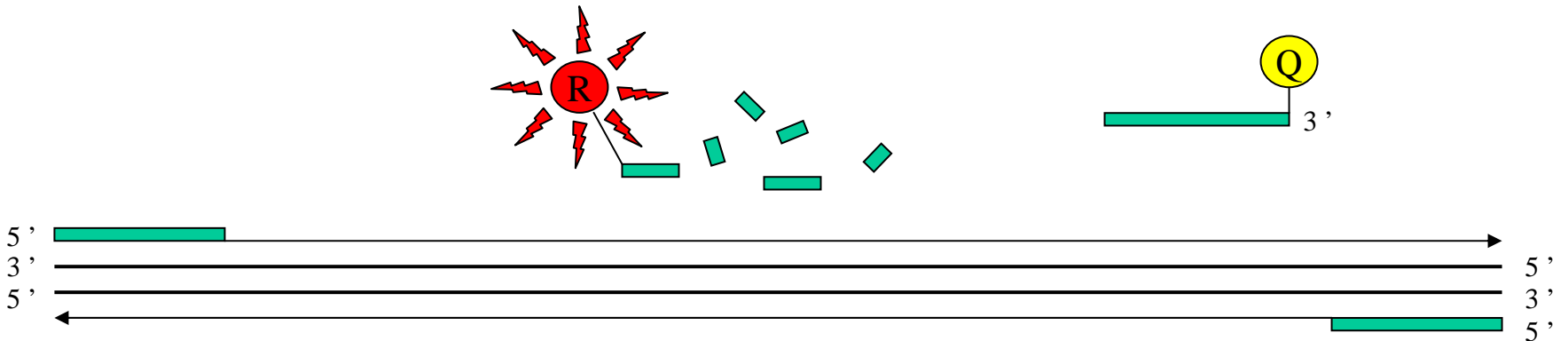


Déplacement

PCR Taqman®: principe (2)



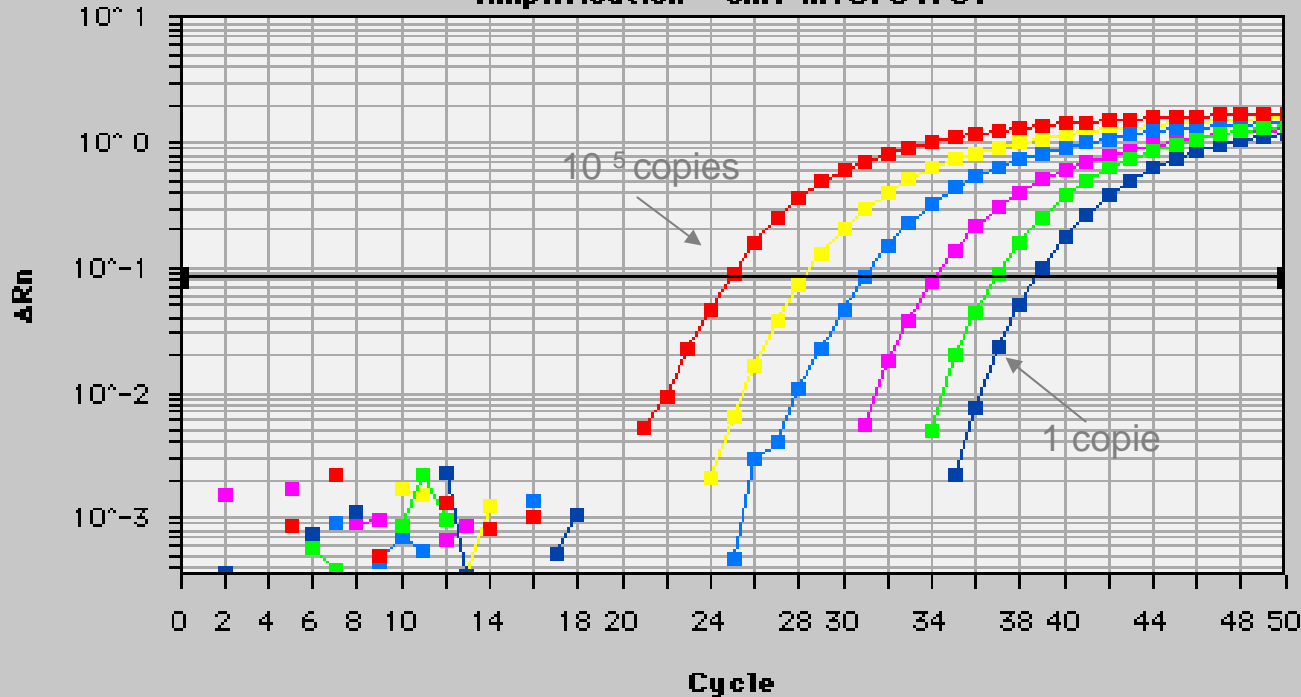
Clivage



Fin de polymérisation

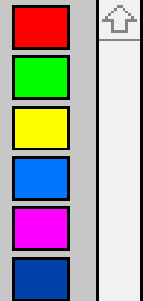
PCR temps réel

Amplification - cmv m13/04/01



Samples

- FAM - A5
- FAM - A7
- FAM - B5
- FAM - C5
- FAM - D5
- FAM - F5



Viewer: ▼

Reporter: ▼

Threshold Cycle Calculation

Threshold

Use Threshold:

Mult. * Stddev: *

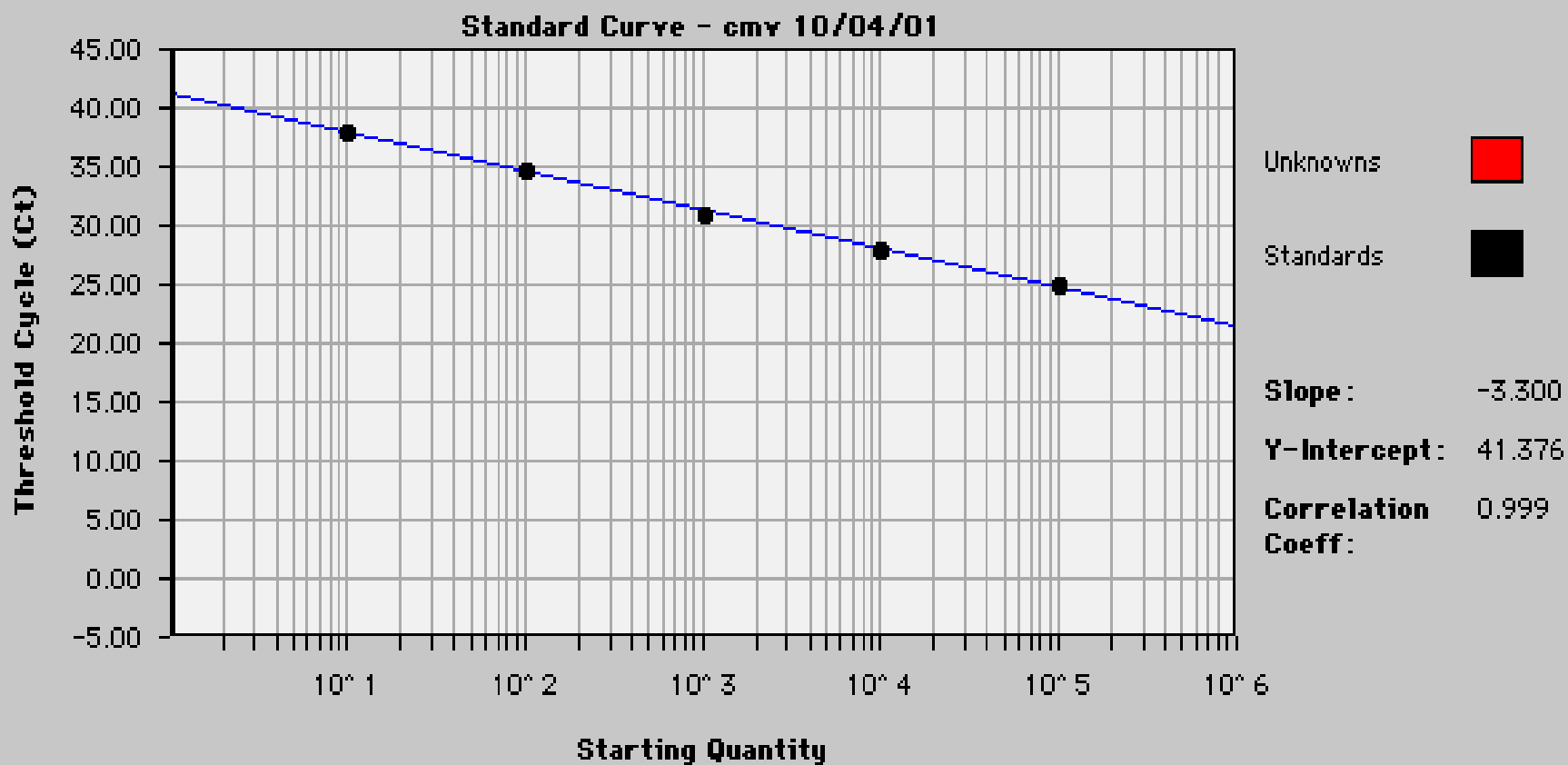
Omit Threshold:

Baseline

Start: Stop:

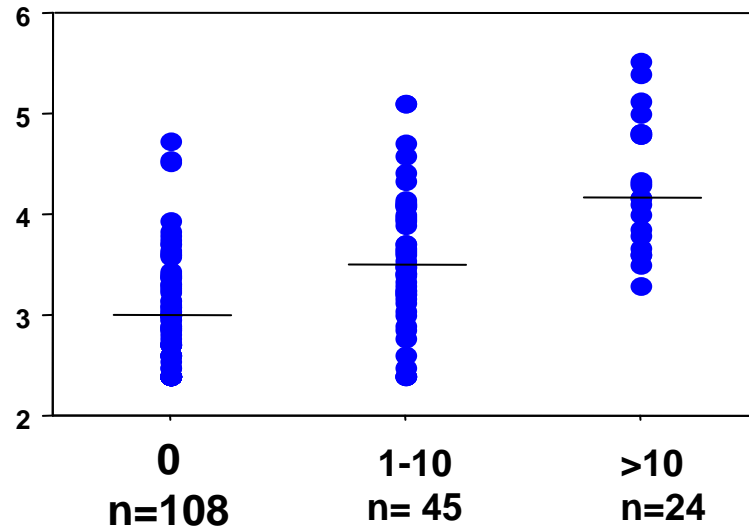
	Ct	Std Dev	
FAM - A7	36.881	0.001	↑
FAM - B5	28.198	0.001	
FAM - C5	30.906	0.001	
FAM - D5	34.111	0.001	⋮
FAM - F5	38.691	0.001	↓

Courbe d'étalonnage



Corrélation charge virale CMV plasmatique/ antigénémie pp65

CMV DNA in blood plasma
(log₁₀ copies/ml)



CMV antigen-positive cells/
100 000 leukocytes

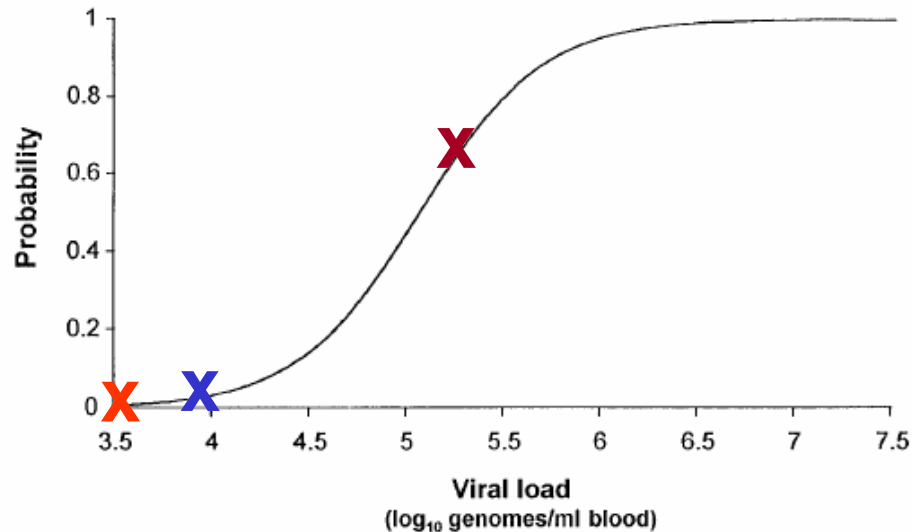
Médiane CV sang (copies/ml)

700 (2.8)	Ag = 0
2600 (3.4)	Ag + (1-10)
20 000 (4.3)	Ag + (>10)

N = 558

PCR CMV + = 177

Le suivi de la charge virale CMV par PCR quantitative (en temps réel) s'imposée pour le diagnostic de l'infection



Plus la charge virale sanguine est élevée
-plus le risque de maladie à CMV est élevée
-et plus la réponse au traitement est longue

- Les techniques de PCR sont **très sensibles** pour le diagnostic de l'infection à CMV: tt précoce
- **Difficulté à établir un seuil** de charge virale annonciateur d'évolution vers la maladie?

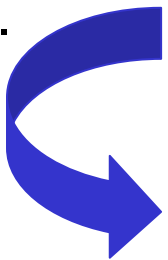
Quand doit-on commencer un traitement anticipé ?

- **Suivi de la réplication virale** : antigénémie pp65, ADNémie sanguine 1 fois/semaine après allogreffe, à chaque consultation pour les patients VIH CD4<100 mm³
- **Greffe de moelle** :
 - 1^{ère} antigénémie positive
 - 1^{ère} charge virale plasmatique positive
- **Patients HIV positifs**:
 - 1^{ère} antigénémie positive
 - 1^{ère} charge virale plasmatique positive
- **Greffe d'organe**: variable selon les centres, les types de greffe..

Corrélation entre charge virale CMV plasmatique /maladie à CMV chez les greffés rénaux?

En histoire naturelle (pas de tt : préventif ou préemptif): bonne VPP

- Hassan-Walker, UK, J Med virol, 1999. 87 greffés. PCR 4,5 log = 100% sensibilité, PPV =67%
- Rayes et al, Berlin Charité. Ann Transplant 2005. 72 transplantés : PPV Ag pp65: 75% > à 20/200000 cells; PPV =100% PCR CMV > 30 000 copies/ml



Une charge virale élevée > 4.5 log
est fortement associée
à une maladie à CMV présente ou future

Les antiviraux utilisés pour le traitement préemptif de l'infection à CMV

- **Ganciclovir (Cymevean®)**
 - Attaque: 5 mg/kg/IV 2 X /jour 14-21 jours
 - Entretien: 5 mg/kg/IV 1 X /jour 7 jours
 - Toxicité hématologique (CI si PNN < 500/mm³)
- **Foscarnet (Foscavir®)**
 - Attaque: 90 mg/kg/IV 2 X /jour 14-21 jours
 - Entretien: 90 à 120 mg/kg/IV 1 X /jour 7 jours
 - Néphrotoxicité (adapter à la fct rénale)
- Voie centrale si possible, hyperhydratation par > 1 l NaCl 0,9%

Les antiviraux utilisés pour le traitement préemptif de l'infection à CMV

Valganciclovir :

- Attaque: 900 x2/jour pdt 14 jours
- Entretien: 900 x 1/jour au moins 7 jours après un test de PCR négatif
- Si PNN > 500/mm³

Etudes:	Greffe/nb	Succès virologique	Rechute
Devyatko et al, Transpla, 2003	Cœur/8	100%	0%
Humar et al JID, 2005	Organes/32	93%	12%
Kalpoet et al, Antivir Ther, 2005	Rein, pancréas/15	100%	0%
Singh et al, Transplantation, 2005	Foie/17	100% (Ag pp65)	47%
Mattes et al, JID, 2005	Organes/23	100%	28%
Ayala et al, BMT, 2006	BMT/26	80%	10%

Conduite à tenir en cas d'échec thérapeutique

- Efficace: Baisse significative de la charge virale (< 0.5 log) en 1 semaine
- Échec: Si CV augmente ou n'a pas diminuée de plus de 1 log en 15 jours:
 - **Dosage pharmacologique**, 1 tube sang hépariné, résiduelle
Concentration efficace de ganciclovir: 0,5 à 1 mg/l.
 - **Si dosage correct : recherche d'une résistance aux anti-viraux**

Cytomégalovirus et résistance aux antiviraux

Chez les patients VIH positifs :risque élevé

Durée	3m	6m	9m	12m	réf
GCV	7%	12%	27%	27%	<i>Jabs, 1998</i>
valGCV	2%	7%	9%	13%	<i>Boivin, 2001</i>
PFA	9%	26%	37%	37%	<i>Jabs, 1998</i>
		13%	24%	37%	<i>Weinberg, 2003</i>
CDV	29%				<i>Jabs, 1998</i>

Martin et al, CID, 2007:suivi de 257 patients traités par CGV

Résistance cumulée à 2 ans au CGV :

avant 1996: 28%

après 1996 : 8,8%

Facteur de risque principal : CD4 < 50 cellules/mm³

Cytomégalovirus et résistance aux antiviraux

Receveurs de greffe d'organe

Résistance au ganciclovir: un événement rare

Type de greffe	Total	Incidence%	
		R+	D+/R-
Cœur	0,28	0	1,4
Rein	0,54-1	0	2,6-5
Rein-pancréas	13	0	21
Poumon	3,3-9	1-4,4	9-27
Foie	0	0	0

Limaye, 2002, CID

Cytomégalovirus et résistance aux antiviraux

Chez les receveurs de moelle ou de CSH : rare

-Cas isolés rapportés, surtout chez des enfants

-Cohortes de receveurs sous traitement anticipé par GCV : absence de résistance (Gerna, Boivin, 2001)

Cytomégalovirus

Antiviraux en développement

Inhibiteur de UL97 : Maribavir (ViroPharma)

- **Spectre** : CMV et EBV
- **PO**
- **Bien toléré** (nausées, perturbations du goût)
- **Efficacité in vivo** (phase 2 : réduction de l'excrétion virale asymptomatique chez des patients VIH+, prophylaxie de l'infection chez des receveurs de cellules souches hématopoïétiques)

Inhibiteurs de la terminase virale

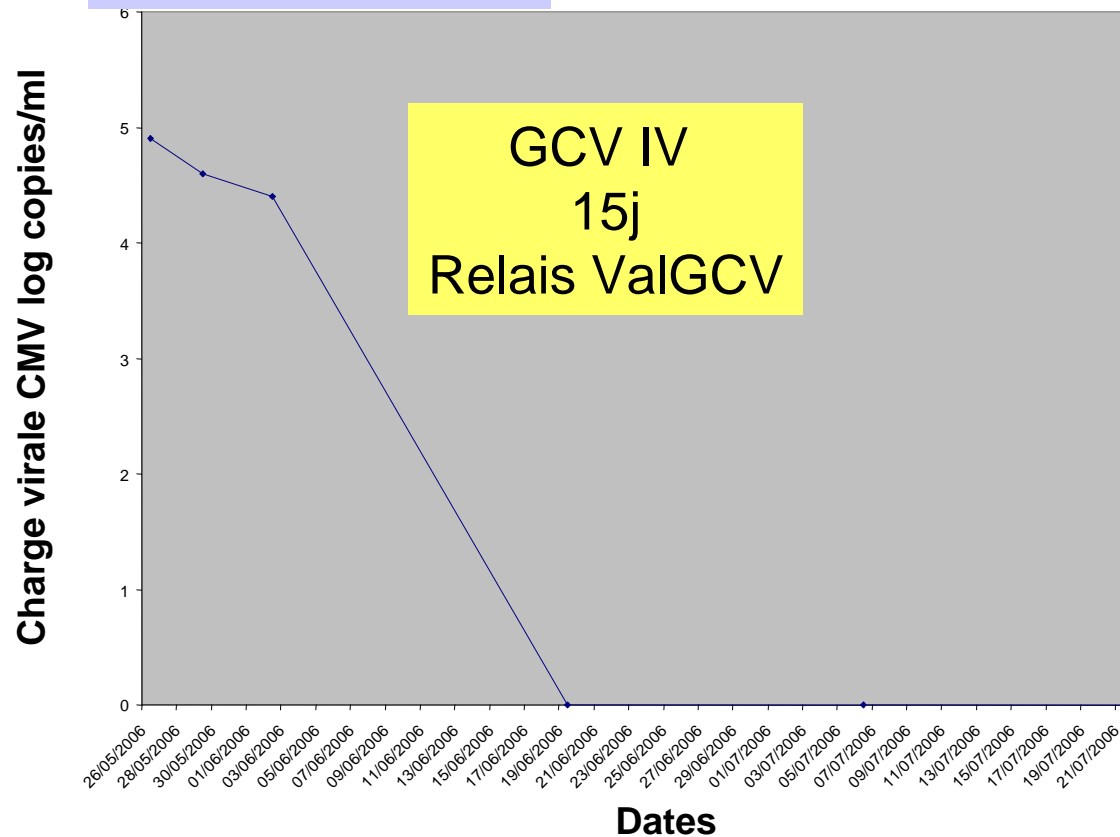
Ester de cidofovir

toxicité rénale réduite

administration PO

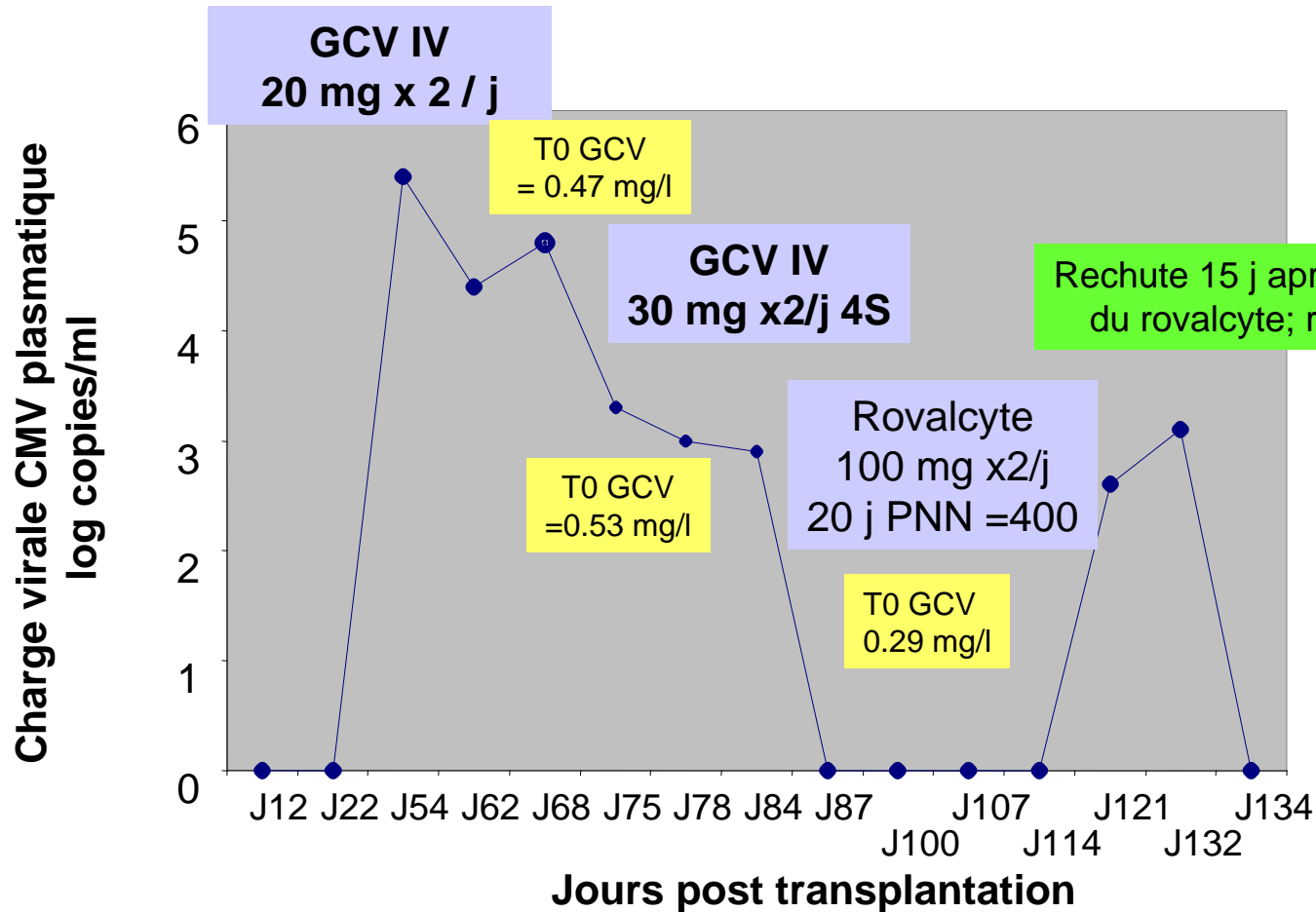
Mme V, 23 ans, greffe rénale, D+/R-

M4,
leuconeutropénie
isolée



Jeanne, 4 mois, transplantation cardiaque CMV D+R-, 6 kg

J54: Epanchement péricardique
5.1 log copies/ml dans liquide péricardique



Mr T, 66 ans, transplanté rein

