

Infection à cytomégalovirus chez l'homme : diagnostic, traitement et prévention

L'infection par le cytomégalovirus constitue un sérieux problème de santé publique du fait de sa gravité chez les malades immunodéprimés, les greffés et les nouveau-nés. Les méthodes modernes d'immunofluorescence, d'hybridation moléculaire et d'amplification *in vitro* d'ADN (PCR) permettent maintenant de parvenir à un diagnostic en quelques heures, et donc d'instituer, si besoin, une thérapeutique précoce par un médicament antiviral (ganciclovir) associé à des immunoglobulines hyperimmunes. Les progrès accomplis dans la caractérisation du très grand génome du CMV (250 kb) font espérer la mise au point, dans l'avenir, d'un vaccin dirigé contre des antigènes produits par génie génétique.

Claude Hamelin

Le cytomégalovirus humain (CMV) affecte très peu les adultes en bonne santé, chez lesquels l'infection passe souvent inaperçue.

En revanche, les nouveau-nés et les individus immunodéprimés sont gravement atteints par ce virus qui doit être détecté rapidement afin que puisse être mise en route une thérapeutique adaptée. Des méthodes fondées sur une coloration fluorescente à l'aide d'anticorps monoclonaux, ou sur l'hybridation *in situ* dans un système de culture cellulaire en fioles de petite taille, peuvent en un jour donner un résultat positif, alors que plusieurs semaines étaient nécessaires avec la technique conventionnelle d'isolement du virus. Avec les techniques d'amplification d'ADN à l'aide de la polymérase de *Thermus aquaticus* (PCR), des réponses précises peuvent même être obtenues en quelques heures seulement. La détec-

tion précoce du CMV favorise l'administration immédiate de traitements antiviraux convenables. L'usage combiné de deux agents actifs, immunoglobuline et ganciclovir, est sans aucun doute le meilleur remède aux infections à CMV. A l'heure actuelle, il n'existe pas de vaccin sûr et efficace contre le virus. Les recherches tendent vers la production de vaccin biosynthétique fabriqué par génie génétique.

Le cytomégalovirus humain (CMV) infecte entre 60 et 90 % de la population mondiale. Cet herpes virus est responsable de la plupart des infections virales congénitales chez l'homme. Il est, en particulier, plus fréquemment à l'origine d'infection de la femme enceinte que ne l'est le virus de la rubéole. Pendant la grossesse, le CMV peut causer des dommages irréparables au système nerveux central de l'embryon infecté *in vitro*. Ce virus a un impact majeur

ADRESSE

C. Hamelin : professeur, chercheur. Centre de recherche en virologie, Institut Armand-Frappier, C.P. 100, Laval-des-Rapides, Québec, Canada, H7N 4Z3.

sur l'état de santé de greffés ou de patients souffrant d'immunodéficience acquise (SIDA). Le CMV est transmissible sexuellement ou par voie sanguine. Chez l'homme, il peut persister de façon latente dans différents types cellulaires. [1-4 pour revue de la littérature]. C'est pourquoi nous assistons à un véritable déploiement des forces biotechnologiques pour lutter contre ce virus qui tue dans l'ombre les patients immunodéprimés.

De tous les herpès virus étudiés jusqu'à présent, le CMV a la taille la plus grande et est le plus complexe. Son génome est constitué d'une molécule d'ADN bicaténaire comptant environ 235 000 paires de bases. Le CMV code pour plus de 50 polypeptides dont les masses moléculaires varient entre 2 000 et 230 000 daltons. Les polypeptides viraux détectés dans les cellules infectées sont exprimés en cascades, de façon contrôlée, et peuvent appartenir à différents groupes désignés selon le moment de leur apparition après infection : précoces-immédiats, précoces et tardifs. Parmi les protéines précoces, une polymérase active de 5' en 3' assure la synthèse de l'ADN viral ; en revanche, et contrairement au virus *Herpès simplex*, aucune thymidine kinase n'est produite. Quelques polypeptides fabriqués tardivement sont glycosylés et insérés dans les membranes de la cellule-hôte [1, 2, 5]. De nouvelles méthodes de diagnostic ont été élaborées à partir de ces connaissances de la biologie moléculaire du CMV.

Diagnostic

Culture cellulaire et anticorps monoclonaux. La méthode de référence utilisée dans les laboratoires pour la détection et l'identification du CMV est l'isolement direct du virus dans des cellules fibroblastiques humaines (poumon, rein, prépuce) infectés *in vitro*. Il faut souvent compter plusieurs semaines avant que les effets cytopathiques attribuables au CMV puissent être observés sous le microscope. Les souches CMV sauvages se répliquent beaucoup plus lentement en culture cellulaire que les souches de laboratoire (AD-169,

Towne) bien adaptées. En favorisant l'infection virale par centrifugation des échantillons cliniques sur les cellules, dans de petites fioles vissées (*shell vial assay*) et en détectant la présence du CMV par immunofluorescence à l'aide d'anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes précoces du virus [1, 6, 7], une réponse positive peut maintenant être obtenue moins de 18 h après l'infection. La sensibilité de cette technique hybride varie entre 75 % et 100 %, alors que sa spécificité est de l'ordre de 95 %. Les patients peuvent donc être traités beaucoup plus tôt, grâce à la mise au point de cette méthode rapide de dépistage d'une infection à CMV.

L'immunofluorescence avec des anticorps monoclonaux murins reconnaissant des antigènes précoces-immédiats et précoces s'avère la technique la plus utilisée pour le diagnostic des infections à CMV dans les laboratoires cliniques. Les techniques d'hybridation moléculaire et d'amplification d'ADN (PCR), que nous verrons plus loin, sont surtout utilisées dans les laboratoires de recherche. Il existe

à l'heure actuelle plusieurs compagnies qui distribuent de tels anticorps monoclonaux souvent dirigés contre l'ADN polymérase virale.

Signalons, toutefois, que cette technique requiert l'utilisation de cellules humaines en culture. Certains échantillons peuvent également s'avérer toxiques pour les cellules du fait de la concentration en contaminants provoquée par la centrifugation. A noter aussi que certains variants moléculaire de CMV pourraient n'être pas reconnus par certains anticorps monoclonaux trop spécifiques.

Hybridation moléculaire. Une alternative à la technique précédente consiste à démontrer la présence d'ADN viral dans des cellules infectées, par hybridation moléculaires [6, 7]. Des séquences d'ADN du CMV codant pour des fonctions précoces ou tardives, insérées dans un véhicule de clonage, sont utilisées comme sondes. Il n'est plus nécessaire aujourd'hui de propager le virus en culture cellulaire, de purifier l'ADN cible et d'utiliser un précurseur radioactif pour marquer la sonde. L'échantillon clinique est tout simplement déposé



Figure 1. **Hybridation moléculaire.** ADN du CMV détecté dans des cellules de rein en coupe mince, à l'aide d'une sonde nucléique marquée à la biotine. (Photomicrographie d'après [B]).

RÉFÉRENCES

- Walzer PD. Experimental models of *Pneumocystis carinii* infections. In : Young LS. *Pneumocystis Carinii Pneumonia*. New York : Marcel Dekker, 1984 : 7-76.
- Cushion MT. *In vitro* studies of *Pneumocystis carinii*. *J Protozool* 1989 ; 36 : 45-52.
- Tegoshi T. New system of *in vitro* cultivation of *Pneumocystis carinii* without feeder cells. *J Kyoto Pref Univ Med* 1988 ; 97 : 1473-82.
- Dei-Cas E, Soulez B, Camus D. Ultrastructural study of *Pneumocystis carinii* in explant cultures of rabbit lung and in cultures with and without feeder cells. *J Protozool* 1989 ; 36 : 55-7.
- Hughes WT. *Pneumocystis Carinii Pneumonitis*. Boca Raton : CRC Press, 1987.
- Delanoë P, Delanoë M. Sur les rapports des kystes de carinii des poumons de rats avec le *Trypanosoma lewisi*. *CR Acad Sci (Paris)* 1912 ; 155 : 658-60.
- Walzer PD. Historical perspectives on *Pneumocystis carinii*. *J Protozool* 1989 ; 36 : 39-41.
- Kovacs JA, Masur H. *Pneumocystis carinii* pneumonia : therapy and prophylaxis. *J Infect Dis* 1988 ; 158 : 254-9.
- Masur H. Clinical studies of *Pneumocystis carinii* and relationships to AIDS. *J Protozool* 1989 ; 36 : 70-4.
- Young LS. Clinical aspects of pneumocystosis in man : epidemiology, clinical manifestations, diagnostic approaches, and sequelae. In : Young LS. *Pneumocystis Carinii Pneumonia*. New York : Marcel Dekker, 1984 : 139-74.
- Matsumoto Y, Yoshida Y. Sporogony in *Pneumocystis carinii* : synaptonemal complexes and meiotic nuclear division observed in precysts. *J Protozool* 1984 ; 31 : 420-8.

sur filtre de nitrocellulose ou membrane de nylon, dénaturé, puis hybridé avec le fragment d'ADN du CMV cloné (plusieurs milliers de bases correspondant à différentes régions du génome viral) marqué à la biotine. La détection des sondes nucléiques froides fait appel à des systèmes enzymatiques simples comme la phosphatase alcaline ou la peroxydase qui transforment un substrat incolore ou soluble en un produit coloré qui précipite au lieu même de l'hybridation, permettant ainsi sa localisation rapide. L'hybridation *in situ* permet, d'autre part, la détection d'ADN de CMV dans des coupes minces de tissus obtenus lors de biopsies ou d'autopsies [8, 9]. Un exemple en est donné dans la *figure 1*. Les sondes ADN réagissent bien avec le matériel viral dans des cellules fixées à la formaline et incluses dans la paraffine. L'exa-

men de coupes histopathologiques peut donc être fait rétrospectivement, ce qui peut s'avérer fort utile lorsque le médecin s'interroge encore sur l'origine de la maladie qui a emporté son patient. Des sondes ADN du CMV biotinylées sont disponibles commercialement pour l'hybridation *in situ*.

Réaction d'amplification de l'ADN (PCR). En rapport avec le diagnostic rapide d'une infection à CMV, il faut souligner la mise au point récente d'une technique permettant l'amplification de gènes *in vitro*, grâce à une réaction d'amplification de l'ADN [10, 13]. Une séquence d'ADN viral (quelques dizaines de bases d'une région connue du génome CMV) peut, en effet, être amplifiée des millions de fois après une trentaine de cycles de dénatura-

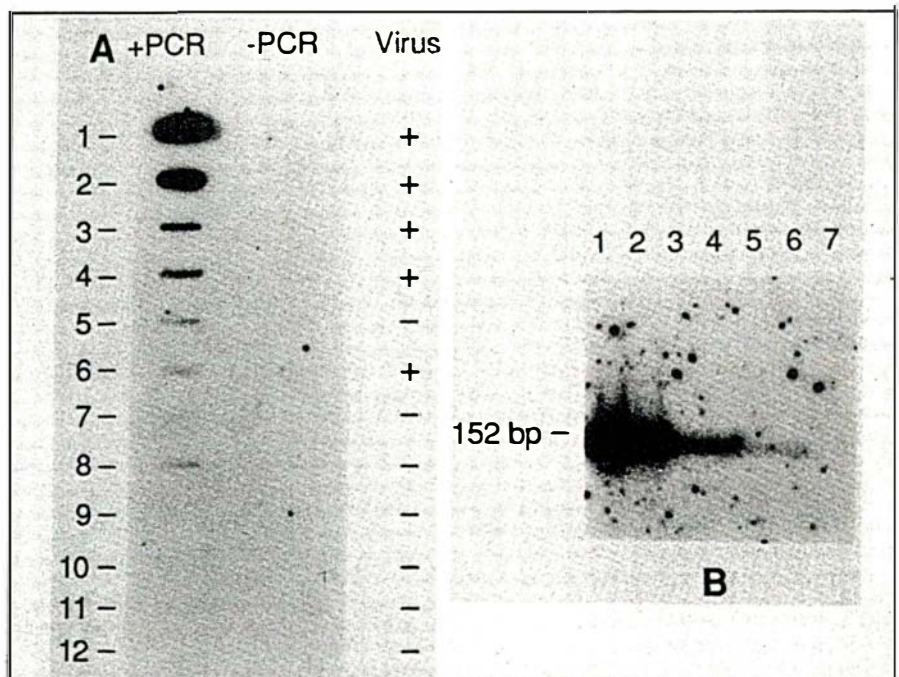


Figure 2. **Réaction d'amplification d'ADN.** (A) signal engendré par des échantillons d'urine en provenance de sidéens (1-10) et d'individus sains (11-12) avec ou sans amplification par 25 cycles de polymérisation à l'aide de la Taq polymérase (PCR±), après hybridation avec une sonde ADN de CMV radioactive ; (B) hybridation de matériel PCR+ avec la sonde CMV, après électrophorèse en agarose et transfert sur membrane. Noter que les échantillons 5, 7 et 8 en (A) ont réagi positivement avec l'ADN de CMV alors qu'aucun virus n'a pu être détecté au même moment en culture cellulaire, ce qui témoigne de la grande sensibilité de la technique. (D'après [10].).

chacune des extrémités de la cible, et d'extension des amorces avec la polymérase *Taq*. Certains résultats obtenus avec des échantillons d'urine en provenance de patients souffrant du SIDA sont montrés dans la *figure 2*. Avec la méthode PCR, il faut moins de dix copies du génome CMV dans l'échantillon clinique pour obtenir une réponse positive, 5 à 8 h plus tard. La technique peut être sensible à 100 %, mais cette sensibilité dépend étroitement du degré de conservation de la séquence d'ADN du CMV infectant les échantillons cliniques. Cet apport significatif de la recherche fondamentale à la recherche appliquée est d'autant plus apprécié que le nombre de patients immunodéprimés augmente sans cesse et que des traitements spécifiques contre le CMV sont maintenant disponibles.

Endonucléases de restriction. Les sources CMV cliniques se distinguent facilement l'une de l'autre au niveau génomique par leurs profils de restriction (*figure 3*). Dans cette méthode, l'ADN CMV extrait de cellules infectées est digéré par une ou plusieurs enzymes de restriction et les fragments obtenus sont séparés par électrophorèse en gel d'agarose. D'importants renseignements ont été obtenus dernièrement sur la transmission du CMV dans une crèche [14] et sur l'existence possible d'un marqueur commun dans les cas où sont observées des séquelles neurologiques chez des enfants congénitalement infectés par le virus [15]. Le problème du sous-typage des souches CMV est important pour les questions de réinfections exogènes ou endogènes et pour apprécier l'efficacité d'une vaccination. L'analyse de restriction, couplée à l'hybridation moléculaire, devrait servir grandement l'étude épidémiologique du CMV.

Souligons, à cet égard, l'utilisation récente de l'électrophorèse en champ pulsé pour isoler de l'ADN CMV à partir de cellules infectées [16]. Cette nouvelle technique permet la séparation de molécules d'ADN allant de 2 à 2 000 kilobases (kb) de longueur par migration sur gel d'agarose, en appliquant des champs électriques de façon alternée en avant et en arrière par rapport au sens de la migration

m/s n° 6 vol. 6, juin 90

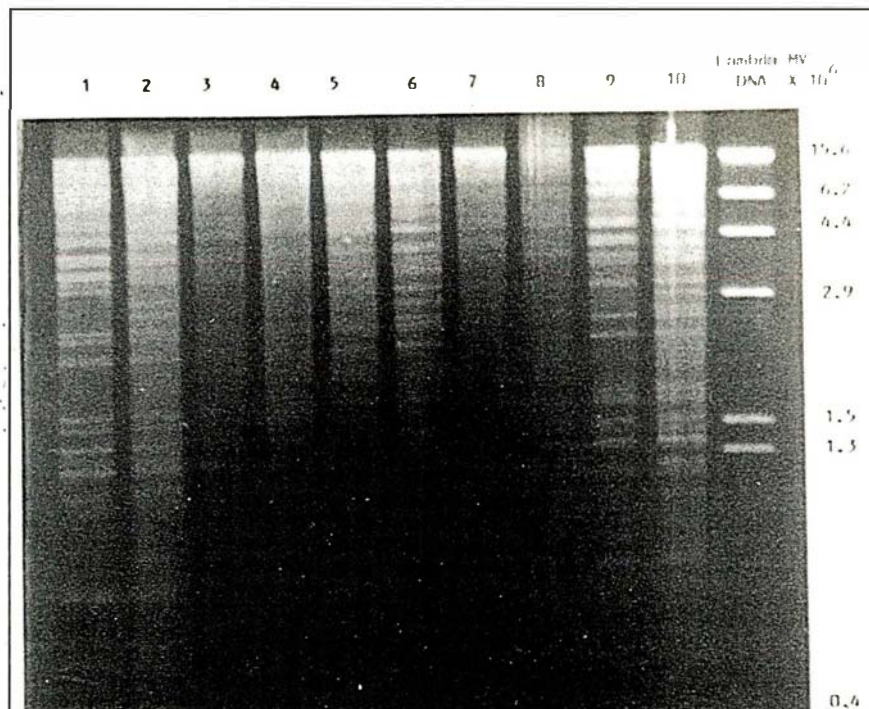


Figure 3. **Endonucléases de restriction** Profils *Bam*HI de huit souches CMV isolées d'enfants infectés congénitalement et présentant des séquelles neurologiques (3-10) ; et d'enfants infectés dans une crèche (1-2). L'ADN du phage λ coupé par *Hind* III est utilisé comme marqueur de taille. Noter le peu d'espace entre les fragments de grande taille dans la partie supérieure du gel. (D'après [15].)

(*m/s n° 1, vol. 4, p. 46*) (*figure 4*). Les molécules d'ADN viral obtenues de cette façon peuvent ensuite être marquées à la biotine puis utilisées comme sondes dans des expériences d'hybridation.

Dans la *figure 3*, entre les marqueurs 6,2 et 15,6, on devrait pouvoir observer huit fragments *Bam*HI. L'ADN CMV clivé par l'enzyme *Hind* III donne trente fragments de restriction parmi lesquels on trouve onze fragments difficiles à séparer par la technique d'électrophorèse conventionnelle (13,7 à 33,4kb). Cette même limite imposée par la migration de l'ADN en champ continu existe aussi pour les fragments *Bgl* II, *Cla* I, *Dra* I, *Eco*R I, *Eco*R V, *Hpa* I, *Kpn* I et *Pae* R 7. En d'autres termes, la majorité de ce génome viral totalisant 235 kb échappait à notre attention faute d'une méthode de séparation

adéquate. Cette situation devrait changer avec l'électrophorèse en champ pulsé et ce, au grand bénéfice des expériences ayant pour but le traitement ou la prévention des infections à CMV.

Traitement

Immunoglobuline. L'infection d'un patient par le CMV après une greffe réussie est un problème majeur. Non seulement le virus est par lui-même cause de différentes manifestations cliniques, incluant fièvre, leuco- et thrombocytopenie, hépatite, pneumonie, chorioretinite, ulcérations gastro-intestinales, pancréatite, anémie immunohémolytique, etc., mais encore, il augmente la probabilité de surinfections par des bactéries, protozoaires et champignons.

Entre 48 % et 89 % des greffés rénaux sont atteints par le CMV au

RÉFÉRENCES

12. Olive DM, Simsek M, A1-Mufti S. Polymerase chain reaction assay for detection of human cytomegalovirus. *J Clin Microbiol* 1989 ; 27 : 1238-42.
13. Shibata D, Martin WJ, Appleman MD, *et al.* Detection of cytomegalovirus DNA in peripheral blood of patients infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 1988 ; 158 : 1185-92.
14. Adler SP. Molecular epidemiology of cytomegalovirus : viral transmission among children attending a day care center, their parents, and caretakers. *J Pediatr* 1988 ; 112 : 366-72.
15. Grillner L, Ahlfors K, Ivarsson SA, *et al.* Endonuclease cleavage pattern of cytomegalovirus DNA of strains isolated from congenitally infected infants with neurologic sequelae. *Pediatrics* 1988 ; 81 : 27-30.
16. Van den Berg, Jiwa M, Rook R, *et al.* Analysis and isolation of cytomegalovirus DNA by field inversion gel electrophoresis. *J Gen Virol* 1988 ; 69 : 699-704.
17. Metselaar HJ, Weimar W. Cytomegalovirus infection and renal transplantation. *J Antimicrob Chemother* 1989 ; 23 : 37-47.
18. Chou S. Reactivation and recombination of multiple cytomegalovirus strains from individual organ donors. *J Infect Dis* 1989 ; 160 : 11-5.
19. Martindale JJ, Ganzinger U. Cytomegalovirus infection in bone marrow transplantation : the case for using prophylactic specific immunoglobulin. *Seroditag Immunother Infect Dis* 1988 ; 2 : 161-70.
20. Verheyden JPH. Evolution of therapy for cytomegalovirus. *Rev Infect Dis* 1988 ; 10 : S477-89.
21. Matthews T, Boehme R. Antiviral activity and mechanism of action ganciclovir. *Rev Infect Dis* 1988 ; 10 : S490-4.
22. Reed EC, Bowden RA, Dandliker PS, *et al.* Treatment of cytomegalovirus pneumonia with ganciclovir and intravenous cytomegalovirus immunoglobulin in patients with bone marrow transplants. *Ann Intern Med* 1988 ; 109 : 783-8.

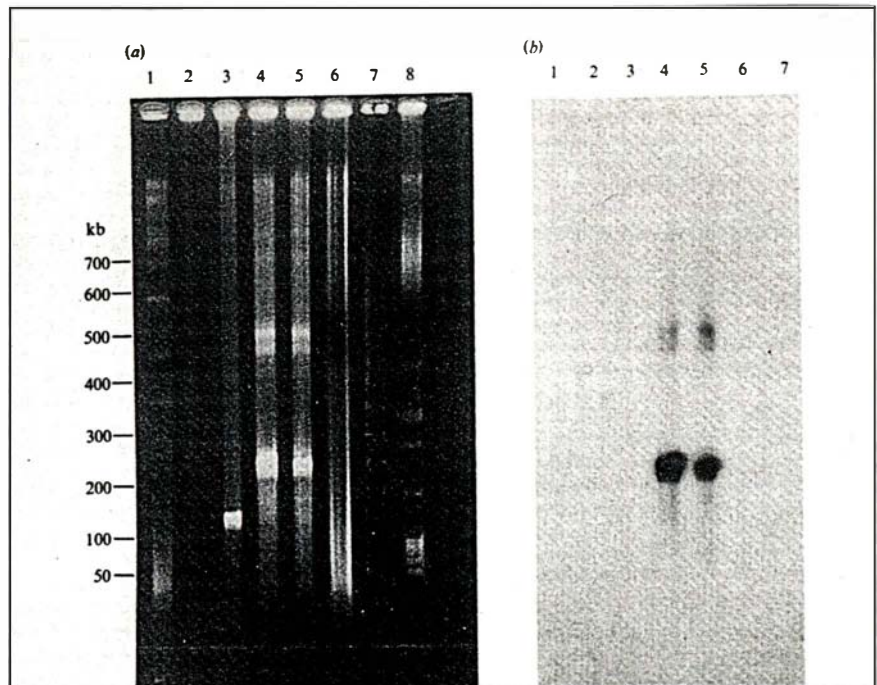


Figure 4. **Électrophorèse en champ pulsé.** (a) ADN de CMV extrait de cellules infectées après migration dans un gel d'agarose 1,5 % pendant 25 h à 8 V/cm avec des pulsations croissantes de 5 à 50 sec en direction avant ; (b) hybridation de l'ADN dans le gel avec une sonde CMV radioactive. Noter la distance qui sépare les molécules de grande taille, de même que la présence d'ADN de CMV sous forme dimérique vers 500 kb. (1) chromosomes de *S. cerevisiae* ; (2) ADN HSV-2 ; (3-6) ADN de CMV ; (7) ADN λ multimérique ; (8) chromosomes de *T. brucei*. (D'après [16].

cours de l'année qui suit la transplantation d'organe [17]. Deux voies épidémiologiques sont empruntées par le virus pour causer la maladie. Il s'agit tout d'abord de l'infection primaire qui implique que le greffé n'ait jamais été exposé au virus antérieurement (patient séronégatif avant transplantation). Dans ce cas, le virus est transmis de façon latente *via* l'organe greffé, les transfusions sanguines ou les excréments d'autres malades. On parle d'infection secondaire lorsque le patient était séropositif avant transplantation. La réactivation d'un virus endogène latent peut, à ce moment, être à l'origine de la maladie bien qu'une réinfection par un virus exogène demeure toujours possible [18].

L'un des moyens utilisés ces derniers temps pour lutter contre les infections

à CMV était l'administration d'immunoglobulines aux patients. Les résultats obtenus étaient variables et difficiles à interpréter, car les protocoles utilisés visaient plus une efficacité thérapeutique immédiate que l'analyse de la valeur exacte d'une immunothérapie à base de gammaglobulines hyperimmunes au CMV [2, 3, 17, 19]. De la controverse qui suivit ces essais, nous retenons que la réponse immunitaire de l'hôte au CMV est plutôt cellulaire qu'humorale ; que les gammaglobulines agissent probablement *via* leur activité de neutralisation et que certaines préparations d'immunoglobulines hyperimmunes au CMV semblent en être dépourvues ; et enfin, que l'utilisation de produits sanguins augmente le risque d'infections par des virus exogènes.

D'après certaines expériences, les sérums humains utilisés pour l'immunisation passive pourraient avantageusement être remplacés par des anticorps monoclonaux produits en laboratoire. Cela assurerait une plus grande disponibilité des immunoglobulines désirées, ainsi qu'un contrôle de qualité plus strict. Des anticorps monoclonaux humains neutralisants pourraient même servir à la production d'un vaccin CMV à base d'anticorps anti-idiotypiques (simulation d'une région de l'antigène viral). Plusieurs obstacles de taille devront toutefois être surmontés dans cette recherche d'une thérapie immunologique, incluant la production massive d'anticorps monoclonaux humains dirigés contre le CMV.

Agents antiviraux. Des agents antiviraux tels l'interféron α , la vidarabine et l'acyclovir ont connu relativement peu de succès dans le traitement des infections à CMV chez les patients immunodéprimés [2-4, 20]. Les essais cliniques sont devenus un peu plus encourageants avec le Foscarnet (trisodium phosphonoformate

hexahydraté) [2, 3, 20]. Ce produit chimique a toutefois le désavantage d'être néphrotoxique et de provoquer une anémie. Aussi, plus de 90 % des patients font une rechute dans le mois qui suit le traitement au Foscarnet.

L'activité inhibitrice très prononcée *in vitro* [21] du ganciclovir l'a fait utiliser en clinique lors de transplantations de moelle osseuse et d'organes. De nombreux patients infectés à la fois par le CMV et le virus du SIDA ont également été traités avec cet analogue de l'acyclovir. Virémies, hépatites, rétinites, colites, pneumonies à CMV pouvaient enfin être contrôlées efficacement [2, 3, 20, 22]. Le ganciclovir (9-[1, 3-dihydroxy 2-propoxy)méthyl]guanine) est un inhibiteur actif des herpès virus, incluant le CMV, qui sont pathogéniques chez l'homme et l'animal [21]. Le principal mécanisme d'action du ganciclovir contre le CMV est l'inhibition de la réplication de l'ADN viral par le ganciclovir-5'-triphosphate (ganciclovir-TP). L'ADN polymérase

virale est la cible de cette substance chimique. Le ganciclovir est métabolisé sous la forme triphosphate par au moins trois enzymes cellulaires importantes : (1) une désoxyguanosine kinase induite dans les cellules infectées par le CMV ; (2) une guanylate kinase ; et (3) une phosphoglycérate kinase. D'autres enzymes impliquées dans le métabolisme des nucléotides pourraient également être impliquées. La sélectivité du traitement par le ganciclovir résulte du peu d'effet inhibiteur des ganciclovir-TP sur les ADN polymérases cellulaires. Activité et sélectivité sont également amplifiées par l'accumulation de ganciclovir-TP dans les cellules infectées par le CMV (figure 5).

Vraiment efficace contre le CMV, l'utilisation du ganciclovir chez les patients immunodéprimés pose toutefois quelques problèmes. Cet agent antiviral est effectivement hématotoxique et provoque neutropénies et pancytopenies chez les patients. Il inhibe presque totalement la réplication du CMV *in vitro* (99,99 %),

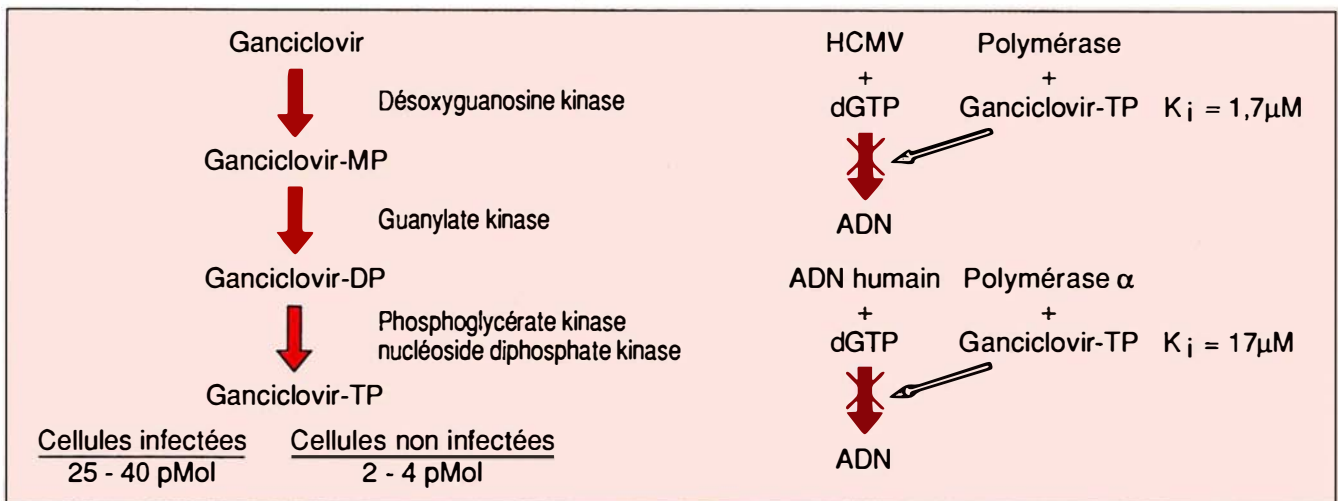


Figure 5. **Métabolisme cellulaire et mécanisme d'action du ganciclovir.** Le métabolisme du ganciclovir est présenté à gauche. Les enzymes intervenant à chacune des étapes de phosphorylation sont indiquées ; de même que les concentrations de ganciclovir-5'-triphosphate (ganciclovir-TP) généralement trouvées dans les cellules témoins et dans celles infectées par le CMV. Les effets du ganciclovir-TP sur les ADN polymérases sont montrés à droite. Le ganciclovir-TP entre en compétition avec le désoxyguanosine triphosphate (dGTP) au niveau d'une association avec les ADN polymérases, donnant les valeurs de K_i pour l'ADN polymérase α humaine et la polymérase CMV. MP et DP = monophosphate et diphosphate, respectivement. (Schéma d'après [21].)

RÉFÉRENCES

23. Erice A, Chou S, Biron KK, *et al.* Progressive disease due to ganciclovir-resistant cytomegalovirus in immunocompromised patients. *N Engl J Med* 1989 ; 320 : 289-93.
24. D'Alessandro AM, Pirsch JD, Stratta RJ, *et al.* Successful treatment of severe cytomegalovirus infections with ganciclovir and CMV hyperimmune globulin in liver transplant recipients. *Transpl Proc* 1989 ; 21 : 3560-1.
25. Emanuel D, Cunningham I, Jules-Elysee K, *et al.* Cytomegalovirus pneumonia after bone marrow transplantation successfully treated with the combination of ganciclovir and high-dose intravenous immune globulin. *Ann Intern Med* 1988 ; 109 : 777-82.
26. Schmidt GM, Kovacs A, Zaia JA, *et al.* Ganciclovir/immunoglobulin combination therapy for the treatment of human cytomegalovirus associated interstitial pneumonia in bone marrow allograft recipients. *Transplantation* 1988 ; 46 : 905-7.
27. Brayman KL, Dafoe DC, Smythe WR, *et al.* Prophylaxis of serious cytomegalovirus infection in renal transplant candidates using live human cytomegalovirus vaccine. Interim results of a randomized controlled trial. *Arch Surg* 1988 ; 123 : 1502-8.
28. Meyer H, Bankier AT, Landini MP, *et al.* Identification and procaryotic expression of the gene coding for the highly immunogenic 28-kilodalton structural phosphoprotein (pp28) of human cytomegalovirus. *J Virol* 1988 ; 62 : 2243-50.
29. Scholl B-C, Von Hintzenstern J, Borisch B, *et al.* Prokaryotic expression of immunogenic polypeptides of the large phosphoprotein (pp150) of human cytomegalovirus. *J Gen Virol* 1988 ; 69 : 1195-204.
30. Jonjic S, del Val M, Keil GM, *et al.* A nonstructural viral protein expressed by a recombinant vaccinia virus protects against lethal cytomegalovirus infection. *J Virol* 1988 ; 62 : 1653-8.

mais la plupart des greffés de la moelle osseuse traités au ganciclovir mourront tôt ou tard de pneumonie [22]. Des souches de CMV résistantes au ganciclovir font également leur apparition pendant la thérapie [23]. Les médecins sont revenus à la charge en combinant avec grand succès les traitements à l'aide de gamma-globulines hyperimmunes et de ganciclovir [24-26]. L'utilisation combinée de deux composés aux modes d'action différents est une extension logique et attrayante de toute approche thérapeutique visant à améliorer l'efficacité de médicaments. Des doses plus faibles de ces produits médicamenteux seront ainsi employées, ce qui pourrait réduire leur toxicité respective et empêcher l'apparition de souches CMV résistantes à l'un ou l'autre de ces agents. Dose juste et temps optimal de traitement devront être déterminés rapidement, tant pour les gammaglobulines que pour le ganciclovir, afin d'obtenir l'effet thérapeutique optimal. La prévention reste cependant l'arme la plus efficace.

Prévention

Vaccin classique. Des progrès intéressants ont été enregistrés en ce domaine. Tout récemment, par exemple, de futurs candidats à une transplantation rénale ont été vaccinés avec une souche atténuée de CMV dans l'espoir de réduire les complications post-opératoires attribuables au virus [27]. Différentes combinaisons de donneurs et receveurs, CMV séropositifs ou négatifs, ont été considérées dans ces expériences. La vaccination a conféré une protection significative aux patients CMV séronégatifs recevant les reins de donneurs CMV séropositifs, tout en diminuant le taux de rejet des greffes. Ces résultats encourageants ont incité à reconsidérer le problème des infections congénitales.

Encore dernièrement, on considérait en effet le diagnostic des infections à CMV comme étant une tâche laborieuse et coûteuse ; et la chimiothérapie antivirale, inadéquate et non spécifique, effrayait par sa toxicité. Dans ces circonstances, il fallait se tourner vers l'application de mesures préventives, et plusieurs essais de vaccination ont suivi faisant appel à des souches

atténuées de virus [2, 4, 5, 17, 27]. Nous sommes cependant encore loin d'un vaccin sûr et efficace contre les infections congénitales à CMV.

Le développement d'un vaccin de type classique (c'est-à-dire atténué ou tué) contre ce virus soulève des problèmes. Le CMV est d'abord un virus latent et persistant chez l'homme. A cause d'associations très étroites, virus et cellules hôtes peuvent à l'occasion s'échanger du matériel génétique. Un marqueur fiable d'atténuation nous fait défaut. Par conséquent, une souche inoffensive pourrait fort bien réapparaître, quelques années plus tard, avec toute sa virulence à la suite de malencontreux événements de recombinaison. Devant cette possibilité, nous pouvons difficilement recommander l'utilisation d'une souche atténuée de CMV pour vacciner les futures mères. Connaissant le pouvoir transformant de cet herpès virus, nous devons également oublier le vaccin CMV tué à cause de la présence d'ADN dans la préparation.

Vaccin « sous-unitaire ». Toute crainte disparaîtrait cependant si seules des protéines virales se retrouvaient dans la préparation vaccinale. Les vaccins formés de sous-unités antigéniques sont préférables à ceux contenant l'agent pathogène complet, car ils n'ont pas de potentiel infectieux. Les principaux obstacles à la production massive de sous-unités virales sont la croissance lente du virus en culture cellulaire et une gamme étroite d'hôtes limitée aux cellules fibroblastiques humaines. Enfin une protéine CMV provoquant des réactions indésirables après l'injection pourrait difficilement être soustraite d'un mélange de protéines virales fort complexe au départ.

Vaccin biosynthétique. De telles difficultés peuvent être évitées en déterminant quelle partie du CMV provoque la réaction immunitaire la plus puissante, en trouvant le gène qui code pour cette protéine virale et en l'introduisant dans un véhicule de clonage approprié, puis en demandant à des bactéries, des levures ou même à des insectes, de produire la sous-unité virale intéressante en grande quantité. La recherche va bon train dans cette direction [5, 28, 29]. Avant de tester ce vaccin biosynthé-

tique chez l'homme, il faudra d'abord s'assurer que les sous-unités virales produites par génie génétique n'échappent pas à la surveillance du système immunitaire ; et si le besoin s'en fait sentir, elles pourront être combinées à des agents qui peuvent augmenter leur immunogénicité (adjuvants). A l'aide de ces préparations au contenu bien défini, nous pourrions déterminer le rôle exact de l'immunité humorale et de l'immunité cellulaire dans la lutte contre une infection à CMV. En fonction du degré de protection obtenue, nous saurons dans quelle mesure les différences observées d'une souche CMV à l'autre au niveau de l'ADN se traduisent par des différences au niveau antigénique. Bref, une nouvelle occasion de répondre à de vieilles questions.

Vaccin recombinant. Il faut souligner également la possibilité d'un vaccin anti CMV recombinant. Des travaux réalisés avec le CMV murin [30] indiquent qu'un antigène intéressant pourrait être produit directement par l'hôte, grâce à un vecteur d'expression, comme le virus de la vaccine. Avec les virus vaccine recombinants, toutefois, la prudence est de mise. En plus des dangers associés à la pathogénicité des différentes souches de vaccine, certains problèmes reliés à l'écologie des poxvirus (celle des orthopoxvirus en particulier) pourraient aussi être rencontrés. Nous sommes encore très peu renseignés sur les interactions possibles entre les virus vaccine manipulés génétiquement et les virus sauvages rencontrés dans la nature.

Conclusion

Les autorités médicales ont raison de s'inquiéter de plus en plus des effets négatifs d'une infection à CMV sur la santé humaine. Avec les nouveaux outils de la biologie moléculaire, nous devrions pouvoir vaincre ce virus des plus complexes et des plus négligés du point de vue fondamental. Une meilleure connaissance de l'organisation fonctionnelle du génome CMV pourrait faciliter le développement de substances antivirales et de vaccins efficaces contre ce herpès virus présent partout et nulle part à la fois, feignant l'innocence pour mieux nous tromper ■

m/s n° 6 vol. 6, juin 90

Summary

Human cytomegalovirus infection : diagnosis, treatment and prevention

Cytomegalovirus (CMV) infection is usually mild and often even subclinical in healthy adults. Severe CMV disease is seen in congenitally infected children and in immunocompromised patients. Rapid laboratory detection of this virus is highly desirable in order to manage these patients effectively. Methods based on fluorescent monoclonal antibody staining or *in situ* DNA hybridization in a dram vial cell culture system can now give a positive answer in about one day instead of several weeks like for the standard virus isolation technique. With polymerase chain reaction assays, clear answers are only a question of hours. Early detection is beneficial for the administration of fast and proper antiviral treatments. The combined use of two potent agents, immunoglobulin and ganciclovir, is certainly the best way to treat CMV infections. As far as protection is concerned, the safe and effective vaccine against CMV will probably be a biosynthetic one made through genetic engineering.

TIRÉS A PART

C. Hamelin.