



FÉDÉRATION ALGÉRIENNE DE PHARMACIE

Disponible en ligne sur

ASJP
 Algerian Scientific Journal Platform

<https://www.asjp.cerist.dz/en/PresentationRevue/436>


ARTICLE ORIGINAL

Intérêt de la quantification de la charge virale du cytomégalovirus en transplantation rénale

Interest in quantifying cytomegalovirus viral load in kidney transplantation

 Maria HAZI^{a,*}, Leïla Karima ZIANE^b, Lilya Meriem BERKANI^c
^a Faculté de pharmacie d'Alger - Université d'Alger 1

^b Faculté de pharmacie d'Alger - Université d'Alger 1

^c Service d'immunologie CHU Issaad Hassani de Beni Messous

MOTS CLÉS

 Cytomégalovirus ;
 Charge virale ;
 PCR en temps réel ;
 Transplantés rénaux

Résumé

Introduction : L'infection à cytomégalovirus (CMV) demeure une complication infectieuse majeure chez les transplantés rénaux. Plusieurs facteurs de risque sont incriminés dans l'infection à CMV tels que le statut sérologique du donneur (D) et du receveur (R), l'immunosuppression, le rejet du greffon ainsi que le mésappariement HLA de classe I. La prévention de l'infection peut être réalisée par la prophylaxie antivirale ou le traitement préemptif. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'intérêt de la quantification de la charge virale du CMV en post-transplantation rénale (TR) tandis que l'objectif secondaire est d'étudier les facteurs de risque de cette infection

Méthodes : Il s'agit d'une étude réalisée au niveau du laboratoire d'immunologie du CHU Issaad Hassani de Beni Messous portant sur 65 transplantés (Moyenne d'âge 33 ans ± 11,07, sexratio H/F=1,8). La quantification de la charge virale du CMV a été réalisée par PCR en temps réel à partir du plasma.

Résultats : Seuls 18,2% des patients ont adhéré au suivi systématique. La fréquence la plus élevée du dépistage se situait à trois semaines après la TR. 67,9% des patients ont présenté une charge virale positive au cours de la première année post-TR, et parmi les patients suivis, 68,2% ont présenté une virémie à CMV. Pour les patients positifs traités, une négativation et une baisse de la charge virale ont été notées respectivement chez 50% et 40% des cas. Concernant l'étude des facteurs de risque de l'infection à CMV, la charge virale était positive chez respectivement 40,7%, 50% et 100% des R+/D+, R-/D+, et R+/D-. 57,1% des patients surdosés en immunosuppresseurs ont présenté une charge virale positive. 66,7% des patients ayant présenté un rejet aigu ont développé une infection à CMV, et seuls 14,3% et 22,2% des patients ne présentant aucun mésappariement HLA respectivement de classe I et II ont présenté une charge virale positive.

Conclusion : L'infection à CMV chez les patients transplantés rénaux pose un défi majeur sur le plan clinique et biologique. Une surveillance rigoureuse de la charge virale est essentielle pour évaluer l'évolution de l'infection.

KEYWORDS

Cytomegalovirus;
Viral load;
Real time PCR;
Kidney transplants

Abstract

Introduction : Cytomegalovirus (CMV) infection remains a major infectious complication in kidney transplant recipients. Several risk factors are implicated in CMV infection, such as the serological status of the donor (D) and recipient (R), immunosuppression, graft rejection, and HLA class I mismatch. Infection prevention can be achieved through antiviral prophylaxis or preemptive treatment. The main objective of this study is to evaluate the interest of quantifying the viral load of CMV in post-kidney transplantation (KT), while the secondary objective is to study the risk factors for this infection.

Methods : This is a study conducted at the Immunology Laboratory of the CHU Issad Hassani in Beni Messous, involving 65 transplant recipients (mean age 33 years \pm 11.07, sex ratio M/F = 1.8). The quantification of CMV viral load was performed by real-time PCR from plasma.

Results : Only 18.2% of patients adhered to systematic monitoring. The highest frequency of screening was at three weeks after TR. 67.9% of patients had a positive viral load during the first year post-KT, and among the patients followed, 68.2% had CMV viremia. For treated positive patients, negativation and a decrease in viral load were noted in 50% and 40% of cases, respectively. Regarding the study of risk factors for CMV infection, the viral load was positive in 40.7%, 50%, and 100% of R+/D+, R-/D+, and R+/D- patients, respectively. 57.1% of patients overdosed on immunosuppressive therapy had a positive viral load. 66.7% of patients who presented with acute rejection developed CMV infection, and only 14.3% and 22,2% of patients with no HLA class I and II mismatch respectively had a positive viral load.

Conclusion : CMV infection in kidney transplant recipients poses a major clinical and biological challenge. Strict monitoring of viral load is essential to assess the progression of the infection.

© 2023 Fédération Algérienne de Pharmacie. All rights reserved.

HAZI Maria – < hazimaria.box@gmail.com >

ZIANE Leïla Karima – < zianeleilakarima@gmail.com >

BERKANI Lilya Meriem – berkani.lm.immuno@gmail.com

Introduction :

Appartenant à la famille des Herpesviridae, le cytomegalovirus humain (CMV) ou Human Herpesvirus 5 (HHV5) est un virus ubiquitaire à double brin d'ADN (1). Mondialement répandu, le CMV infecte une large proportion de la population dès le plus jeune âge, l'infection est généralement bénigne et asymptomatique (2). Cependant, dans un contexte d'immunosuppression tel que la transplantation rénale (TR), ce virus devient particulièrement préoccupant (2).

L'infection par le CMV est la première cause de décès chez le transplanté rénal, c'est le pathogène opportuniste le plus fréquent survenant chez 20 à 30 % des receveurs de TR (3).

Ce virus peut donner lieu à diverses situations, telles qu'une infection à CMV caractérisée par la présence d'une virémie asymptomatique, ou encore d'une maladie à CMV accompagnée de manifestations cliniques et/ou biologiques (4,5).

Le tableau clinique le plus courant est celui d'une fièvre pseudo grippale (6).

Dans les cas les plus graves, le CMV peut être responsable d'une maladie invasive des tissus caractérisée par une atteinte multi-organique potentiellement fatale chez les sujets immunodéprimés (4,5).

Cette infection est associée à une morbidité plus élevée, à la hausse de l'incidence d'autres infections opportunistes, à la perte du greffon voire au décès du patient (4). La séroprévalence du CMV varie géographiquement avec un taux allant de 30 à 97%, les taux les plus élevés sont retrouvés dans les pays en développement (6,7).

Après TR, les principaux facteurs de risque influençant la survenue d'une infection à CMV sont le statut sérologique du donneur et du receveur, le type et le niveau d'immunosuppression, l'incompatibilité HLA de classe I ou encore le rejet aigu du greffon (8).

Plusieurs stratégies sont mises en place afin de prévenir et de limiter les complications liées à l'infection à CMV (9). On distingue la prophylaxie antivirale, le traitement préemptif et une approche hybride connue sous le nom de « surveillance après prophylaxie » (7). La prophylaxie consiste à prescrire systématiquement un traitement antiviral au patient après transplantation pendant une période déterminée, alors que le traitement préemptif se base sur une surveillance régulière et périodique de la charge virale du CMV, un traitement antiviral est instauré en cas d'augmentation de cette charge (10). La prophylaxie présente l'avantage d'une administration facile en ambulatoire, de plus elle est associée à un faible risque d'infections précoces à CMV pendant la durée du traitement, ainsi qu'à des taux réduits de rejets aigus de greffe (11). Cependant, elle peut entraîner l'apparition tardive d'une infection à CMV après l'arrêt du traitement, ainsi que le développement d'effets indésirables et des coûts médicamenteux importants (10).

Le traitement préemptif, quant à lui, présente un risque accru d'infection précoce à CMV, entraîne des coûts de laboratoire mais offre l'avantage d'une plus grande accessibilité et une moindre toxicité médicamenteuse (12).

Parmi les méthodes de laboratoire utilisées afin de révéler une infection à CMV, on distingue la biologie moléculaire avec la PCR en temps réel (qPCR), la recherche d'antigènes viraux spécifiques (la phosphoprotéine pp65), ainsi que les tests sérologiques (13).

La PCR est une technique de diagnostic qui présente l'avantage d'être sensible, spécifique et fiable pour la détection de l'ADN du CMV et la quantification de la charge virale dans les échantillons biologiques (13,14).

L'objectif principal de cette étude est l'évaluation de l'intérêt de la quantification de la charge virale du CMV en post TR, et ce en étudiant l'intérêt de la mise en place d'un suivi systématique durant la première année de TR d'une part, et l'évaluation de la pertinence de cette quantification devant toute suspicion clinique d'une infection à CMV.

L'objectif secondaire est l'étude des facteurs de risque de l'infection à CMV : Statut sérologique CMV du couple donneur-receveur en pré TR, degré d'immunosuppression, appariement HLA de classe I et II entre le donneur et le receveur ainsi que le rejet aigu d'allogreffe.

Matériel et méthodes

1. Matériel :

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'immunologie du CHU Issad Hassani de Beni Messous, se déroulant sur une période allant de novembre 2021 à avril 2023. L'étude a porté sur 65

patients ayant bénéficié d'une TR recrutés du service de néphrologie du même hôpital.

Une quantification de la charge virale du CMV par qPCR a été réalisée chez les receveurs de greffe, scindés en deux groupes : 22 (84 tests PCR) sont été soumis à un protocole de suivi systématique, tandis que 43 (66 tests PCR) présentent une suspicion d'infection à CMV. Les caractéristiques démographiques, cliniques et immunologiques des patients sont représentées dans le tableau 1.

2. Méthode :

Pour chaque patient, un prélèvement sanguin est réalisé sur tube EDTA accompagné d'une fiche de renseignements dûment complétée. Après une étape de centrifugation à 2500 tours/minute, le plasma est récupéré et conservé à +4°C. Si l'analyse est différée, il est alors congelé à -20°C. La quantification de l'ADN du CMV dans le plasma se déroule en deux étapes : Une étape d'extraction de l'ADN viral suivie d'une étape d'amplification par qPCR.

L'extraction repose sur le principe de la chromatographie sur colonnes à base de silice, en utilisant le kit QIAamp DSP virus kit (QIAGEN®). Elle comprend les étapes suivantes : une lyse cellulaire (tampon AVL) à partir de 140 µl de plasma, une précipitation par de l'éthanol absolu, deux lavages successifs et enfin une élution (tampon AVE) de l'ADN viral. Plusieurs centrifugations sont réalisées afin d'éliminer à chaque fois l'éluat. L'utilisation du mélange AVL + ARN-AVE permet d'augmenter la concentration de l'ADN viral.

Un contrôle interne est extrait en même temps que l'échantillon, ce qui permettra de contrôler la procédure d'extraction de l'ADN et de vérifier ultérieurement une éventuelle inhibition de la qPCR.

L'amplification et la quantification de la charge virale du CMV est réalisée grâce au kit Artus CMV LC PCR de QIAGEN® qui repose sur le principe de la PCR en temps réel utilisant des sondes d'hydrolyse (TaqMan®), utilisant l'instrument Gentier 96E (Tianlong®). Quatre standards de quantification (QS) de charge virale connue sont utilisés (10^4 , 10^3 , 10^2 et 10 copies/µl) ainsi qu'un contrôle négatif.

Le protocole d'amplification est constitué de trois étapes successives répétées 40 fois : Une dénaturation de l'ADN à 95°C pendant 5 secondes, une hybridation des amorces à 55°C pendant 20 secondes, une élongation à 72°C pendant 15 secondes, s'achevant par l'étape de refroidissement à 40°C pendant 30 secondes.

Les résultats obtenus exprimés en copies/µl sont convertis en copies/ml en utilisant l'équation suivante :

Résultat (copies/ml) = Résultat (copies/μl) x volume d'éluion en μl (60 μl) /Volume de l'échantillon en ml (0,14 ml)

Ces résultats sont ensuite exprimés en logarithme décimal selon un tableau de correspondance.

Tableau 1. Caractéristiques démographiques, cliniques et immunologiques des patients.

Caractéristiques	N=65
Moyenne d'âge (ans) ± écart type	33 ± 11,07
Hommes n (%)	42 (64,6)
Femmes n (%)	23 (35,4)
Sexe ratio H/F	1,8
Compatibilité ABO	Valeurs n (%)
Compatible	17 (26,2)
Identique	42 (64,6)
Pas d'information	6 (9,2)
Lien de parenté du donneur avec le receveur	Valeurs n (%)
Père/mère	27 (41,5)
Frère/sœur	25 (38,5)
Époux/épouse	6 (9,2)
Fils/fille	2 (3,1)
Oncle/tante	1 (1,5)
Grand-père/grand-mère	1 (1,5)
Pas d'information	3 (4,6)
Appariement HLA (% d'identité)	Valeurs n (%)
0	2 (3,1)
]0;50[14 (21,5)
50	21 (32,3)
]50;100[15 (23,1)
100	5 (7,7)
Non renseigné	8 (12,3)
Immunsation HLA avant transplantation	Valeurs n (%)
Présence d'anticorps anti-HLA	44 (67,6)
Absence d'anticorps anti-HLA	17 (26,2)
Pas d'information	4 (6,2)
Immunsation CMV avant transplantation	Valeurs n (%)
R+ / D+	54 (83,1)
R+ / D-	1 (1,5)
R- / D+	6 (9,2)
R- / D-	1 (1,5)
Pas d'information	3 (4,6)
Prophylaxie antivirale post TR	Valeurs n (%)

Oui	4 (6,2)
Non	61 (93,8)
Évènements immunisants	Valeurs n (%)
Oui	42 (64,6)
Non	18 (27,7)
Pas d'information	5 (7,7)
Traitement IS d'entretien	Valeurs n (%)
Tacrolimus	63 (96,9)
Cyclosporine	2 (3,1)

IS : immunosuppresseur

Résultats

1. Quantification de la charge virale du CMV et signes clinico-biologiques associés :

Seulement 4 soit 18,2% des patients du suivi systématique ont débuté le monitoring pendant la première semaine suivant la TR. La fréquence du premier screening la plus élevée s'observe à la troisième semaine après la greffe avec un pourcentage de 27,3 correspondant à 6 patients (Figure 1). Pour les patients du suivi systématique, une moyenne de 4 ± 2,2 tests PCR/patient ont été réalisées (Tableau 2).

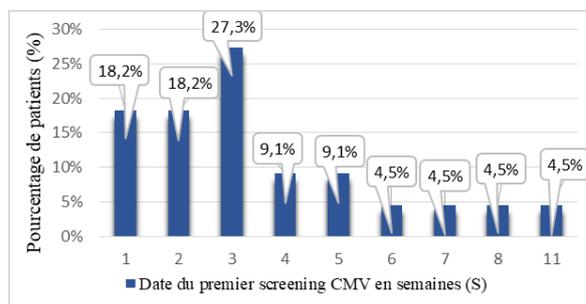


Figure 1. délai entre la date de transplantation rénale et le premier screening CMV.

Tableau 2. répartition des patients du suivi systématique selon le nombre de PCR réalisées.

Nombre de PCR réalisées	Nombre de patients n (%)
1	4 (18,2)
2	4 (18,2)
3	2 (9,1)
4	3 (13,6)
5	4 (18,2)
6	1 (4,5)
7	4 (18,2)

Parmi l'ensemble des patients, 67,9% (19 patients) ont été testés positifs au CMV au cours de la première année suivant la TR. Parmi eux, 79% (15 patients) étaient inclus dans le suivi systématique, tandis que 21% (4 patients) présentaient une suspicion d'infection à CMV (Figure 2). Sur les 19 patients avec une charge virale positive la première année post TR, 79,0% (15 patients) ont contracté l'infection (Figure 2). Un pic des patients positifs la première année post TR a été noté à la quatrième semaine avec un pourcentage de 26,1 (5 patients).

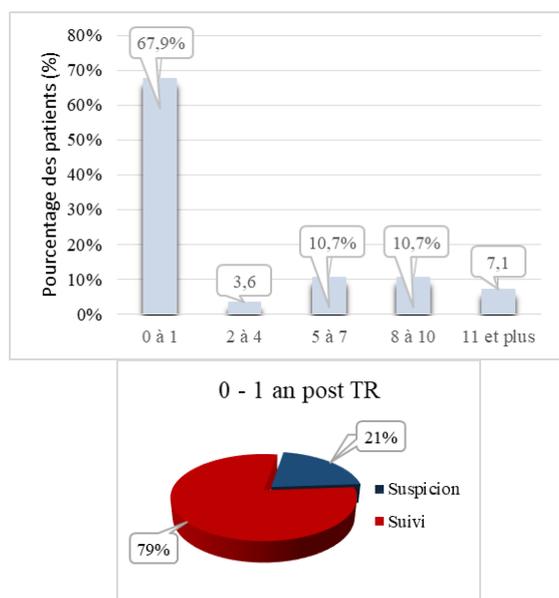
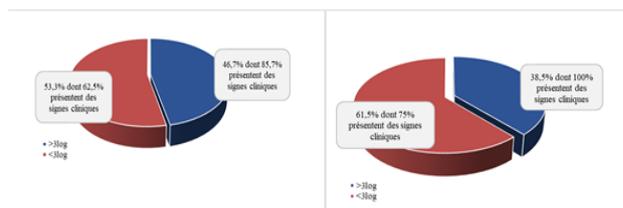


Figure 2. délai entre la TR et la première charge virale positive des patients positifs de l'étude en nombre d'années.

Parmi les 22 patients soumis au suivi systématique (33,8% de l'échantillon total), 15 d'entre eux (68,2%) ont présenté au moins une fois une infection à CMV dont 7 (46,6%) avaient une charge virale supérieure ou égale à 3 log₁₀. Dans ce groupe, 6 patients (85,7%) ont présenté des signes cliniques d'infection à CMV (Figure 3).

Parmi les 43 patients suspectés d'être positifs au CMV (66,2% de l'échantillon total), 13 (30,2%) ont présenté une infection à CMV dont 5 (38,5%) avaient une charge virale supérieure ou égale à 3 log₁₀. Dans ce groupe, tous les patients ont présenté des signes cliniques d'infection à CMV (Fig 3). Aucune association significative n'a été obtenue en comparant entre la charge virale CMV (>3log et <3log) et les signes cliniques pour les deux groupes de patients.



Patients du suivi systématique (p=0,56) Patients de la suspicion de l'infection (p=0,49)

Figure 2. Répartition des transplantés rénaux selon la charge virale du CMV et la présence des signes cliniques.

Les signes clinico-biologiques les plus fréquents rapportés chez les patients positifs pour le CMV sont la leuco-lymphopénie (57,1%) et la dégradation de la fonction du greffon (35,7%) (Tableau 3).

Tableau 3. répartition des signes clinico-biologiques des patients positifs de l'étude.

Signes clinico-biologiques	n (%)
Leuco-lymphopénie	16 (57,1)
Dégradation de la fonction du greffon	10 (35,7)
Fièvre	6 (21,4)
Diarrhées	6 (21,4)
Rejet de greffe	4 (14,3)
Douleurs abdominales	4 (14,3)
Toux	3 (10,7)
Anémie	2 (7,1)
Pancréatite	2 (7,1)
Courbatures	1 (3,6)
Asthénie	1 (3,6)
Amaigrissements	1 (3,6)

2. Devenir de la charge virale des patients positifs :

Sur l'ensemble des patients positifs, 10 d'entre eux (35,7%) ont bénéficié d'un traitement antiviral tandis que 9 (32,1%) n'ont pas été traités (Figure 4).

Parmi les patients traités 50% (5 patients) ont réussi à obtenir une négativation de leur charge virale, et 40% (4 patients) ont connu une diminution de celle-ci. Dans le groupe non traité, une augmentation de la charge virale a été observée chez 11,1% (1 patient) des greffés (Figure 4).

Il convient de noter que 9 patients positifs (32,1%) ont été perdus de vue.

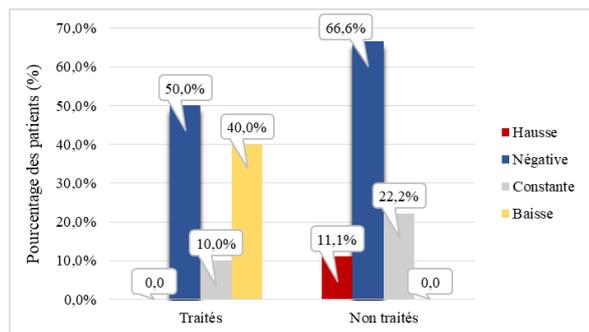


Figure 4. Devenir de la charge virale des patients positifs selon le traitement antiviral.

3. Infection à CMV et facteurs de risque :

3.1 Statut sérologique pré-greffe :

Parmi les patients ayant un statut sérologique R+D+, 22 d'entre eux (40,7%) ont présenté une virémie positive. Tous les patients avec un statut sérologique R+D- et R-D- ont également présenté une charge virale positive, tandis que 3 patients (50%) avec un statut sérologique R-D+ étaient positifs (Tableau 4).

Aucune association significative n'a été notée en comparant le statut sérologique CMV pré-greffe à l'infection à CMV (p= 0,41).

Tableau 4. répartition des patients de l'étude selon le statut sérologique et la charge virale CMV.

Sérologie CMV receveur (R)/donneur (D) pré-greffe	Patients CMV+ n (%)	Patients CMV- n (%)
R+D+	22 (40,7)	32 (59,3)
R+D-	1 (100)	0 (0)
R-D+	3 (50)	3 (50)
R-D-	1 (100)	0 (0)

3.2 Immunosuppression :

La concentration résiduelle C0 a été utilisée pour apprécier le degré d'immunosuppression des transplantés. Dans le groupe des patients en surdosage, 8 d'entre eux (57,1%) ont présenté une charge virale positive alors que 11 patients (34,4%) des transplantés dont la C0 était dans les normes avaient une charge virale positive (Figure 5).

Il est important de noter que la concentration résiduelle en immunosuppresseur n'a pas été renseignée chez 9 patients de l'étude (13,8%). De plus aucune association significative n'a été observée en comparant entre la concentration résiduelle en immunosuppresseur et la charge virale CMV (p=0,31).

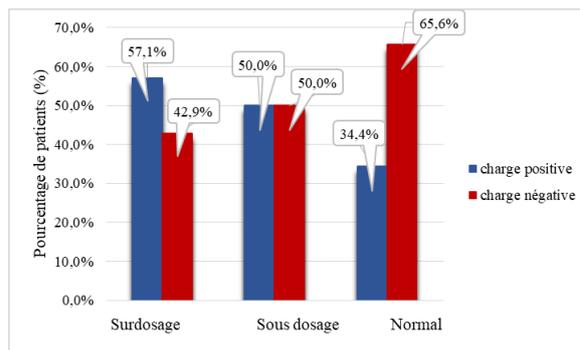


Figure 5. répartition des patients selon la concentration résiduelle en immunosuppresseur et la charge virale du CMV.

3.3 Épisode de rejet du greffon :

Au sein de la cohorte de patients, 6 soit 9,2% ont connu un épisode de rejet de greffe. Parmi ces cas de rejet, 4 patients (66,6%) ont été identifiés comme des rejets aigus humoraux, 1 patient (16,6%) a connu un rejet cellulaire, et 1 patient (16,6%) a présenté un rejet infraclinique. Il est intéressant de noter que l'infection à CMV s'est développée après l'épisode de rejet chez 4 patients soit 66,6% des cas de rejet (75% rejet humoral et 25% rejet infraclinique).

3.4 Appariement HLA de classe I et classe II :

La figure 6 montre que plus de 85% (5 patients) des receveurs présentant 100% d'appariement HLA classe I avec leur donneur n'ont pas développé d'infection à CMV. Aucune association significative n'a été obtenue en comparant entre l'appariement HLA classe I et l'infection à CMV (p= 0,44).

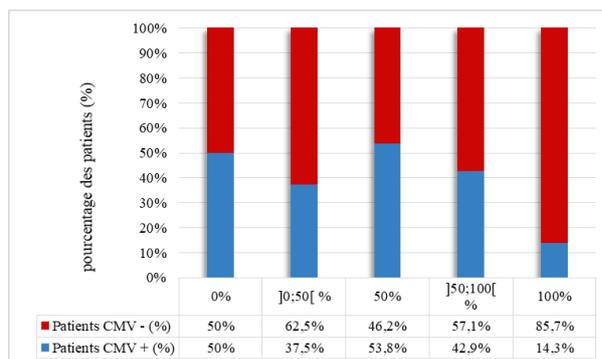


Figure 6. Répartition des patients selon le pourcentage d'appariement HLA de classe I et la charge virale CMV.

La figure 7 montre que plus de 77% (7 patients) des receveurs présentant 100% d'appariement HLA classe II avec leur donneur n'ont pas développé d'infection à CMV. Aucune association significative n'a été observée en comparant entre l'appariement HLA classe II et l'infection à CMV (p=0,34).

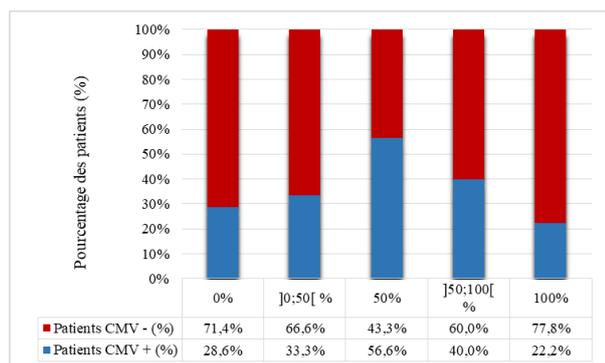


Figure 7. Répartition des patients selon le pourcentage d'appariement HLA de classe II et la charge virale CMV.

Discussion

1. Les méthodes de laboratoire :

Les méthodes de dépistage et de diagnostic du CMV disponibles au laboratoire incluent les tests moléculaires par PCR, l'antigénémie pp65, l'histopathologie et la culture virale (15). Des mesures de l'immunité spécifique à CMV, telles que la sérologie CMV et l'évaluation de la réponse cellulaire T CD8 spécifique par quantification de l'interféron gamma, peuvent également être utilisées pour évaluer le risque d'infection par le CMV après une transplantation d'organe solide (6). La PCR en temps réel est le test de prédilection pour le diagnostic de l'infection à CMV, le suivi post traitement préventif, l'évaluation de la réponse au traitement antiviral et de la résistance aux antiviraux (1,15). Ce test offre l'avantage de fournir des résultats rapides et de détecter de faibles niveaux d'ADN du CMV (14,15).

Le kit de quantification de la charge virale du CMV utilisé dans notre étude (Artus, Qiagen®) a été validé pour la surveillance régulière de la réplication virale du CMV par qPCR (15). La quantification à partir du plasma présente une plus grande sensibilité par rapport au sang total, ce qui justifie notre choix.

2. Le suivi systématique, adhérence & importance :

Le CMV est la principale cause d'infection opportuniste chez les transplantés rénaux, en raison de son potentiel réplicatif élevé, de sa distribution mondiale étendue et de sa capacité à établir une latence virale (1,2). La mise en place d'une surveillance régulière de la charge virale pour détecter et traiter rapidement toute réactivation ou nouvelle infection durant la première année suivant la greffe a été l'un de nos objectifs principaux. Notre analyse a révélé que la majorité des patients soumis au suivi systématique (63,7%) ont réalisé leur premier screening du CMV durant les 3 semaines post TR. Par ailleurs, seule une moyenne de 4 PCR/patient a été effectuée

durant ce suivi. Selon la Société canadienne de transplantation, la fréquence idéale de surveillance reste indéterminée, mais il est recommandé d'instaurer un suivi hebdomadaire pendant les 3 premiers mois après la greffe, étant donné que cette période est associée au plus grand risque d'infection (16). Les résultats de notre étude mettent en évidence les difficultés rencontrées pour instaurer un monitoring régulier, en raison du manque d'adhésion des patients et/ou cliniciens au protocole de suivi systématique.

Selon une étude rétrospective turque publiée en 2017, près de trois quarts (73,5%) des transplantés rénaux ont développé une infection à CMV dans les trois premiers mois suivant la greffe (17). Une autre étude a révélé que plus de 89% des receveurs avaient contracté l'infection au cours des cinq mois post transplantation (18). Nos résultats corroborent ces constatations au cours de la première année post TR. La fréquence élevée de l'infection à CMV au cours de cette période rend compte de l'importance d'instaurer un suivi systématique rigoureux.

3. Charge virale positive et signes cliniques :

Selon une étude rétrospective belge publiée en 2020, la stratégie préemptive préconise de débuter un traitement antiviral chez le transplanté lorsque la charge virale plasmatique du CMV dépasse 3,5 log 10 et/ou lorsqu'il y a une augmentation d'au moins 1 log 10 de cette charge virale en une semaine (19).

Le seuil de traitement antiviral n'a pas fait l'objet d'une harmonisation internationale, en raison du manque de reproductibilité inter laboratoire des résultats, vu les variabilités dans les méthodes de quantification ou encore dans le type de prélèvement testé (20).

À notre niveau, les néphrologues ont convenu d'initier un traitement à partir d'une charge virale plasmatique de 3 log10. Les patients dont la charge virale dépassait ce seuil ont présenté des taux significativement plus élevés de signes cliniques. En effet, tous les patients suspectés d'avoir contracté l'infection et 85,7% des patients du suivi systématique ont développé une maladie à CMV. Cependant aucune association significative n'a été obtenue en comparant la charge virale CMV et les signes cliniques pour les deux groupes de patients inclus dans notre étude.

Ces résultats justifient pleinement la décision de débuter un traitement dès que la charge virale atteint ce seuil. Les effets directs du CMV résultent de sa capacité à se répliquer, à se propager et à envahir les tissus des organes cibles (6). La plupart du temps, les patients développent une maladie à CMV caractérisée par un tableau clinique non spécifique de type syndrome pseudo grippal

fréquemment associé à une leucopénie et à une thrombocytopénie (6). Il est important de noter que les sujets immunodéprimés sont particulièrement vulnérables aux atteintes tissulaires plus sévères et invasives causées par le CMV, le tractus gastro-intestinal est particulièrement susceptible d'être affecté, avec une prévalence de 40% (2). En accord avec cela, les signes cliniques les plus fréquemment constatés dans notre étude sont la leucopénie (57,1%), la fièvre (21,4%) et les diarrhées (21,4%). En ce qui concerne la maladie invasive des tissus, nous avons observé que 7,1% des patients avaient développé une pancréatite.

4. Le devenir des patients positifs :

Dans le groupe de patients traités, 50,1% ont montré une diminution de la charge virale initiale, tandis que pour 40% d'entre eux, la charge virale était indétectable. Ces résultats témoignent de l'efficacité des antiviraux utilisés, tels que le ganciclovir administré par voie intraveineuse ou sa prodrogue orale, le valganciclovir, prescrits pendant une période de deux à trois semaines. Le ganciclovir est le traitement gold standard de la maladie à CMV (2) même si les deux formes de traitement ont démontré une efficacité similaire (21). Le choix du ganciclovir est recommandé en cas de mauvaise absorption intestinale ou de charge virale élevée (6). Selon les directives britanniques, le traitement antiviral est interrompu à la disparition des symptômes et lorsque deux mesures consécutives de la charge virale CMV reviennent négatives, à une semaine d'intervalle (21). Dans le groupe de patients non traités, on observe une augmentation de la charge virale chez 11,2% d'entre eux, ce qui peut être attribué à l'absence de traitement antiviral. Cependant, il est important de noter que pour 66,6% de ces patients, la charge virale est devenue indétectable, suggérant une réponse immunitaire efficace. Par ailleurs, en réduisant l'immunosuppression, il serait possible de favoriser la réactivation ou le développement d'une réponse immunitaire spécifique à CMV, contribuant ainsi à un meilleur contrôle à long terme de l'infection virale (6).

5. CMV et facteurs de risque :

Le statut sérologique pré-greffe du CMV du donneur et du receveur constitue le principal facteur de risque de survenue d'une infection à CMV (22). Par ailleurs, il en existe d'autres, tels que le type et le degré d'immunosuppression, les épisodes de rejet du greffon, ou encore l'incompatibilité HLA de classe I (22).

Il peut également arriver que la réactivation du virus latent soit la conséquence de l'activation de l'immunité par une réponse inflammatoire, un

stress physique ou émotionnel, ou d'autres infections concomitantes (23).

5.1. Le statut sérologique CMV pré-greffe du donneur et du receveur :

La sérologie pré-greffe permet de prédire et d'évaluer le risque d'infection à CMV chez le receveur, en le stratifiant en différents groupes (7). Dans cette étude, la grande majorité des patients (83,1%) ont présenté une sérologie pré-greffe R+/D+, suivie par les R-/D+ (9,2%). Les sérologies R+/D- et R-/D- représentent chacune 1,5% des patients.

Ces résultats sont cohérents avec ceux d'une étude mexicaine rétrospective qui a rapporté une prévalence élevée du statut sérologique R+/D+ (92,1%) suivi du R-/D+ (7,7%) et du R-/D- (0,2%) (24).

Les patients du groupe R-/D+ présentent le plus haut risque, avec une incidence de primo-infection pouvant atteindre 80% en l'absence de traitement préventif (8,11). En accord avec cela, la moitié des patients à haut risque de notre étude ont présenté une charge virale positive, et un tiers d'entre eux ont contracté une maladie à CMV. Les patients R+ sont considérés comme étant à risque intermédiaire, avec un risque plus élevé lorsque le donneur est séropositif (R+/D+), pouvant atteindre 54%, en raison d'une réactivation du virus chez le receveur ou d'une réinfection par le greffon du donneur (25). Les patients du groupe R-/D- sont quant à eux associés au risque le plus faible d'infection à CMV (15).

Il est recommandé d'administrer une prophylaxie antivirale d'une durée de 3 à 6 mois à tous les receveurs à haut risque (2). Dans l'étude IMPACT, une prolongation de la durée du traitement à 6 mois a été associée à une baisse significative de la fréquence de la maladie à CMV ainsi que les infections tardives (11).

Seuls 33,3% des patients à haut risque de notre étude ont bénéficié d'une prophylaxie antivirale arrêtée précocement en raison des ruptures des thérapies antivirales. Parmi les patients du groupe R+/D+, 40,7% ont présenté une virémie positive, avec 86,4% développant une maladie à CMV. Bien que la prophylaxie antivirale de 3 mois soit recommandée pour le groupe à risque intermédiaire (2), nos patients n'ont pas bénéficié d'un tel traitement préventif. Les résultats de notre étude n'ont révélé aucune association significative entre la sérologie pré-greffe et l'incidence de l'infection à CMV ($p = 0,41$), probablement en raison de la taille limitée de notre échantillon.

5.2. Le traitement immunosuppresseur :

Une intense immunosuppression est associée à l'augmentation de l'incidence des infections opportunistes (11).

Nos résultats indiquent une fréquence plus élevée de charges virales positives dans le groupe de surdosage en IS. Cependant, il est important de noter que 50% des patients sous dosés ont développé une infection à CMV. En outre, aucune association significative n'a été obtenue en comparant la concentration résiduelle en immunosuppresseur et la charge virale CMV. Ces résultats témoignent de la complexité de la gestion de l'IS dans le contexte de l'infection à CMV. Selon les directives britanniques, il est conseillé de réduire la posologie des thérapies immunosuppressives en cas d'infection ou de maladie à CMV (21). L'objectif est de trouver le dosage optimal qui permet de maintenir un équilibre entre la prévention du rejet du greffon et la lutte contre l'infection à CMV (21).

Les anticorps polyclonaux anti-lymphocytes T (ATG) sont largement utilisés, en phase d'induction, chez les patients à haut risque immunologique pour prévenir le rejet aigu de greffe (26). En revanche, chez les patients à faible risque immunologique, le Basiliximab est recommandé, bien que les ATG puissent être utilisés à des doses plus faibles (26). Il convient de noter que l'utilisation des ATG est associée à une augmentation de l'incidence et de la gravité de l'infection à CMV. À l'inverse, la réduction de leur posologie a été associée à de faibles taux de rejets aigus et une diminution des infections virales opportunistes (26).

Dans notre étude, en raison de l'indisponibilité du Basiliximab, tous les patients ont reçu les ATG comme traitement d'induction.

En outre, l'utilisation du tacrolimus ou celle du mycophénolate mofétil en phase d'entretien a été associée à un risque accru d'infection à CMV par rapport à l'utilisation des traitements conventionnels tels que la cyclosporine (4). Ainsi, la classe thérapeutique de l'immunosuppresseur constitue donc à elle-même un facteur de risque d'infection à CMV (22,24). Cette analyse n'a pas pu être effectuée dans notre étude vu que plus de 96% des patients avaient reçu du tacrolimus.

5.3. Le rejet de greffe :

Le CMV exerce des effets immunomodulateurs indirects qui accroissent l'incidence des rejets aigus et chroniques après une TR, ainsi que celle d'autres infections opportunistes (4). Si la réplication virale a lieu au niveau du greffon, l'expression des molécules HLA de classe I et II du donneur à la surface des cellules endothéliales augmente, les allo-antigènes du donneur seront alors présentés de façon plus intense (27). Des données probantes indiquent une relation bidirectionnelle entre l'infection à CMV et le rejet d'allogreffe (6). Parmi les patients de notre étude ayant connu un épisode de rejet, 66,6% ont

ultérieurement contracté une infection à CMV. En effet, un épisode de rejet entraîne un environnement inflammatoire qui favorise la réactivation du virus à l'état latent dans les cellules du greffon (27). De plus, ce même épisode de rejet est traité par une augmentation transitoire du traitement immunosuppresseur. Cette intensification de l'immunosuppression entraîne une diminution de la surveillance immunitaire vis-à-vis des infections, favorisant ainsi la réactivation virale (27). Une étude iranienne a démontré que le CMV constituait un facteur de risque de rejet aigu d'allogreffe, avec un taux de rejet de 36,4% chez les patients atteints de la maladie à CMV, comparativement à 9,4% dans le groupe témoin (28). Un argument supplémentaire en faveur de la relation virus-rejet est la constatation unanime dans des études cliniques de la diminution significative de l'incidence des dysfonctions chroniques du greffon depuis la mise en place de traitements curatifs et prophylactiques antiviraux (27).

5.4. Le mésappariement HLA de classe I et II :

Un mésappariement total des molécules HLA de classe I entre le donneur et le receveur augmente le risque d'infection à CMV (22). Dans le contexte d'une TR, le greffon présente des peptides viraux par des molécules HLA de classe I qui peuvent différer de celles du receveur (29). Ainsi, un mésappariement complet en HLA de classe I peut rendre les cellules infectées du greffon moins accessibles aux lymphocytes T CD8 anti-CMV du receveur, dont le répertoire est spécifique aux peptides CMV présentés par les molécules HLA du receveur (29). Cela permet aux cellules infectées d'échapper à la réponse immunitaire spécifique à médiation cellulaire, ce qui entraîne une augmentation de la prolifération virale (29). Cependant, les résultats de notre étude n'ont pas révélé de lien significatif entre le mésappariement HLA de classe I et l'infection à CMV. Cette absence d'association pourrait être attribuée à la taille limitée de notre échantillon.

Concernant les mésappariements HLA de classe II entre le donneur et le receveur, aucune donnée de la littérature ne nous a permis de confronter nos résultats.

6. La prévention de l'infection à CMV, entre prophylaxie universelle et stratégie préemptive :

Les principales stratégies de prévention de l'infection à CMV chez les transplantés rénaux sont la prophylaxie antivirale et l'approche préemptive (2). La prophylaxie universelle implique l'administration d'un traitement antiviral à tous les patients, tandis que la prophylaxie spécifique cible un sous-groupe de patients présentant un risque plus élevé d'infection virale (2,7). L'approche

préemptive, quant à elle, exige la surveillance régulière de la charge virale du CMV au moins une fois par semaine durant les 3 mois post TR et l'initiation d'un traitement antiviral lorsque cette charge dépasse le seuil de traitement défini par les cliniciens (11). La sélection de la stratégie de prévention repose sur une évaluation du risque de l'infection, en prenant en considération les facteurs de risque précédemment cités ainsi que les facteurs de risque individuels présents chez le receveur (12,30).

Selon les recommandations actuelles, il est conseillé d'administrer une prophylaxie antivirale aux patients à haut risque, tels que ceux ayant un statut R-/D+ (2). La durée optimale de la prophylaxie est de 6 mois (2). Pour les receveurs présentant un risque intermédiaire (R+), une prophylaxie de 3 mois est recommandée (2). Le traitement de référence consiste à utiliser le valganciclovir à une dose de 900 mg par jour per os, avec un ajustement posologique selon la fonction rénale du patient (2). Cette stratégie est associée à de rares cas d'infection précoce à CMV (≤ 3 mois post TR) (7). De plus, elle permet une éradication efficace du virus et évite les effets immunomodulateurs indirects du CMV incluant le rejet du greffon ou encore l'incidence d'autres infections opportunistes (11). Cependant, elle est associée à un risque d'infection tardive à CMV (> 3 mois post TR) (11). De plus, le coût élevé et la toxicité importante des traitements antiviraux actuellement disponibles, qui nécessite souvent la réduction du dosage des immunosuppresseurs et par conséquent augmente le risque de rejet aigu, sont les inconvénients associés à cette stratégie (4,11).

La stratégie préemptive quant à elle est conseillée pour les patients présentant un risque faible (R-/D-) à intermédiaire (R+) (2). Elle engendre une moindre toxicité car seuls les patients malades sont traités évitant ainsi une exposition à des métabolites toxiques, des coûts de laboratoire qui demeurent plus réduits en comparaison avec ceux des traitements antiviraux et offre une meilleure accessibilité (12). Néanmoins, cette stratégie est associée à un risque plus élevé d'infection précoce à CMV (11). Tant qu'aucun vaccin contre le CMV n'est disponible, la réplication virale asymptomatique de bas niveau serait le meilleur moyen d'amorcer réellement les réponses des lymphocytes T et B spécifiques du CMV, ce qui permet au patient de développer une immunité à médiation cellulaire robuste ainsi que des anticorps neutralisants contre le CMV (4). Le risque majeur associé à cette stratégie est le non-respect de la surveillance régulière de la charge virale, qui peut conduire à une maladie invasive tissulaire à CMV en raison d'une immunosuppression intense

dans les premiers mois après la transplantation (4).

Conclusion

En somme, l'infection à CMV demeure un défi majeur chez les transplantés rénaux en raison de sa prévalence élevée et de ses conséquences cliniques significatives. L'évaluation de la charge virale du CMV par la quantification via la PCR en temps réel représente un outil essentiel pour la surveillance et la gestion de cette infection chez les patients TR. Bien que la prophylaxie antivirale soit une approche efficace pour prévenir l'infection à CMV, sa mise en œuvre peut être complexe dans notre pays en raison de contraintes budgétaires et de l'indisponibilité des médicaments, ce qui souligne la nécessité d'explorer d'autres stratégies adaptées à chaque situation spécifique. La connaissance des facteurs de risque du CMV, tels que le statut sérologique, l'immunosuppression, l'incompatibilité HLA et les épisodes de rejet, est cruciale pour identifier les patients les plus vulnérables et adapter les mesures de prévention et de traitement.

Afin d'améliorer la gestion de l'infection à CMV chez les patients transplantés rénaux, une approche individualisée et multidisciplinaire s'avère essentielle. Une stratégie intégrant à la fois la prophylaxie et le traitement préemptif peut être envisagée. Pour les patients présentant un risque élevé, il est recommandé d'administrer une prophylaxie d'au moins trois mois, suivie d'une surveillance régulière de la charge virale du CMV. Pour les patients à risque moins élevé, un suivi systématique régulier permettrait une détection précoce de l'infection à CMV à raison d'une fois par semaine pendant 3 mois, puis de façon mensuelle jusqu'à la fin de la première année post TR. Ces recommandations reflètent une approche réaliste qui vise à adapter les mesures préventives et thérapeutiques en fonction des besoins individuels de chaque patient.

Des études approfondies sont requises afin de développer des stratégies de prévention, de détection précoce et de traitement plus efficaces, en tenant compte des contraintes spécifiques à chaque contexte clinique. En mettant en place des protocoles adaptés et en poursuivant les recherches dans ce domaine, il est possible de réduire les complications liées au CMV, d'améliorer les résultats cliniques et de garantir une meilleure qualité de vie pour les patients TR.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt.

Remerciements

Nous souhaitons exprimer notre sincère gratitude envers plusieurs parties prenantes qui ont contribué à la réalisation de cette recherche. Tout d'abord, nous tenons à remercier nos familles respectives pour leur soutien constant tout au long de cette étude. Leur encouragement, leur compréhension et leur soutien indéfectible ont été d'une valeur inestimable pour nous. Ils ont partagé les défis et les succès de cette étude, et leur présence affectueuse a été une source d'inspiration continue.

Nous aimerions également adresser nos remerciements à nos proches et à tous ceux qui ont partagé cette aventure avec nous, apportant leur précieuse contribution sous diverses formes.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance envers notre encadrante, Dr. Berkani Lilya Meriem, dont les conseils éclairés, l'expertise et le mentorat ont grandement enrichi cette recherche.

Enfin, nous souhaitons remercier le Pr. Djidjik, le chef de service du laboratoire d'immunologie, pour avoir mis à notre disposition les ressources nécessaires et pour son soutien institutionnel qui a grandement favorisé le succès de cette étude.

Nous espérons n'avoir omis personne et tenons à remercier l'ensemble de ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette recherche.

Références bibliographiques

1. Razonable RR, Paya CV, Smith TF. Role of the Laboratory in Diagnosis and Management of Cytomegalovirus Infection in Hematopoietic Stem Cell and Solid-Organ Transplant Recipients. *J Clin Microbiol.* mars 2002;40(3):746-52.
2. Željka VH, Nika K. Viral Infections after Kidney Transplantation: CMV and BK.. Perioperative Care for Organ Transplant Recipient. May 2019.
3. Weikert BC, Blumberg EA. Viral Infection after Renal Transplantation: Surveillance and Management. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* mars 2008;3(Suppl 2):S76-86.
4. Fehr T, Cippà PE, Mueller NJ. Cytomegalovirus post kidney transplantation: prophylaxis versus pre-emptive therapy? *Transpl Int.* déc 2015;28(12):1351-6.
5. Mourad G, Garrigue V, Delmas S, Szwarc I, Deleuze S, Bismuth J, et al. Complications infectieuses et néoplasiques après transplantation rénale. *EMC - Néphrologie.* 1 nov 2005;2(4):158-81.
6. Ramanan P, Razonable RR. Cytomegalovirus Infections in Solid Organ Transplantation: A

- Review. *Infect Chemother.* 27 sept 2013;45(3):260-71.
7. Agrawal A, Ison MG, Danziger-Isakov L. Long-Term Infectious Complications of Kidney Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol.* févr 2022;17(2):286.
8. Harvala H, Stewart C, Muller K, Burns S, Marson L, MacGilchrist A, et al. High risk of cytomegalovirus infection following solid organ transplantation despite prophylactic therapy. *J Med Virol.* 2013;85(5):893-8.
9. Eid AJ, Razonable RR. New Developments in the Management of Cytomegalovirus Infection after Solid Organ Transplantation. *Drugs.* 1 mai 2010;70(8):965-81.
10. Barande S. Prévention et traitement du cytomegalovirus après transplantation [Thèse de doctorat]. Université de Limoges (France) ; 2014.
11. Vanichanan J, Udomkarnjananun S, Avihingsanon Y, Jutivorakool K. Common viral infections in kidney transplant recipients. *Kidney Res Clin Pract.* déc 2018;37(4):323-37.
12. Silva JT, Fernández-Ruiz M, Aguado JM. Prevention and therapy of viral infections in patients with solid organ transplantation. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* 1 févr 2021;39(2):87-97.
13. Razonable RR, Humar A. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients—Guidelines of the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* sept 2019;33(9).
14. Buthod N, Thérin N. Apport de la PCR et de la détection de l'antigène pp65 (antigénémie) pour le diagnostic des infections à cytomegalovirus en transplantation rénale [Thèse de doctorat]. Université Grenoble Alpes (France); 1994.
15. Lee H, Oh EJ. Laboratory diagnostic testing for cytomegalovirus infection in solid organ transplant patients. *Korean J Transplant.* 31 mars 2022;36(1):15-28.
16. Jutta KP, Daniel CB, Jay F, Upton A. Canadian Society of Transplantation Consensus Workshop on Cytomegalovirus Management in Solid Organ Transplantation Final Report. *Am J Transplant.* 1 févr 2005;5(2):218-27.
17. Kır O, Zeytinoğlu A, Arda B, Yılmaz M, Aşçı G, Töz H. Impact of Prophylaxis vs Pre-emptive Approach for Cytomegalovirus Infection in Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc.* 1 avr 2017;49(3):537-40.
18. Babazadeh A, Javanian M, Oliaei F, Akbari R, Akbarzadepasha A, Bijani A, et al. Incidence and risk factors for cytomegalovirus in kidney transplant patients in Babol, northern Iran. *Casp J Intern Med.* 2017;8(1):23-9.
19. Hellemans R, Wijtvliet V, Bergs K, Philipse E, Vleut R, Massart A, et al. A split strategy to prevent cytomegalovirus after kidney transplantation

using prophylaxis in serological high-risk patients and a pre-emptive strategy in intermediate-risk patients: Combining the best of two options? *Transpl Infect Dis.* 2021;23(2):e13467.

20. Noble J, Gatault P, Sautenet B, Gaudy-Graffin C, Beby-Defaux A, Thierry A, et al. Predictive factors of spontaneous CMV DNAemia clearance in kidney transplantation. *J Clin Virol.* 1 févr 2018;99-100:38-43.

21. Andrews PA, Emery VC, Newstead C. Summary of the British Transplantation Society Guidelines for the Prevention and Management of CMV Disease After Solid Organ Transplantation. *Transplantation.* 15 déc 2011;92(11):1181.

22. Boutolleau D, Burrel S. Infections à cytomegalovirus en transplantation : manifestations cliniques, diagnostic virologique et prise en charge thérapeutique. *J Anti-Infect.* 1 juin 2016;18(2):70-8.

23. Forconi C. Cytomegalovirus et survie à long terme des greffes d'organes solides : Etude clinique et génétique [Thèse de doctorat]. Université François - Rabelais de Tours (France) ; 2013.

24. Andrade-Sierra J, Heredia-Pimentel A, Rojas-Campos E, Ramírez Flores D, Cerrillos-Gutierrez JI, Miranda-Díaz AG, et al. Cytomegalovirus in renal transplant recipients from living donors with and without valganciclovir prophylaxis and with immunosuppression based on anti-thymocyte globulin or basiliximab. *Int J Infect Dis.* 1 juin 2021;107:18-24.

25. Griffiths P. The direct and indirect consequences of cytomegalovirus infection and potential benefits of vaccination. *Antiviral Res.* 1 avr 2020;176:104732.

26. Abouzid Z, Amar MA, Abdessater M, Alioubane M, Benjaafar A, Ouzeddoun N, et al. La thymoglobuline en traitement d'induction chez les transplantés rénaux à faible risque immunologique: une expérience marocaine. *Pan Afr Med J.* 17 févr 2022;41:138.

27. Kolopp-Sarda MN, Malcus C, Kohler C. Immunologie de la transplantation : rejets et infections en transplantation d'organes solides. *Rev Francoph Lab.* 1 juin 2008;2008(403):23-30.

28. Hasanzamani B, Hami M, Zolfaghari V, Torkamani M, Ghorban Sabagh M, Ahmadi Simab S. The effect of cytomegalovirus infection on acute rejection in kidney transplanted patients. *J Ren Inj Prev.* 16 mai 2016;5(2):85-8.

29. Gatault P. Infection du donneur par le CMV et transplantation rénale : impact sur la réponse immunitaire spécifique et sur la survie des greffons [Thèse de doctorat]. Université de Tours (France) ; 2017.

30. Kaminski H, Couzi L, Déchanet-Merville J, Merville P. Intérêt de l'immuno-surveillance dans l'infection à cytomegalovirus en transplantation

rénale : mise au point et perspectives. *Néphrologie Thérapeutique.* 1 nov 2015;11(6):465-73.