



Evaluation de l'immunité cellulaire T spécifique du cytomégalovirus en transplantation rénale et corrélation avec les épisodes de primo-infections/réactivations virales

Manon Dekeyser

► To cite this version:

Manon Dekeyser. Evaluation de l'immunité cellulaire T spécifique du cytomégalovirus en transplantation rénale et corrélation avec les épisodes de primo-infections/réactivations virales. Sciences du Vivant [q-bio]. 2014. hal-01733571

HAL Id: hal-01733571

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733571>

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

ANNEE 2014

N°

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

dans le cadre du troisième cycle de

Médecine Spécialisée

par

Manon DEKEYSER

Le 10 Février 2014

**EVALUATION DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE T SPÉCIFIQUE DU
CYTOMEGALOVIRUS EN TRANSPLANTATION RENALE ET CORRELATION
AVEC LES ÉPISODES DE PRIMO-INFECTIONS/REACTIVATIONS VIRALES**

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur FRIMAT Luc	Professeur	Président
Monsieur le Professeur RABAUD Christian	Professeur	Juge
Monsieur le Professeur DE CARVALHO Marcelo	Professeur	Juge
Monsieur le Docteur LADRIÈRE Marc	Docteur	Juge

ANNEE 2014

N°

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

dans le cadre du troisième cycle de

Médecine Spécialisée

par

Manon DEKEYSER

Le 10 Février 2014

EVALUATION DE L'IMMUNITE CELLULAIRE T SPECIFIQUE DU CYTOMEGALOVIRUS EN TRANSPLANTATION RENALE ET CORRELATION AVEC LES EPISODES DE PRIMO-INFECTIONS/REACTIVATIONS VIRALES
--

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur FRIMAT Luc	Professeur	Président
Monsieur le Professeur RABAUD Christian	Professeur	Juge
Monsieur le Professeur DE CARVALHO Marcelo	Professeur	Juge
Monsieur le Docteur LADRIÈRE Marc	Docteur	Juge

Président de l'Université de Lorraine
Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen de la Faculté de Médecine
Professeur Henry COUDANE

Vice-Doyen « Formation permanente »
Vice-Doyen « Finances »
Vice-Doyen « Vie étudiante »

Professeur Hervé VESPIGNANI
Professeur Marc BRAUN
M. Pierre-Olivier BRICE

Assesseurs

- 1 ^{er} Cycle et délégué FMN Paces :	Docteur Mathias POUSSEL
- 2 ^{ème} Cycle :	Mme la Professeure Marie-Reine LOSSER
- 3 ^{ème} Cycle :	Professeur Marc DEBOUVERIE
• « DES Spécialités Médicales, Chirurgicales et Biologiques »	Professeur Associé Paolo DI PATRIZIO
• « DES Spécialité Médecine Générale »	Mme la Professeure I. CHARY-VALKENAERE
• « Gestion DU – DIU »	
- Plan campus :	Professeur Bruno LEHEUP
- Ecole de chirurgie et nouvelles pédagogies :	Professeur Laurent BRESLER
- Recherche :	Professeur Didier MAINARD
- Relations Internationales :	Professeur Jacques HUBERT
- Mono appartenants, filières professionnalisantes :	Docteur Christophe NEMOS
- Vie Universitaire et Commission vie Faculaire :	Docteur Stéphane ZUILY
- Affaires juridiques, modernisation et gestions partenaires externes:	Mme la Docteure Frédérique CLAUDOT
- Réingénierie professions paramédicales :	Mme la Professeure Annick BARBAUD

DOYENS HONORAIRES

Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY
Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE
Jean-Louis BOUTROY - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT - François CHERRIER
Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre DESCHAMPS
Jean DUHEILLE - Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE - Jean FLOQUET - Robert FRISCH
Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ
Oliéro GUERCI - Pierre HARTEMANN - Claude HURIET - Christian JANOT - Michèle KESSLER - Jacques LACOSTE
Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN
Bernard LEGRAS - Jean-Pierre MALLIÉ - Michel MANCIAUX - Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU - Michel MERLE
Denise MONERET-VAUTRIN - Pierre MONIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN
Gilbert PERCEBOIS - Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON - Jean-Marie POLU - Jacques POUREL
Jean PREVOT - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Michel RENARD - Jacques ROLAND
René-Jean ROYER - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Claude SIMON - Danièle SOMMELET
Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Augusta TREHEUX - Hubert UFFHOLTZ - Gérard VAILLANT
Paul VERT - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Michel WAYOFF - Michel WEBER

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Gérard BARROCHE Professeur Pierre BEY - Professeur Patrick BOISSEL
Professeur Michel BOULANGE - Professeur Jean-Louis BOUTROY - Professeur Jean-Pierre CRANCE
Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE - Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ - Professeure Simone GILGENKRANTZ
Professeure Michèle KESSLER - Professeur Pierre MONIN - Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Luc PICARD
Professeur Michel PIERSON - Professeur Michel SCHMITT - Professeur Jean-François STOLTZ - Professeur Michel STRICKER
Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur Paul VERT - Professeure Colette VIDAILHET - Professeur Michel VIDAILHET
Professeur Michel WAYOFF

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Professeur Gilles GROSDIDIER - Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Professeur Bernard FOLIGUET - Professeur Christo CHRISTOV

3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Professeur François PLENAT - Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDECINE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Professeur Gilles KARCHER - Professeur Pierre-Yves MARIE - Professeur Pierre OLIVIER

2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médecine)

Professeur Michel CLAUDON - Professeure Valérie CROISÉ-LAURENT

Professeur Serge BRACARD - Professeur Alain BLUM - Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur René ANXIONNAT

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Professeur Jean-Louis GUÉANT - Professeur Jean-Luc OLIVIER - Professeur Bernard NAMOUR

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Professeur François MARCHAL - Professeur Bruno CHENUÉL - Professeur Christian BEYAERT

3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)

Professeur Ali DALLOUL

4^{ème} sous-section : (Nutrition)

Professeur Olivier ZIEGLER - Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie - virologie ; hygiène hospitalière)

Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIEWSKI - Professeure Evelyne SCHVOERER

2^{ème} sous-section : (Parasitologie et Mycologie)

Professeure Marie MACHOUART

3^{ème} sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)

Professeur Thierry MAY - Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)

Professeur Philippe HARTEMANN - Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

Professeur Denis ZMIROU-NAVIER - Professeur François ALLA

2^{ème} sous-section : (Médecine et santé au travail)

Professeur Christophe PARIS

3^{ème} sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Professeur François KOHLER - Professeure Eliane ALBUISSON

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Professeur Pierre FEUGIER

2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Professeur François GUILLEMIN - Professeur Thierry CONROY - Professeur Didier PEIFFERT

Professeur Frédéric MARCHAL

3^{ème} sous-section : (Immunologie)

Professeur Gilbert FAURE - Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX - Professeur Bruno LEHEUP

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie - réanimation ; médecine d'urgence)

Professeur Claude MEISTELMAN - Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Gérard AUDIBERT

Professeur Thomas FUCHS-BUDER - Professeure Marie-Reine LOSSER

2^{ème} sous-section : (Réanimation ; médecine d'urgence)

Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT - Professeur Bruno LÉVY - Professeur Sébastien GIBOT

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Patrick NETTER - Professeur Pierre GILLET

4^{ème} sous-section : (Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)

Professeur François PAILLE - Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Hervé VESPIGNANI - Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE
Professeur Luc TAILLANDIER - Professeur Louis MAILLARD

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE – Professeur Olivier KLEIN
Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC – Professeur Bernard KABUTH

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD - Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeure Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAQUAT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE

Professeur Nicolas SADOUL - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT – Professeur Thierry FOLLIGUET

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Professeur Denis WAHL – Professeur Serguei MALIKOV

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeure Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY - Professeur Athanase BENETOS

Professeure Gisèle KANNY – Professeure Christine PERRET-GUILLAUME

2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET

Professeur Cyril SCHWEITZER – Professeur Emmanuel RAFFO – Professeure Rachel VIEUX

2^{ème} sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE

3^{ème} sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Olivier MOREL

4^{ème} sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Roger JANKOWSKI – Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER

2^{ème} sous-section : (Ophtalmologie)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeure Karine ANGIOI

3^{ème} sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)
Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeure Muriel BRIX
=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL
Professeur Walter BLONDEL

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER
=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE
Professeur Jean-Marc BOIVIN

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE
Professeur associé Paolo DI PATRIZIO
=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE
1^{ère} sous-section : (Anatomie)
Docteur Bruno GRIGNON – Docteure Manuela PEREZ
2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)
Docteur Edouard BARRAT - Docteure Françoise TOUATI – Docteure Chantal KOHLER
3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)
Docteure Aude MARCHAL – Docteur Guillaume GAUCHOTTE

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDECINE
1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)
Docteur Jean-Claude MAYER - Docteur Jean-Marie ESCANYE
2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médecine)
Docteur Damien MANDRY

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION
1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)
Docteure Sophie FREMONT - Docteure Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN
Docteure Catherine MALAPLATE-ARMAND - Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA
2^{ème} sous-section : (Physiologie)
Docteur Mathias POUSSEL – Docteure Silvia VARECHOVA
3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)
Docteure Véronique DECOT-MAILLERET

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE
1^{ère} sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)
Docteure Véronique VENARD – Docteure Hélène JEULIN – Docteure Corentine ALAUZET
3^{ème} sous-section : (Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales)
Docteure Sandrine HENARD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ
1^{ère} sous-section : (Epidémiologie, économie de la santé et prévention)
Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteure Frédérique CLAUDOT – Docteur Cédric BAUMANN
2^{ème} sous-section (Médecine et Santé au Travail)
Docteure Isabelle THAON
3^{ème} sous-section (Médecine légale et droit de la santé)
Docteur Laurent MARTRILLE
4^{ème} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)
Docteur Nicolas JAY

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE
2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie : oncologie (type mixte : biologique)
Docteure Lina BOLOTINE
4^{ème} sous-section : (Génétique)
Docteur Christophe PHILIPPE – Docteure Céline BONNET

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Docteure Françoise LAPICQUE – Docteur Nicolas GAMBIER – Docteur Julien SCALA-BERTOLA

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (*Rhumatologie*)

Docteure Anne-Christine RAT

3^{ème} sous-section : (*Dermato-vénéréologie*)

Docteure Anne-Claire BURSZEJN

4^{ème} sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie*)

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*)

Docteur Fabrice VANHUYSE

4^{ème} sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire*)

Docteur Stéphane ZUILY

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (*Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie*)

Docteure Laure JOLY

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

5^{ème} sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale*)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRE DE CONFÉRENCE DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteure Elisabeth STEYER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES

Monsieur Vincent LHUILLIER

19^{ème} Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Joëlle KIVITS

60^{ème} Section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE, GÉNIE CIVIL

Monsieur Alain DURAND

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Monsieur Jean REBSTOCK

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Monsieur Nick RAMALANJAONA

65^{ème} Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE

Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA - Madame Nathalie MERCIER – Madame Céline HUSELSTEIN

66^{ème} Section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteure Sophie SIEGRIST - Docteur Arnaud MASSON - Docteur Pascal BOUCHE

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Masahiko KASHIWARA (1998)
*Research Institute for Mathematical Sciences de
Kyoto (JAPON)*

Professeure Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS
(1996)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIETNAM)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume-Uni)
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)
Professeur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)
Professeur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

REMERCIEMENTS

A Notre Président du jury,

Monsieur le Professeur Frimat,

Professeur en Néphrologie,

Vous me faites l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse et je vous en remercie.

Votre expérience et votre expertise m'ont beaucoup appris au cours de mon internat. Je vous suis reconnaissante du temps que vous m'avez accordé pour la réalisation de ce travail et ma formation d'interne.

A Notre Juge,

Monsieur le Professeur Christian Rabaud,

Professeur en Maladies Infectieuses,

Vous me faites l'honneur de faire partie de mon jury. Je vous remercie d'avoir contribué à développer mon intérêt pour l'infectiologie et vous prie de trouver en ces quelques mots l'assurance de ma gratitude.

A Notre juge, et Co-Directeur de thèse,

Monsieur le Professeur De Carvalho-Bittencourt Marcelo,

Professeur en Immunologie,

Vous me faites l'honneur de faire partie de mon jury et d'avoir co-dirigé ma thèse. Je vous remercie de m'avoir fait découvrir et aimer l'immunologie. Je vous prie de trouver en ces quelques mots l'assurance de ma très vive reconnaissance. J'espère être à la hauteur de vos attentes.

A Notre Juge, et Co-Directeur de thèse,

Monsieur Le Docteur Ladrière,

Docteur en Néphrologie,

Tu me fais l'honneur de faire partie de mon jury et d'avoir co-dirigé ma thèse. Je te remercie de m'avoir encadrée et soutenue tout au long de mon internat. J'ai beaucoup apprécié ta disponibilité, ton écoute et ton aide précieuse durant ce travail. J'espère être à la hauteur de tes attentes.

Je tiens tout particulièrement à remercier

Edwin pour ton amour et ton soutien indéfectibles et si précieux. Tu m'as accompagné pendant ces 11 années et je t'en remercie. Je n'en serai probablement pas là aujourd'hui sans toi. Je n'aurai que quelques mots : l'avenir nous attend.

Mes Parents : Ma maman pour son amour, son soutien et son écoute infinis, mon défunt père qui a fait de moi ce que je suis aujourd'hui, Jean-François mon deuxième père pour son aide précieuse dans la correction de ce manuscrit et ses conseils toujours très « terre à terre ».

Ma famille : Mes oncles – Antoine, Patrick, Jean-Louis, André, Christian et leurs épouses ; Mes cousins et cousines et notamment Adrien et Clara ; à ma famille au Canada qui me soutient à distance. A mes grand-parents qui auraient été si fiers de me voir devenir médecin, moi qui suis le premier médecin dans la « lignée connue des DEKEYSER depuis 1747 » paraît-t'il. Merci pour votre aide.

Mes ami(e)s et notamment **Fanny Scopis, Amandine Beck et Alice Suarez**. Nous nous sommes toujours soutenues durant toutes nos études. L'internat nous a mené chacune dans une ville différente mais notre amitié perdure et est très chère à mon cœur.

Mes co-internes et ami(e)s : avec qui j'ai partagé de bons moments néphrologiques et culinaires Perrine, Pierre, Sophie ou les 4 fantastiques, Arnaud, Arielle, Alexandre, Emilie, Ophélie, Benjamin, Johan, Clément, Alexandra, Asma, Alice et Flora. Merci pour votre soutien et votre compréhension. Et aussi à tous les internes que j'ai croisé et qui ont su égayer les stages Laurence, Danny, Clémence, Eliette, Alexandre, François, Pierre-Adrien, Guillaume, Cyril, Geoffrey et Marie.

Tous les médecins néphrologues ou non que j'ai rencontré, à Madame le Professeur Kessler et Mr le Professeur Frimat qui m'ont transmis leur passion pour la néphrologie, à Mr le Professeur Eschwège pour sa gentillesse et son soutien, à Marc qui m'a beaucoup aidé durant tout mon internat, au Dr Cao qui nous a appris à cajoler les fistules, à Joëlle, Nicolas et Sophie pour leur disponibilité et leur sympathie, à Cécile qui était là pour mes débuts en néphrologie, à Julien pour son soutien et son enseignement, à Manue et Steph pour leurs bonnes humeurs et leurs écoutes, à Catherine pour son soutien, au Docteurs Henard Sandrine, Letranchant Lorraine, et tous les autres médecins de maladies infectieuses. A tous les autres médecins que j'ai rencontrés.

A toutes les équipes paramédicales que j'ai pu rencontrer lors de mon internat.

Et surtout un grand merci aux patients que j'ai rencontré, qui ont placé leur confiance en moi et m'ont appris à toujours tenter de me dépasser pour leurs biens.

SERMENT

« Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque ».

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

- CMV : CytomégaloVirus Humain
- D^+/R^- : Receveur séronégatif transplanté avec donneur séropositif pour le CMV
- D^-/R^- : Receveur séronégatif transplanté avec donneur séronégatif pour le CMV
- D^+/R^+ : Receveur séropositif transplanté avec donneur séropositif pour le CMV
- D^-/R^+ : Receveur séropositif transplanté avec donneur séronégatif pour le CMV
- EBV : Epstein-Barr Virus
- IE-1 : Immediate Early protein 1
- IE-1 LT : LT spécifiques d'IE-1
- $IFN\gamma$: Interféron γ
- IL2 : Interleukine 2
- LT : Lymphocytes T
- min-max : minimum – maximum
- MIP-1 β : Macrophage Inflammatory Protein-1 β
- MMF : Mycophénolate mophétile
- mTOR : mammalian Target Of Rapamycin
- PBMC : Cellules mononuclées du sang périphérique
- PBS: Phosphate Buffer Saline
- PCR : Polymerase Chain Reaction
- pp65 : phosphoprotéine 65
- pp65 LT : LT spécifiques de pp65
- No Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV sans réactivation virale
- R^+ : Receveur séropositif pour le CMV
- Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale
- SAL : Sérum Anti-Lymphocytaire
- SVF: Sérum de Veau Fœtal
- TCM : Lymphocytes T Mémoires Centraux
- TD : Lymphocytes T Effecteurs Terminaux
- TEM : Lymphocytes T Effecteurs Mémoires
- TN : Lymphocytes T Naïfs
- $TNF\alpha$: Tumor Necrosis Factor α
- TSCM : Progéniteurs Mémoires T ou T Stem Cells Memory
- VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	9
SERMENT	15
LISTE DES ABBRÉVIATIONS	16
TABLE DES MATIÈRES	17
AVANT-PROPOS	19
INTRODUCTION	20
ETAT DE L'ART : La Transplantation Rénale	21
Généralités – Activité.....	21
Bases de l'immunosuppression	22
Bases moléculaires de l'activation lymphocytaire T	23
Le traitement immunosuppresseur	24
Le traitement des rejets de greffons rénaux.....	26
Infection chez le transplanté	27
Généralités.....	27
Chronologie des infections - Une épidémiologie particulière.....	28
Cas particulier du Cytomégalo virus humain	30
ARTICLE – Résumé.....	35
INTRODUCTION	36
MATERIELS ET METHODES.....	39
Patients et Témoins	39
Protocoles thérapeutiques en place dans le service	40
Recueil des données	42
Définitions.....	43
Analyses biologiques.....	44
Analyse statistique.....	47
RESULTATS	47
Description initiale des patients inclus et des témoins sains	47

Évolution des patients transplantés	48
La reconstitution de l'immunité cellulaire	50
DISCUSSION	55
CONCLUSION – PERSPECTIVES.....	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	61
TABLE DES TABLEAUX et FIGURES – ANNEXES	64
PERMIS D'IMPRIMATURE	94
RÉSUMÉ	95

AVANT-PROPOS

INTRODUCTION

Du fait de l'évolution des différents traitements immunosuppresseurs et malgré le développement des thérapies antivirales efficaces contre le Cytomégalo virus (CMV), cette infection virale reste une problématique d'importance en transplantation rénale, tant par sa fréquence que par son impact sur l'évolution du patient et du greffon.

Il n'y a actuellement pas de consensus concernant la gestion du CMV chez les receveurs séropositifs pour le CMV. S'il est recommandé que tous les patients séronégatifs transplantés avec un donneur séropositifs pour le CMV bénéficient d'une prophylaxie systématique antivirale, il n'y a pas de recommandation pour le groupe de receveurs séropositifs pour le CMV. Deux attitudes thérapeutiques sont possibles : une prophylaxie systématique anti-CMV ou une thérapie préemptive (initiation du traitement au-delà d'une valeur seuil de charge virale avant l'apparition de symptômes cliniques).

Il n'existe pas à l'heure actuelle d'outils diagnostique permettant d'évaluer le degré d'immunosuppression du patient. Or, cette approche pourrait nous guider dans le choix de l'une ou l'autre des deux attitudes thérapeutiques. Dans ce but, nous nous proposons d'étudier l'immunité mémoire T spécifique du CMV comme facteur prédictif de risque de réactivation virale.

Nous présenterons dans ce travail dans un premier temps les principes de la transplantation rénale (en précisant l'activité de greffe en France), de l'immunosuppression et ses conséquences sur l'incidence des infections opportunistes. Nous rappellerons ensuite les caractéristiques du CMV et son impact en transplantation rénale. Notre étude a consisté en la description de l'immunité cellulaire T spécifique chez des patients nouvellement transplantés rénaux avec un suivi médian de 6 mois comparés à une population de sujets sains. Nous avons cherché à mettre en évidence un lien entre l'évolution clinique des patients et la reconstitution de l'immunité mémoire T spécifique du CMV.

ETAT DE L'ART : La Transplantation Rénale

Généralités – Activité

L'incidence de l'insuffisance rénale chronique terminale augmente régulièrement et le nombre de patients traités par dialyse ou transplantation ne cesse de croître. En transplantation d'organe, la greffe de rein est quantitativement la plus importante. (Figure 1) Cette méthode de suppléance rénale est le traitement de choix avec de meilleurs résultats à long terme sur la survie du patient, la qualité de vie et un moindre coût. Malgré une activité en hausse, le nombre de patients en attente de greffe est en constante augmentation expliquant un délai d'attente actuel moyen de 22,3 mois en France.(1) La pénurie de greffons rénaux s'est aggravée ces 5 dernières années avec un nombre de candidats par greffon passant de 3,4 en 2006 à 4,1 en 2011. La durée d'attente varie significativement selon le groupe sanguin (médiane d'attente des inscrits entre 2006 et 2011 de 12,1 mois pour les malades de groupe sanguin A ; 13,8 mois pour les malades de groupe sanguin AB ; 28,8 mois pour les malades de groupe sanguin O et 36,5 mois pour les malades de groupe sanguin B). Elle varie également selon l'existence d'une immunisation vis-à-vis des antigènes HLA et selon l'âge. La durée d'attente des receveurs âgés de moins de 18 ans qui bénéficient de la priorité pédiatrique est très inférieure à la médiane nationale (6,9 mois). A l'autre extrémité, les sujets les plus âgés (≥ 66 ans) ont également une médiane d'attente plus courte (13,6 mois) ce qui s'explique par la part importante des donneurs décédés de plus de 65 ans qui leur est proposée (29 %), tandis que les candidats de 30 à 55 ans sont ceux dont l'attente médiane est la plus longue (24,2 mois). La comparaison des courbes de survie des greffons entre 1986 et 2010 montre une amélioration significative ($p < 0,001$) des résultats selon les cohortes de greffe : survies à 1 an de 83,6 % à 92,1 % et à 5 ans de 68,2 % à 77,6 %. Pour la cohorte 1993-2010, la survie à 10 ans est significativement meilleure avec donneur vivant (77,9 % contre 62,8 % avec donneur décédé ; $p < 0,001$). Elle est en revanche significativement diminuée chez les receveurs hyperimmunisés et pour les

retransplantations. Enfin, la survie du greffon est moins bonne chez les receveurs de plus de 60 ans.(1) En 2012, 33 298 patients étaient porteurs d'un greffon rénal fonctionnel. 3 044 nouveaux patients ont été transplantés (dont 357 à partir d'un donneur vivant) sur les 9 835 patients inscrits sur la liste d'attente, dont 4 265 nouveaux inscrits. 211 patients sont décédés en attente de greffe (Figure 1).(2) En 2011, la prévalence des malades traités pour insuffisance rénale chronique terminale par dialyse ou transplantation était de 70 700, soit 1 091 par million d'habitant. Celle-ci est 1,6 fois plus élevée chez les hommes que chez les femmes. 39 600 patients (soit 56%) étaient en dialyse et 31 100 (44%) étaient porteurs d'un greffon rénal fonctionnel. L'âge médian était de 55 ans (contre 70 pour les patients en dialyse). La prévalence brute des patients transplantés rénaux a été estimée à 483 par million d'habitant, avec un taux 1,7 fois plus élevée chez les hommes que chez les femmes. La prévalence de la greffe est en augmentation de + 4% (contre + 2% pour la dialyse) du fait de l'augmentation du nombre annuel de patients transplantés et de la meilleure survie des greffons (Figure 2). Parallèlement, ces patients plus âgés présentent des co-morbidités plus nombreuses, associant fréquemment diabète et maladies cardio-vasculaires. La néphropathie initiale des patients transplantés (Figure 3) était : pour 12 % une néphropathie diabétique ou vasculaire, 27 % une glomérulonéphrite chronique, 8 % de maladies génétiques, 4 % d'uropathies et d'hypodysplasies, 4 % de glomérulonéphrites secondaires et 3 % de néphrites interstitielles acquises. Les transferts de flux montre que environ 6 % des patients dialysés sont greffés dans l'année, les flux de sortie les plus important concernant l'hémodialyse autonome (10 %) et la dialyse péritonéale (9 %) contre 2 % pour les patients hémodialysés en centre. (3)

Bases de l'immunosuppression

Outre l'évolution du profil des donneurs et des receveurs, l'activité de transplantation rénale a également connu des évolutions importantes en ce qui concerne les traitements immunosuppresseurs. Historiquement, l'apparition de la ciclosporine (inhibiteur spécifique de la

réponse immune lymphocytaire T) constitue une étape cruciale ayant permis la réduction de la fréquence des rejets et l'amélioration de la survie des greffons à 1 an. Actuellement, la majorité des patients reçoit une trithérapie d'entretien à base d'anticalcineurines, d'antimétabolites et de corticoïdes. Le recours à d'autres schémas thérapeutiques s'est progressivement développé en fonction des caractéristiques des patients (épargne des corticoïdes, minimisation des anticalcineurines pour éviter leur néphrotoxicité, utilisation d'inhibiteurs de la voie mTOR pour leur effet antiprolifératif, recours à un inhibiteur sélectif du 2^{ème} signal d'activation lymphocytaire (*cf infra*) dénué de toute néphrotoxicité, ...). De plus, le recours à un traitement d'induction par anticorps mono ou polyclonal est devenu la règle en prévention primaire des rejets.

À l'heure actuelle, il est encore impossible de mesurer le niveau d'immunosuppression. L'établissement d'un compromis entre réduction du risque de rejet et risque lié à un excès d'immunosuppression (notamment infectieux et néoplasique) reste donc une priorité. L'amélioration de la survie des patients combinée à la durée de vie limitée des greffons rénaux [survie à 10 ans de 65,1 % des reins transplantés entre 1996 et 2000(1)] nous confronte à un problème de plus en plus fréquent qui est celui des patients à haut risque immunologique du fait de leur(s) transplantation(s) antérieure(s). La prise en charge de ces patients ainsi que la meilleure caractérisation du rejet humoral (*cf infra*) justifie une intensification de l'immunosuppression, les traitements actuels visant principalement l'inhibition des lymphocytes B.

Bases moléculaires de l'activation lymphocytaire T

L'activation lymphocytaire T nécessite 3 signaux indispensables à l'élaboration d'une réponse immune cellulaire effective avec expansion clonale (Figure 4) (4).

- Le premier signal, appelé Signal 1, correspond à la « synapse immunologique ». Il s'agit de la reconnaissance spécifique du complexe HLA-peptide présenté par la cellule présentatrice d'antigène (ex : cellule dendritique) par le récepteur spécifique

du lymphocyte T (TCR). Cette voie calcium-dépendante fait intervenir la calcineurine et aboutit à l'activation de facteur de transcription tel que NFAT (*Nuclear Factor of Activated T cells*) ou NF- κ B (*Nuclear Factor- κ B*). Ces facteurs de transcription permettent l'activation des gènes de synthèse de l'Interleukine 2 (IL2) ainsi que son récepteur de haute affinité, l'IL2 étant une cytokine indispensable à la survie, la prolifération et la différenciation lymphocytaire T.

- Le signal 2 est un signal de co-stimulation. Il fait intervenir la liaison de protéines présentes à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (B7-1 ou CD80 et B7-2 ou CD86) au récepteur CD28 exprimé à la surface du lymphocyte T. Ce signal de co-stimulation est indispensable à la mise en place complète du programme d'activation lymphocytaire. L'absence de ce signal avec maintien exclusif du signal 1 aboutit à un état d'anergie lymphocytaire.
- Le signal 3 passe par la liaison de l'IL2 à son récepteur (synthétisé de façon auto et paracrine) et permet l'activation de la voie mTOR, nécessaire à la progression en phase S du cycle cellulaire et l'entrée en mitose.

Le traitement immunosuppresseur

Il comprend 2 phases distinctes : le traitement d'induction et le traitement d'entretien.

Le traitement d'induction (5) repose sur l'administration d'anticorps mono ou polyclonaux :

- Anticorps déplétants polyclonaux anti-lymphocytaires aussi appelés sérum anti lymphocytaire (SAL) (ex. : Thymoglobulines®.) Il s'agit d'un « mélange » d'anticorps dirigés contre des molécules de surface intervenant par exemple dans les communications intercellulaires (CD2, CD3, CD4, CD25,...) ou dans les migrations leucocytaires. La lymphopénie induite est profonde et durable avec un effet rémanent qui peut durer plusieurs mois voire plusieurs années.

- Anticorps monoclonaux anti récepteurs de l'IL2 [Basiliximab (SIMULECT®)]. Inhibiteurs de la prolifération lymphocytaire, ils bloquent la transduction des signaux intracellulaires induits par la fixation de l'IL2 sur son récepteur à la surface du lymphocyte T activé. Ils n'induisent pas de lymphopénie.

Le traitement d'entretien (5) repose sur :

- les anticalcineurines ont pour cible la calcineurine et inhibent ainsi le premier signal d'activation lymphocytaire. : ciclosporine (NEORAL®), tacrolimus (ADVAGRAF®, PROGRAF®, ADOPORT®),
- les antimétabolites inhibent la synthèse de novo des purines et donc la prolifération des lymphocytes T et B : le mycophénolate mofétil (MMF) (CELLCEPT®), mycophénolate sodique (MYFORTIC®) et l'azathioprine (IMUREL®),
- les inhibiteurs de la voie mTOR inhibent la voie mTOR et bloquent ainsi le passage de la phase G1 à la phase S du cycle et donc la prolifération cellulaire : sirolimus (RAPAMUNE®), évérolimus (CERTICAN®),
- les corticoïdes [per os : prednisone (ex : CORTANCYL®) ; IV : méthylprednisolone (SOLUMEDROL®)] sont immunosuppresseurs par de multiples mécanismes qui entrent en synergie afin de bloquer le développement de la réponse immune et participent à l'élaboration d'un état anti-inflammatoire. Molécules lipophiles traversant librement la membrane cellulaire, le complexe corticoïdes-récepteurs est capable d'inhiber des facteurs de transcription et donc de diminuer la synthèse des cytokines, des médiateurs lipidiques et des chimiokines de l'inflammation. A fortes doses, les corticoïdes intra-veineux entraînent une apoptose des lymphocytes T, préférentiellement les lymphocytes CD4. Ils possèdent également une action

inhibitrice sur la maturation des cellules dendritiques, leur conférant un état protérologène.

- Le BELATACEPT : Inhibiteur sélectif du 2^{ème} signal d'activation lymphocytaire, la molécule CTLA4-Ig se lie aux récepteurs B7-1 et B7-2 de la cellule présentatrice d'antigène et empêche ainsi la fixation de CD28 à ces récepteurs. Cette molécule est prometteuse car dénuée de toute toxicité rénale. Actuellement, la forme galénique est exclusivement par voie intra-veineuse et permet d'éviter les oublis de prises thérapeutiques. Cette molécule vient d'obtenir l'autorisation de mise sur le marché en traitement préventif des rejets de greffe, en association avec les antimétabolites et les corticoïdes. Elle est contre-indiquée chez les patients séronégatifs pour l'Epstein-Barr Virus (EBV) devant une augmentation du risque de lymphome post-transplantation dans cette population.

Le traitement des rejets de greffons rénaux

Le rejet de greffon rénal est diagnostiqué sur des lésions histologiques répertoriées, selon la classification de BANFF. On définit ainsi un rejet cellulaire (médiée par les lymphocytes T) ou un rejet humoral (médiée par les lymphocytes B) ainsi qu'un rejet aigu ou chronique. De façon schématique, on distingue des lésions aiguës (glomérulite, tubulite, infiltrat lymphocytaire, artérite ou capillarite péritubulaire) et des lésions chroniques (doubles contours et hypertrophie mésangiale, atrophie tubulaire et fibrose interstitielle, endartérite fibreuse et hyalinose artériolaire). Le rejet humoral a récemment fait l'objet d'une nouvelle classification et associe des lésions histologiques spécifiques associé ou non à des dépôts de la fraction C4d du complément dans les biopsies rénales avec l'identification d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur dans le sang du receveur.(6)

Le traitement du rejet cellulaire consiste en une cure de corticoïdes à fortes doses en intraveineux (SOLUMEDROL®) sur 5 jours. Le traitement du rejet humoral aigu comprend une

corticothérapie, des échanges plasmatiques, des immunoglobulines intraveineuses et des anticorps monoclonaux anti-CD20, le Rituximab (MABTHERA®). Le traitement du rejet chronique humoral n'est pas codifié et actuellement encore débattu.

Infection chez le transplanté

Généralités

Le risque infectieux des patients transplantés a été considérablement modifié par l'évolution des traitements immunosuppresseurs. La réduction importante du risque de rejet cellulaire [survie à 1 an des greffons > 92 % en 2010 contre 83 % en 1986 (1), liée au traitement efficace des rejets cellulaires mais aussi à l'amélioration des techniques chirurgicales et à la réduction des posologies initiales d'immunosuppresseurs responsable de néphrotoxicité] ainsi que les nouvelles thérapeutiques des rejets humoraux ont permis une diminution du risque immunologique. Cette diminution s'est accompagnée d'une augmentation de la susceptibilité des patients aux infections opportunistes et aux néoplasies. La mise en place des prophylaxies antimicrobiennes contre la pneumocystose par l'association Sulfaméthoxazole 800 mg/Triméthoprim 160 mg (Bactrim forte®) pendant les 6 premiers mois de la greffe ainsi que les prophylaxies anti-CMV ont diminué l'incidence de ces infections opportunistes. Nous sommes de plus en plus confrontés à l'émergence de nouveaux virus ou de micro-organismes possédant des résistances microbiennes. Les infections chez les patients transplantés peuvent être classées en 4 catégories : les infections dérivées du donneur ; celles dérivées du receveur (infections latentes non dépistées chez le receveur – ex : nocardiose,...) ; les infections nosocomiales et les infections communautaires (caractérisées par une plus grande sévérité et un tableau clinique moins classique). Le développement de nouveaux outils de diagnostic microbiologique spécifique et précoce est essentiel pour guider le traitement et minimiser les effets tant des infections que des thérapeutiques utilisées.(7) Les infections virales sont les causes les plus fréquentes d'infections opportunistes en post-greffe. Elles sont caractérisées

par des effets directs du pathogène et des effets indirects. Le patient greffé est alors exposé à un risque accru d'infection opportuniste bactérienne ou fongique, un risque accru de néoplasie viro-induites (lymphome post-transplantation, sarcome de Kaposi, condylome et cancers du col de l'utérus ou de la marge anale, hépatocarcinome) ou une augmentation du risque de rejet de greffe lié à l'état pro-inflammatoire induit par les infections.(8) Le risque infectieux est conditionné par plusieurs facteurs dont notamment le degré d'immunosuppression, les caractéristiques du patient (ex : état nutritionnel, antécédent de diabète, ...), la nature et le nombre des procédures invasives auxquelles le patient est soumis, l'écologie du service et celle de l'environnement du patient, les stratégies prophylactiques utilisées et les co-infections immunomodulatrices (ex. : le CMV). Le degré d'immunosuppression est difficile à appréhender. Nous ne disposons actuellement que d'indicateurs indirects (ex : Numération-Formule sanguine, sous-population lymphocytaire, ..) et il n'existe pas d'indicateur objectif pour évaluer individuellement le risque infectieux des patients.

Chronologie des infections - Une épidémiologie particulière

Bien que le risque infectieux perdure toute la durée de greffe, ce risque est majeur la 1^{ère} année post-transplantation. L'épidémiologie des infections chez les patients transplantés est assez caractéristique. Fishman (7) a proposé en 2007 un classement en 3 catégories des infections post-transplantation selon l'ancienneté de la greffe (le 1^{er} mois, de 1 à 6 mois puis au-delà des 6 mois). (Figure 5).

Au cours du premier mois, les infections nosocomiales et postopératoires prédominent (infections bactériennes ou fongiques du site opératoire, infections pulmonaires, urinaires ou de l'accès vasculaire, candidémies, ...) Plus de 90% de ces infections sont les mêmes infections nosocomiales que l'on peut rencontrer chez les patients non immunodéprimés mais sont plus sévères et plus difficile à traiter. Les espèces microbiennes en cause présentent un risque élevé de résistances aux antibiotiques ou antifongiques classiques. On observe également des infections méconnues provenant du donneur et des infections latentes ou méconnues chez le receveur.

Entre le deuxième et le sixième mois, on observe des réactivations d'infections latentes (CMV, EBV, Herpès et Zona, Néphropathie à BK-virus, ...) ainsi que les premières infections opportunistes (pneumocystose, tuberculose, ...). Ce risque infectieux a considérablement diminué depuis la mise en place des prophylaxies anti-CMV et anti-pneumocystose.

Après le sixième mois, l'immunosuppression est souvent allégée et les patients sont exposés au risque infectieux communautaire de la population générale. Le risque de réactivations d'infections latentes est toujours présent mais à une moindre fréquence. On assiste par contre à l'émergence des néoplasies viro-induites (lymphome post-transplantation lié à une réactivation de l'EBV, sarcome de Kaposi lié au virus HHV8, condylome et cancers du col de l'utérus ou de la marge anale lié aux papillomavirus, hépatocarcinome lié aux virus de l'hépatite B et C, carcinomes urothéliaux liés à la réplication du BK-virus).

Enfin, chez 5 à 10% des patients, des épisodes de rejets aigus intercurrents induisent un renforcement de l'immunosuppression et exposent les patients aux infections opportunistes.

L'analyse prospective de 2702 patients transplantés d'organes solides en Espagne de septembre 2003 à Février 2005 (9) montre un taux d'infections tardives (*ie* infections survenant après les 6 premiers mois de greffe) de 8 % avec un taux global d'incidence en transplantation rénale de 0,3 pour 1000 patients. Les facteurs de risques identifiés comprenaient les épisodes de rejets de greffe antérieurs, la dysfonction chronique du greffon, les reprises chirurgicales, les réactivations virales et infections bactériennes antérieures ainsi que la transplantation pulmonaire. Bien que la fréquence des infections soit plus élevée dans la période précoce en post-transplantation, la gravité était identique quelle que soit le délai après la greffe (taux de mortalité rapporté à l'infection identique avant ou après 6 mois de greffe). Excepté pour les infections virales, le type d'infection et l'atteinte d'organe étaient similaires entre les 2 périodes. Les infections pulmonaires étaient plus fréquentes dans la période tardive. Les différentes prophylaxies utilisées n'avaient pas d'impact sur la survenue des infections tardives (notamment pour la pneumocystose).

En transplantation rénale, un receveur séronégatif transplanté avec un donneur séropositif pour le CMV ou D⁺/R⁻) était un facteur de risque aux infections tardives.

Cas particulier du Cytomégalo­virus humain

Le pathogène

Le CMV appartient à la famille des *Herpesviridae*, dénommé sous le nom « β Human Herpès Virus de type 5 » (Figure 6). Avec un génome d'environ 235 kb codant pour environ 165 gènes, le virion est constitué d'une double hélice d'ADN au sein d'une nucléocapside enveloppée par une matrice protéique appelée le tégment dont la protéine principale est la phosphoprotéine 65 (pp65). Le tout est enveloppé dans une bicouche lipidique contenant des glycoprotéines virales (Figure 7).(10) Bien que les protéines du CMV synthétisées et reconnues comme antigéniques soient nombreuses (plus de 200 épitopes antigéniques reconnus), deux peptides antigéniques sont immunodominants : pp65 et l'« Immediate Early protein 1» (IE-1), protéine synthétisée dans la phase précoce-immédiate de la réplication virale. Ces 2 peptides sont immunodominants (reconnus largement par les lymphocytes T spécifiques du CMV) (Figure 8).

Épidémiologie

Le CMV est un virus ubiquitaire avec une prévalence variant de 50 à 90 % selon la population étudiée avec une stabilisation ces 20 dernières années que ce soit aux USA ou en Europe. La prévalence augmente avec l'âge, le sexe féminin, et un niveau socio-économique bas.(10–12) De transmission large (via la salive, les expositions trans-placentaires, l'allaitement maternel, les contacts sexuels, les transfusions sanguines, les greffes d'organes ou de tissus), la primo-infection chez les sujets immunocompétents est le plus souvent asymptomatique ou s'exprime par un syndrome pseudo-grippal voire un syndrome mononucléosique (hyper-lymphocytose avec présence de lymphocytes hyper-basophiles activés). Le virus établit secondairement une latence virale dans l'organisme avec des épisodes de réactivation.(10)

Spécificité d'hôte

L'infection à CMV est spécifique d'espèce. Aucune lignée d'origine animale ne permet la réplication du CMV humain. De réservoir strictement humain et doté d'un large tropisme, le CMV peut induire deux types d'infections : une infection lytique correspondant à une forte réplication virale conduisant à la lyse de la cellule hôte et une infection latente correspondant à la persistance du virus à l'état quiescent dans les cellules mononuclées et les progéniteurs hématopoïétiques de la moelle osseuse avec contrôle de la réplication du virus. La quiescence du virus est caractérisée par des réactivations virales infra-cliniques chez le sujet immunocompétent. Celles-ci deviennent symptomatiques lors d'une immunodéficience chez l'hôte.(10)

Cycle de réplication

Le cycle naturel de l'infection par le CMV humain (Figure 9) oscille comme tous les *Herpesviridae* entre une primo-infection, l'installation d'une latence et des épisodes de réactivations. Les cellules dans lesquelles le virus va installer sa latence sont les cellules progénitrices myéloïdes de la moelle osseuse. Leur différenciation en monocytes/macrophages ou en cellules dendritiques va alors induire la réactivation du virus. Dans le cas d'une infection active, le cycle du CMV varie de 96 à 120 heures. L'infection est initiée par l'entrée du virus dans les cellules infectées. La pénétration du virus se fait par la fixation du virion à la membrane cellulaire puis par la fusion de la membrane virale et de la membrane cellulaire permettant la libération de la nucléocapside dans le cytoplasme. Il n'existe pas de récepteur spécifique au CMV. En effet, les glycoprotéines de l'enveloppe virale interagissent avec beaucoup de protéines cellulaires, le principal récepteur actuellement décrit étant le récepteur à l'Epithelial Growth Factor (EGF-R). Après entrée du virus dans les cellules infectées, la nucléocapside entre dans le noyau où les protéines structurales de la capsid sont dégradées et l'ADN viral libéré. La transcription des gènes viraux s'effectue en 3 phases coordonnées :

- Une phase très précoce IE (Immediate Early)

Durant cette phase, les protéines régulant la transcription virale ultérieure vont être produites. Les deux protéines très précoces principales et essentielles à l'aboutissement du cycle viral sont les protéines IE1 et IE2.

- Une phase précoce E (Early)

Cette phase va aboutir à la production des protéines correspondant aux enzymes de réplication virale (ex : ADN-polymérase virale).

- Une phase tardive L (Late)

C'est durant cette phase que le génome viral sera dupliqué et les protéines structurales synthétisées, telles que les protéines de la nucléocapside. Les nucléocapsides retournent dans le noyau où elles seront assemblées avec l'ADN viral puis s'enveloppent de la membrane nucléaire en migrant vers le cytoplasme. Elles acquièrent à ce moment là les protéines du tégument (dont la protéine pp65). Une fois libérés dans le cytoplasme, les virions sont ensuite libérés dans le milieu extérieur où ils acquièrent alors la bicouche lipidique.

Le CMV en transplantation rénale

Particularités

En transplantation rénale, l'infection par le CMV demeure une des infections virales les plus fréquentes avec une morbi-mortalité non négligeable pour le patient et le greffon.(8,13) L'infection à CMV est caractérisée par des effets directs du virus (maladie à CMV ou atteinte tissulaire spécifique d'organe) et des effets indirects conduisant à un état pro-inflammatoire et une altération qualitative de la réponse immune adaptative (production de facteurs pro-inflammatoires, sur-expression des molécules du HLA de classe II, activation des Toll Like Receptors de l'immunité

innée, réactivité immunitaire croisée entre les antigènes viraux et les cellules du greffon,...). Ces effets indirects sont responsables d'un risque accru d'infections opportunistes, d'altération de la fonction du greffon et du risque de rejet (Figure 10).(7,8)

Clinique

Une primo-infection en post-greffe est fréquente chez des sujets non immunisés, soit liée à une primo-infection par le greffon (> 50 % en l'absence de prophylaxie chez les patients D⁺/R⁻ pour le CMV (8,13)), soit liée à une primo-infection tardive. Pour les receveurs immunisés contre le CMV en pré-greffe, la fréquence de réactivation est en augmentation depuis le renforcement des thérapies immunosuppressives pouvant aller actuellement jusqu'à près de 40 %.(8,13). Le tableau 1 rapporte les signes cliniques d'infections à CMV.(8)

Gestion du CMV

La prise en charge du CMV a fait l'objet en 2010 d'une conférence de consensus quant à la gestion du diagnostic, du monitoring et du traitement approprié.(14) En post-transplantation, les réactivations virales se font en moyenne dans les 3 premiers mois. Chez les patients D⁺/R⁻, plus de 50% d'entre eux auront une primo-infection virale symptomatique avec l'immunosuppression actuelle.(8) Ces patients bénéficient d'une prophylaxie antivirale (traitement systématique par valganciclovir) d'une durée variant de 3 à 6 mois.(15) Chez les receveurs séropositifs, si une réplication virale du CMV concerne 30 à 40 % des patients, seuls 10 à 20 % d'entre eux auront des virémies symptomatiques. Il est actuellement impossible de distinguer les patients qui auront une clairance spontanée virale de ceux avec virémie croissante, voire maladie à CMV. La surveillance actuelle est basée sur la mesure de la charge virale par Polymerase Chain Reaction (PCR) ou l'évaluation de l'antigénémie pp65. La charge virale est proportionnellement corrélée au risque de maladie à CMV, d'autant plus que la virémie est rapidement croissante.(13)

Il n'y a actuellement pas de consensus dans le groupe de receveurs séropositifs pour le CMV entre l'établissement systématique d'une prophylaxie anti-CMV ou une thérapie préemptive (initiation du traitement au-delà d'une valeur seuil de charge virale).

L'analyse de la littérature retrouve une augmentation de la virémie CMV sous thérapie préemptive mais avec un effet controversé sur l'incidence des maladies à CMV.(16,17) L'intérêt de cette thérapie préemptive est d'autant plus important qu'elle permet une épargne des antiviraux en termes d'effets secondaires et d'apparition de résistance du CMV au ganciclovir. Il est donc nécessaire d'évaluer de nouveaux moyens de monitoring du CMV en post-transplantation rénale. L'évaluation de l'immunité cellulaire spécifique du CMV pourrait être un de ces nouveaux outils.

ARTICLE – Résumé

Introduction : En transplantation rénale, le Cytomégalo virus humain (CMV) est une des infections virales les plus importantes. L'évaluation de l'immunité mémoire T spécifique du CMV pourrait nous permettre d'évaluer le risque infectieux de chaque patient et fournir un outil afin de guider l'utilisation des thérapies anti-virales préemptives ou prophylactiques.

Matériels et Méthodes : Nous avons comparé de façon prospective, par cytométrie en flux multiparamétrique, les sous-populations lymphocytaires T CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques du CMV de 20 témoins et de 22 patients nouvellement transplantés rénaux le jour de l'appel de greffe, à la 6^{ème} semaine, au 3^{ème} et 6^{ème} mois post-transplantation et lors d'une réactivation CMV. Nous avons étudié la polyfonctionnalité (capacité pour une même cellule de sécréter de façon concomitante plusieurs cytokines, ici IL2, TNF α et IFN γ) et la différenciation lymphocytaire (lymphocytes T naïfs, progéniteurs mémoires T, mémoires centraux, effecteurs mémoires et effecteurs terminaux).

Résultats : 14 patients (63,6 %) ont eu une complication infectieuse virale (infections à CMV, EBV ou BK-virus). 7 patients (31,8 %) ont eu une réactivation CMV symptomatique. 8 patients (36,4 %) séropositifs pour le CMV n'ont pas présenté de réplication virale symptomatique. La différenciation lymphocytaire spécifique du CMV était plus avancée chez les patients greffés par rapport aux témoins (expansion des lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ TEM, diminution des lymphocytes T naïfs et des lymphocytes T CD4⁺ TCM - $p < 0,05$). L'index de polyfonctionnalité lymphocytaire était plus élevé chez les patients transplantés à J0 par rapport aux témoins ($p < 0,05$). Cette différenciation lymphocytaire était encore plus avancée avec une polyfonctionnalité lymphocytaire plus restreinte et une expansion modérée des progéniteurs mémoires T CD8⁺ chez les patients ayant fait une réactivation virale CMV ($p < 0,05$).

Conclusion : La différenciation des lymphocytes T spécifique du CMV est plus avancée chez les patients transplantés par rapport aux témoins, témoignant d'un vieillissement prématuré du contingent cellulaire T chez les patients insuffisant rénaux chroniques. Cette différenciation lymphocytaire est encore plus avancée chez des patients avec réactivation virale et pourrait s'expliquer par une stimulation antigénique répétée du système immunitaire. Une polyfonctionnalité lymphocytaire plus importante semble être associée à un meilleur contrôle de la charge virale CMV.

INTRODUCTION

L'infection à Cytomégalo virus (CMV) reste une problématique d'importance en transplantation rénale, tant par sa fréquence que par son impact sur l'évolution du patient et du greffon (Figure 10).(7,8,13) La prise en charge du CMV en post-greffe fait toujours débat.(14) S'il est recommandé que tous les patients séronégatifs transplantés avec un donneur séropositifs (D^+/R^-) pour le CMV bénéficient d'une prophylaxie systématique antivirale de 3 à 6 mois en post-transplantation, il n'y a pas de recommandation pour le groupe de receveurs séropositifs pour le CMV. On observe deux attitudes thérapeutiques : une prophylaxie systématique anti-CMV ou une thérapie préemptive (initiation du traitement au-delà d'une valeur seuil de charge virale).

Actuellement, il n'existe pas d'outils permettant d'évaluer le degré d'immunosuppression des patients. Or, cette approche pourrait guider entre autres le choix entre ces deux attitudes thérapeutiques. L'infection par le CMV laisse une empreinte majeure dans le répertoire lymphocytaire T.(18) Deux peptides antigéniques sont largement reconnus par les lymphocytes T (LT) : la protéine pp65 (protéine du tégument de la particule virale) et l'« Immediate Early protein 1 » ou IE-1 (protéine synthétisée dans la phase précoce-immédiate de la réplication virale). La polarisation de la réponse lymphocytaire est de type Th1 [LT $CD8^+$ cytotoxiques, sécréteurs d'Interféron γ ($IFN\gamma$), de Tumor Necrosis Factor α ($TNF\alpha$) et LT $CD4^+$ sécréteurs d' $IFN\gamma$ et d'Interleukine 2 ($IL2$)].(19–21)

La différenciation lymphocytaire T comporte 5 stades (19,22,23) : (Figures 11 et 12)

- les LT naïfs (TN) caractérisés par l'expression de marqueurs de différenciation précoce [$CD45RA$, $CD28$ ou $CCR7$ (ou $CD197$)] ;
- les LT mémoires centraux (TCM) caractérisés par la co-expression de $CD28$ et de $CCR7$ avec des marqueurs de différenciation avancée [$CD45RA^-$ et $CD95$]. Dotés d'une grande capacité de prolifération par synthèse autonome d' $IL2$, ils permettent d'initier plus rapidement une réponse immune lors d'une rencontre ultérieure avec l'antigène ;

- les LT effecteurs mémoires (TEM) caractérisés par l'expression de marqueurs de différenciation avancée [CD45RA⁻ et CD95] avec perte de l'expression de CD28 et de CCR7. Ils sont dotés de capacités effectrices avec un seuil de stimulation abaissé ;
- les LT effecteurs terminaux (TD) représentent le stade de différenciation terminale [CD28⁻, CCR7⁻, CD45RA⁺]. Il s'agit des cellules typiquement effectrices capables de sécrétion cytokiniques (TNF α , IFN γ) et de cytotoxicité directe.
- les cellules progénitrices mémoires T (TSCM pour « T Stem Cells Memory ») (24,25) : Représentant 2 à 3 % des LT circulants, elles sont caractérisées par la co-expression de marqueurs de différenciation précoce (CD28, CD45RA, CCR7) et avancée (CD95), sont en majorité polyfonctionnelles (*ie infra*), capables d'auto-renouvellement et de différenciation en TCM, TEM et TD. Elles sont probablement à l'origine de la reconstitution de l'immunité mémoire T.(24,25)

Caractérisé par une latence virale, le CMV correspond à un modèle d'exposition antigénique prolongée au système immunitaire avec persistance virale et faible charge antigénique. Il en résulte une stimulation répétée de l'immunité cellulaire du sujet hôte avec instauration d'une forte réponse immunitaire et mise en place d'une « signature fonctionnelle » des LT (19,26) (Figure 13). Ces lymphocytes sont caractérisés par une polyfonctionnalité importante et un état de différenciation avancé vers le stade de lymphocytes TEM, TCM et TD. La notion de polyfonctionnalité est définie par la capacité pour une même cellule d'effectuer plusieurs fonctions de façon concomitante (sécrétions multiples de cytokines (TNF α , IFN γ et IL2), prolifération, cytotoxicité,...).

La polyfonctionnalité de la réponse T a été proposée comme marqueur d'efficacité de l'immunité antivirale.(19) Cette polyfonctionnalité peut être le reflet de la qualité de la réponse immune, potentiellement plus importante que l'aspect quantitatif. Cette polyfonctionnalité est dépendante de la charge virale et de la « pression antigénique » exercée par le virus. Pour illustrer ce propos, nous proposons les exemples du CMV et du virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Concernant le CMV, le passage au stade d'infection chronique avec faible charge antigénique est marqué par l'apparition d'une population lymphocytaire T CD4⁺ et CD8⁺

polyfonctionnels avec LT sécréteurs d'IL2, d'IFN γ et d'IL2/IFN γ . Le VIH, modèle de persistance virale chronique avec une charge virale élevée est caractérisé par des LT CD4⁺ et CD8⁺ exclusivement monosécréteurs d'IFN γ (Figure 14).(19) Riou *et al.* (27) ont démontré chez des patients atteints du VIH en l'absence de traitement que la polyfonctionnalité lymphocytaire était réduite avec l'émergence majoritaire d'effecteurs terminaux monofonctionnels. Chez les patients VIH⁺ traités et avec une charge virale indétectable ou chez les patients non progresseurs à long terme, cette polyfonctionnalité était restaurée. (Figure 15)

Sur ces données, l'évaluation de l'immunité cellulaire spécifique du CMV pourrait être intéressante dans un autre cadre d'immunosuppression acquise, la transplantation rénale. On pourrait ainsi évaluer le risque infectieux de chaque patient afin de guider l'utilisation des thérapies préemptives ou prophylactiques. Gerna *et al.* (28) ont identifié chez 134 patients transplantés d'organes solides suivis pendant 12 mois, un seuil d'immunité protectrice anti-CMV à un taux supérieur à 0,4 cellules/ μ L de sang total de LT CD4⁺ et CD8⁺ sécréteurs d'IFN γ spécifiques du CMV. 55 % des patients avaient une reconstitution immunitaire protectrice dès 3 mois de greffe et 81 % à 6 mois. Bunde *et al.* (29) ont montré chez 27 greffés cardiaques et hépatiques, qu'un haut niveau de réponse des LT CD8⁺ spécifique d'IE-1 était présent dans le groupe de patients ne faisant pas de réactivation virale. Une telle distinction n'était pas retrouvée avec les LT CD8⁺ spécifiques de pp65. Nickel *et al.* (30) ont montré qu'une forte réponse des LT spécifiques d'IE-1 était associée à une moindre alloréactivité et une meilleure fonction des greffons rénaux. Cependant, dans ces études aucune évaluation de la polyfonctionnalité et du stade de différenciation des LT spécifiques du CMV n'a été réalisée. Peu d'études ont abordé ces aspects. Nebbia *et al.* ont mis en évidence chez 29 transplantés hépatiques avec une médiane de réactivation virale à 21 jours post-transplantation qu'une polyfonctionnalité lymphocytaire CD4⁺ spécifiques du CMV étaient significativement associée à un moindre risque de réactivation virale.(31)

Nous proposons d'étudier l'immunité cellulaire spécifique du CMV comme facteur prédictif de risque de réactivation virale. L'objectif principal de notre étude est d'évaluer la réponse

lymphocytaire T spécifique du CMV de façon quantitative et qualitative chez les receveurs d'une allogreffe rénale. En caractérisant les différents stades de différenciation et la polyfonctionnalité des lymphocytes T mémoires spécifiques du CMV (« signatures fonctionnelles »), nous vérifierons l'hypothèse que cette approche permet d'identifier les patients à risque accru de réactivation du CMV et de mieux guider l'utilisation des différentes thérapies antivirales. Le critère de jugement principal est le taux de lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques d'antigènes du CMV, avec une caractérisation approfondie de la différenciation lymphocytaire et des sécrétions cytokiniques de ces cellules.

MATERIELS ET METHODES

Patients et Témoins

Nous avons réalisé une étude pilote prospective, observationnelle monocentrique au CHU de Nancy incluant des patients nouvellement transplantés rénaux du 1^{er} janvier au 30 avril 2013 et des témoins sains séropositifs pour le CMV. La médiane de suivi des patients transplantés est de 8 mois (6 - 10) entre la date de greffe et la date de fin de notre étude. Nous avons exclu les greffes multiples, les patients mineurs et ceux présentant des infections virales chroniques actives (HIV, hépatite B et hépatite C). Les témoins sains ont été sélectionnés dans la population de donneurs sains séropositifs pour le CMV ayant effectué un don de sang (convention CHU de Nancy – EFS Lorraine) tous les mercredis matins pendant 1 mois avec pour objectif l'inclusion de 20 témoins. Une analyse des sous-populations lymphocytaires T spécifique du CMV a été réalisée pour les témoins le jour du don de sang et pour les patients le jour de l'appel de greffe, à 6 semaines, 3 mois et 6 mois de greffe et lors d'une réactivation CMV symptomatique ou non. Le schéma de l'étude est représenté à la Figure 16 ; le diagramme de flux à la Figure 17.

Protocoles thérapeutiques en place dans le service

Traitement immunosuppresseur

Dans notre centre de transplantation, les schémas utilisés dépendent du risque immunologique du patient, de l'âge et des facteurs de risque de diabète. Les patients transplantés reçoivent un traitement immunosuppresseur associant anticalcineurines, antimétabolites et corticoïdes après un traitement d'induction par sérum antilymphocytaire (SAL) ou inhibiteurs du récepteur de l'IL2 (basiliximab). Les anticalcineurines sont prescrites de façon standardisée à la dose de 6 mg/kg/j pour la ciclosporine (Néoral®) et 0,15 mg/kg/j pour le tacrolimus (Prograf®) en deux prises quotidiennes. La prescription est réalisée en fonction du poids réel du patient. En ce qui concerne l'adaptation posologique des anticalcineurines,

- pour la ciclosporine, nous utilisons les taux résiduels (T0) ainsi que les taux à 2 heures (T2) pendant l'hospitalisation initiale puis, seuls les T0 sont utilisés en consultation. De 0 à 3 mois, les cibles de ciclosporinémie sont entre 150 et 200 ng/mL en T0 et 800 et 1000 ng/mL en T2 ; de 3 à 12 mois entre 100 et 150 ng/mL ; puis au-delà de 1 an entre 50 et 100 ng/mL.
- Pour le tacrolimus, l'objectif de taux résiduel est de 8-12 ng/mL entre 0 et 3 mois puis entre 6 et 8 ng/mL entre 3 mois et 1 an.
- Nous réalisons également une décroissance rapide des corticoïdes pour obtenir la dose standard de prednisolone 5mg/j dès le premier mois. Nous ne réalisons cependant pas de protocole d'épargne en corticoïdes en systématique.

Suivi des patients en post-greffe et Gestion du CMV (Annexe 1)

Après transplantation, le calendrier de consultation des patients la 1^{ère} année est le suivant : deux fois par semaine le 1^{er} mois ; une fois par semaine le 2^{ème} mois ; une fois tous les 10 jours le 3^{ème} mois ; une fois tous les 15 jours du 4^{ème} au 6^{ème} mois puis une fois par mois du 6^{ème} au 12^{ème} mois. Après la 1^{ère} année, les patients sont suivis tous les 2 mois ou tous les 4 mois lorsqu'un suivi

alterné est mis en place. Les consultations sont ensuite progressivement espacées. Ils bénéficient pour chaque visite d'un prélèvement biologique sanguin et urinaire. Concernant l'immunosuppression, les taux résiduel d'anticalcineurines sont réalisés à chaque consultation. Le suivi des anticorps anti-HLA avec recherche d'anticorps spécifiques du donneur est réalisé le 1^{er}, 3^{ème}, 6^{ème} et 12^{ème} mois et/ou en cas de suspicion de rejet humoral. Hormis cas particulier, l'exposition au MMF est évaluée au 3^{ème} mois (Aire sous la courbe).

Sur le plan infectieux, le protocole vis à vis du CMV est le suivant :

- chez les patients D⁻/R⁻ : pas de prophylaxie ni de surveillance,
- chez les patients D⁺/R⁻ : prophylaxie systématique les 3 premiers mois de greffe par valganciclovir PO (ROVALCYTE ®) 900 mg/jour avec adaptation posologique à la fonction rénale puis surveillance par PCR une fois par mois du 4^{ème} au 12^{ème} mois,
- chez les patients R⁺ : thérapie pré-emptive avec surveillance de la PCR CMV une consultation sur deux. Un traitement curatif est initié si la cinétique entre deux prélèvements de PCR CMV augmente de plus de 10 fois chez un patient asymptomatique (valganciclovir PO (ROVALCYTE®) 1800 mg/jour avec adaptation posologique à la fonction rénale).
- Chez un patient symptomatique avec virémie CMV significative (charge virale >10⁴ copies/ml), le diagnostic de maladie à CMV est posé. Un traitement curatif par ganciclovir IV (CYMEVAN®) est débuté (10 mg/kg/jour pendant 21 jours, adapté à la fonction rénale), avec relai par valganciclovir PO 900 mg/jour de 3 à 6 mois.

Après l'initiation d'un traitement, le contrôle de la réplication virale est assuré par la réalisation de PCR CMV deux fois par semaine jusqu'à l'arrêt du traitement en curatif et/ou négativation de la PCR puis retour au rythme antérieur de surveillance des PCR CMV.

La PCR EBV est réalisée 1 fois par semaine le 1^{er} mois puis 1 fois par mois la 1^{ère} année. Les PCR BK-virus (urines et sang périphérique si besoin) sont réalisées 1 fois par mois du 1^{er} au 4^{ème} mois puis au 6^{ème} et 12^{ème} mois. De façon systématique, nous ne recherchons pas les *Decoy Cells* (cellules épithéliales infectées par le BK-virus desquamant dans les urines).

Recueil des données

DIVAT, CRISTAL et Dossier patient

Les données du jour de greffe, à la 6^{ème} semaine, 3 et 6 mois et lors d'une infection à CMV ont été extraites des bases de données informatisée CRISTAL et DIVAT (Données Informatisées Validées en Transplantation) (32), complétées du recueil exhaustif des informations nécessaires dans les dossiers des patients (dossiers papier et informatisé – Logiciel Dxcare).

Pour chaque patient ont été recueillis l'âge, la date de naissance, le sexe, la néphropathie initiale, l'ancienneté de dialyse et la technique d'épuration extra-rénale, les antécédents et notamment ceux néoplasiques ou infectieux, le groupe sanguin et le typage HLA, le taux d'anticorps anti-HLA (classe I et II) avec le taux de greffons incompatibles, la sérologie EBV et CMV avec le taux d'anticorps IgG anti-CMV, la date de la greffe, le rang de la greffe, le traitement immunosuppresseur d'induction et d'entretien, le type de donneur (cadavérique ou vivant), les particularités de la greffe (greffe pré-emptive, dérogatoire pour l'hépatite B,...), le groupe sanguin et le typage HLA du donneur, la sérologie CMV et EBV du donneur, l'existence d'une reprise retardée de fonction, l'évolution clinico-biologique sur 8 mois, l'apparition d'un rejet ou d'une toxicité aux anticalcineurines sur la biopsie du greffon au cours des 8 premiers mois, la survenue d'une infection virale (CMV, EBV et/ou BK-virus) avec les résultats des PCR CMV, la date de l'infection à CMV, son délai par rapport à la greffe, les symptômes cliniques, le diagnostic et le traitement entrepris.

Définitions

Les PCR CMV sont exprimées en UI/mL avec une normale < 750 UI/mL. 1 UI/mL correspond à 0,67 copies d'ADN CMV circulant. Les taux d'IgG anti-CMV sont exprimés en UA/mL avec une positivité > 6 UA/mL. La créatininémie est exprimée en $\mu\text{mol/L}$.

La primo-infection CMV est définie chez les patients D^+/R^- comme une réplication active du CMV (doublement au minimum de la PCR CMV entre 2 prélèvements) avec symptômes cliniques (fièvre, syndrome pseudo-grippal et/ou syndrome neutropénique ou atteinte spécifique d'organe - néphrite, hépatite, pancréatite, pneumonie, myélosuppression, colite, chorioretinite) ayant nécessité un traitement antiviral à dose curative.

La réactivation CMV symptomatique est définie chez les receveurs séropositifs (R^+) pour le CMV comme une réplication active du CMV (cinétique entre deux prélèvements augmentant de plus de 10 fois) chez un patient asymptomatique nécessitant l'initiation d'un traitement préemptif ou si le patient est symptomatique et que la virémie CMV est significative (charge virale $> 10^4$ UI/ml) nécessitant l'initiation d'un traitement antiviral à dose curative.

La réplication CMV asymptomatique est définie chez les patients R^+ comme une réplication active du CMV mais avec une cinétique entre deux prélèvements inférieure à 10 fois le taux précédent chez un patient asymptomatique ne nécessitant de traitement.

La reprise retardée de fonction a été définie comme la nécessité de réaliser au moins une séance d'hémodialyse après la transplantation.

Les épisodes de rejets, prouvés ou non par biopsie, ont été considérés comme significatifs si un traitement s'est avéré requis (y compris lésions borderline de la classification de Banff).

Le diagnostic de toxicité a été retenu si des signes anatomopathologiques de toxicité aiguë ou chronique sont retrouvés sur la biopsie du greffon.

Le diagnostic d'infection virale EBV ou BK-virus sanguin ou urinaire a été retenu pour tout prélèvement virologique positif.

Les patients hyperimmunisés sont définis classiquement comme les patients ayant des anticorps anti-HLA de classe I et/ou II associé à un taux de greffons incompatibles sur les 5 années passées > 85 %. Ces patients peuvent bénéficier du programme « Antigène permis » pour l'attribution prioritaire d'un greffon compatible.

L'index de polyfonctionnalité lymphocytaire est défini comme la capacité de sécrétion de 1 (TNF α ou IFN γ ou IL2), 2 (IL2 + TNF α ou IL2 + IFN γ ou TNF α + IFN γ) ou 3 (TNF α et IFN γ et IL2) cytokines de façon concomitante par les LT spécifiques du CMV. En se basant sur le fait que si tous les LT d'un patient ne sécrétant aucune cytokine représente la valeur 0 et que si tous les LT d'un patient sécrétant 3 cytokines représente la valeur 100, l'algorithme suivant a été appliqué : [nombre de LT sécrétant 1 cytokine x 0,33] + [nombre de LT sécrétant 2 cytokines x 0,66] + [nombre de LT sécrétant 3 cytokines x 0,99] pour calculer l'index de polyfonctionnalité lymphocytaire.(33)

Analyses biologiques

Numération des sous-populations lymphocytaires

Chez tous les patients transplantés rénaux inclus, il a été réalisé au Laboratoire d'Immunologie du CHU de Nancy le jour de l'appel de greffe, à 6 semaines, 3 mois et 6 mois de greffe et lors d'une réactivation CMV symptomatique ou non une évaluation des sous-populations lymphocytaires avec numération des LT CD4⁺, CD8⁺, des lymphocytes B et des cellules NK. Les résultats sont exprimés en valeur absolue et en pourcentage puis rendus au clinicien.

Sur les volumes sanguins résiduels, nous avons réalisé une évaluation de la différenciation lymphocytaire et des capacités de sécrétions cytokiniques des LT mémoires spécifiques du CMV. Ces analyses nécessitent plusieurs étapes de préparation décrites ci-dessous :

Préparation des cellules mononuclées du sang périphériques (PBMC) et mise en culture

Cette étape et la suivante ont été réalisées en conditions stériles avec le sang restant des prélèvements sanguins. Les PBMC ont été isolées par centrifugation en gradient de densité en utilisant une solution de séparation des leucocytes (Eurobio).(34)

La mise en culture des PBMC (10^6 lymphocytes par puits) a été réalisée avec une incubation de 12 h à 14h, à 37°C et 5% de CO₂. Quatre conditions ont été testées [toujours en présence d'un inhibiteur du transport des protéines, la Brefeldine A à 10 µg/mL (Sigma-Aldrich) et d'anticorps monoclonaux activant les molécules de co-stimulation CD28/CD49d à 1 µg/mL (BD Biosciences)]:

- Cellules non stimulées ;
- Cellules stimulées de façon non spécifique par le Phorbol Myristate Acetate à 50 ng/mL (PMA, Sigma-Aldrich) et l'Ionomycine à 500 ng/mL (Sigma-Aldrich) ;
- Stimulation antigène spécifique IE-1 (PepMix™ CMVA IE-1, JPT), pool de 120 peptides (1,25 µg/mL/peptide) ;
- Stimulation antigène spécifique pp65 (PepMix™ CMVA pp65, JPT), pool de 138 peptides (1,25 µg/mL/peptide).

Marquage membranaire et intracellulaire des sous-populations lymphocytaires

Après incubation, les cellules étaient récoltées et lavées avec du PBS-SVF 1% (Sérum de Veau Foetal). Les cellules étaient ensuite incubées 20 minutes, à 4°C, à l'obscurité avec 5 µL par anticorps dirigés contre les marqueurs de surface : anti-CD3 conjugué à de l'APC Alexa750 (Beckman Coulter), anti-CD4 conjugué à du CF594 (BD Biosciences), anti-CD8 conjugué à de l'APC Alexa700 (Beckman Coulter), anti-CD45RA conjugué à du PerCp Cy 5.5 (eBioscience), anti-CD95 conjugué à du PE (BD Biosciences), anti-CCR7 conjugué à du PE Cy7 (BD Biosciences) ainsi que avec 0,3 µL de l'amine-reactive dye Aqua® comme marqueur de viabilité (Invitrogen). Les cellules étaient alors fixées avec un kit de fixation/perméabilisation (IntraStain®, Dako) pendant 10 min, à température ambiante et à l'obscurité. Après un lavage au PBS-SVF 1%,

les cellules étaient incubées (30 minutes, à 4°C et à l'obscurité) avec l'agent de perméabilisation et les anticorps anti cytokines (5 µL par anticorps) : anti-IL2 conjugué à de l'APC (Miltenyi Biotec), anti-TNFα conjugué à du FITC (Miltenyi Biotec) et anti-IFNγ conjugué à du V450 (BD Biosciences). Un dernier lavage était réalisé et le culot cellulaire était remis en suspension dans 400 µL de PBS.

Lecture et protocole d'analyse en cytométrie de flux

L'acquisition des données était réalisée le jour même du marquage cellulaire sur un cytomètre en flux Navios® de Beckman Coulter (3 lasers, 12 paramètres). Toutes les analyses en cytométrie ont été réalisées avec le logiciel Kaluza® version 1.2 (Beckman Coulter).

Le processus de sélection des populations a été fait sur les cellules « singlets », puis les lymphocytes CD3⁺ Aqua® négatifs (viables) de petite taille suivi de la distinction des populations LT CD4⁺ et CD8⁺. Au sein de ces populations, les 5 stades de maturation lymphocytaire T ont été étudiés : les TN (lymphocytes T CD45RA⁺ CCR7⁺ CD95⁻), les TCM (lymphocytes T CD45RA⁻ CCR7⁺ CD95⁺), les TEM (lymphocytes T CD45RA⁻ CCR7⁻ CD95⁺), les TD (lymphocytes T CD45RA⁺ CCR7⁻ CD95⁺) et les TSCM (lymphocytes T CD45RA⁺ CCR7⁺ CD95⁺).

Enfin, les sécrétions cytokiniques d'IL2, de TNFα et d'IFNγ ont été identifiées afin d'évaluer la fonctionnalité des LT spécifiques du CMV. Une réponse cytokinique a été considérée comme positive lorsqu'elle était ≥ au double de la réponse cytokinique obtenue chez les cellules non stimulées. La monofonctionnalité a été définie comme la capacité de sécrétion d'IL2 ou de TNFα ou d'IFNγ. La bifonctionnalité a été définie comme la capacité de sécrétion d'IL2 et de TNFα ou d'IL2 et d'IFNγ ou de TNFα et d'IFNγ. La trifonctionnalité a été définie comme la capacité de sécrétion simultanée d'IL2, TNFα et IFNγ. (Figure 18) Une combinaison booléenne (disponible avec Kaluza®) avec ces différents paramètres permet d'identifier les différents LT mémoires (TCM, TEM, TD, TSCM et TN) mono-, bi- ou trifonctionnels.

Analyse statistique

Les résultats descriptifs des variables continues sont exprimés en médiane avec quartiles 25 % - 75 % (Q1-Q3) devant la grande répartition des données. Ces variables ont été comparées en utilisant le Student t-test ou le Mann-Whitney Rank Sum Test en fonction de la présence ou non d'une distribution normale des données (test de Normalité Kolmogorov-Smirnov). Le chi-square test a été utilisé pour comparer les proportions entre différents groupes. Le seuil de signification statistique a été établi à une valeur de $p < 0,05$. L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel SigmaPlot version 11 (Systat Software).

RESULTATS

Description initiale des patients inclus et des témoins sains

Vingt-deux patients nouvellement transplantés rénaux (6 femmes – 27,3 % et 16 hommes – 72,7 %) ont été inclus. Le suivi médian des patients a été de 8 mois (minimum - maximum (min-max) = 6-9 mois). L'âge médian était de 59 ans (min-max = 31-77 ans). La médiane d'ancienneté de dialyse était de 3 ans (min-max = 0-13 ans). Dix-huit patients (81,8 %) bénéficiaient d'une première transplantation, 6 greffes (27,3 %) ont été réalisées à partir d'un donneur vivant, 1 (4,5 %) a été réalisé en préemptif (patient n'ayant pas débuté de technique d'épuration extra-rénale). Deux patients (9,1 %) étaient hyperimmunisés. Quinze receveurs (68,2 %) étaient séropositifs pour le CMV avec un taux d'anticorps IgG médian de 250 UA/mL (min-max = 101-250), 7 (31,8 %) étaient séronégatifs. Deux receveurs séronégatifs ont reçu un greffon d'un donneur séropositif. Vingt patients (90,0 %) ont eu un traitement d'induction ; 9 patients (45 %) par du SAL, 11 patients (55 %) par du Basiliximab. Tous les patients ont reçu un traitement d'entretien par anticalcineurine [Ciclosporine A : 9 patients (40,9 %) et Tacrolimus : 13 patients (59,1 %)], mycophénolate mofétil et corticoïdes. Les caractéristiques cliniques des patients à J0 sont présentées dans le tableau 2.

Vingt témoins sains séropositifs pour le CMV ont également été inclus [4 femmes (20 %) et 16 hommes (80 %)]. L'âge médian était de 52 ans (min-max = 23 - 65 ans). Les témoins étaient comparables aux patients greffés en ce qui concerne l'âge et le sexe ($p > 0,05$).

Évolution des patients transplantés

Neufs patients (40,9 %) ont eu une reprise retardée de fonction. Une reprise chirurgicale en postopératoire précoce a été nécessaire chez 3 patients (13,6 %). Quatre patients (18,8 %) ont eu un rejet de greffon, 3 (13,6 %) ont eu des lésions de néphrotoxicité aux immunosuppresseurs. Tous les rejets ont été des rejets cellulaires cortico-sensibles. La créatininémie médiane à 6 mois de suivi était de 148 $\mu\text{mol/L}$, soit un débit de filtration glomérulaire selon la formule MDRD à 45 ml/min/1,73m^2 , témoin d'une insuffisance rénale chronique modérée (stade 3B). Il y a eu 2 pertes de greffons (9,1 %) (dysfonction sévère du greffon sur thrombose partielle de l'artère du greffon à 2 mois de greffe et infarctissement hémorragique du greffon secondaire à une thrombose veineuse avec transplantectomie) sans décès. Concernant le traitement immunosuppresseur par anticalcineurines, une minimisation a été réalisée chez 2 patients (9,1 %) ; la ciclosporine ou le tacrolimus ont été remplacées par un inhibiteur de mTOR de façon provisoire chez 1 patient (4,5 %) à cause d'une néphropathie aux CNI avec retour à la molécule initiale après 7 mois de traitement pour un rejet de greffe. Le MMF a été arrêté chez 2 patients (9,1 %) à cause de répliquations virales BK-virus actives et chez 2 autres patients à cause d'intolérance digestive avec mise sous azathioprine pour un patient.

Quatorze patients (63,6 %) ont eu une complication infectieuse virale (infections à CMV symptomatique, EBV ou BK-virus traitées par une diminution de l'immunosuppression et/ou traitement antiviral spécifique). Huit patients (36,4 %) ont eu une réactivation EBV. Aucun cas de lymphome post-transplantation précoce n'a été identifié. Deux patients (9,1 %) ont fait une réactivation herpétique documentée tandis que 4 patients (18,2 %) ont fait une réactivation à BK-

virus. Toutes les primo-infections/réactivations virales ont été d'évolution favorable sous traitement. Le tableau 3 résume l'évolution des patients en post-transplantation rénale.

Selon l'apparition ou non d'infection à CMV (réactivation CMV symptomatique/primo-infection par le greffon), nous avons identifié 4 groupes de patients. L'évolution clinique de ces 4 groupes est présentée dans le tableau 4 (pas de différences statistiques entre les groupes).

- Receveurs et Donneurs séronégatifs (D^-/R^-) : 5 patients (22,7 % des patients) d'âge médian de 41 ans (min-max = 33-60 ans), 2 femmes et 3 hommes. L'évolution à 8 mois avait tendance à être meilleure dans ce groupe avec une créatininémie inférieure [créatininémie médiane = 111 $\mu\text{mol/L}$ (min-max = 80-192 $\mu\text{mol/L}$) – $p > 0,05$ par rapport au groupe avec réactivation virale], pas de rejet de greffon et des complications infectieuses moins fréquentes.
- Receveurs séronégatifs transplantés avec Donneurs séropositifs (D^+/R^-) : 2 patients (9,1 %) de sexe masculin d'âge médian de 64 ans (min-max = 62-66 ans) ayant présenté une primo-infection CMV issue du donneur à l'arrêt de la prophylaxie (épisodes au 4^{ème} et au 8^{ème} mois post-transplantation). L'évolution a été marquée par 2 reprises retardées de greffon, 1 rejet, 1 néphrotoxicité aux immunosuppresseurs et 1 réactivation à BK-virus. La créatininémie médiane à 8 mois était à 149 $\mu\text{mol/L}$ (min-max = 128-170 $\mu\text{mol/L}$).
- Receveurs séropositifs pour le CMV sans réplication virale ou réplication CMV asymptomatique (groupe No Réact CMV) : 8 patients (36,4 % des patients) (7 hommes et 1 femme) d'âge médian de 50 ans (31-74 ans). Quatre patients n'ont présenté aucune réplication CMV tandis que les 4 autres patients ont eu une réplication CMV asymptomatique. L'évolution a été marquée par 1 reprise retardée de greffon, 1 rejet, 2 néphrotoxicités aux immunosuppresseurs et 2 complications infectieuses (1 réactivation EBV et BK-virus). La créatininémie médiane à 8 mois était à 148 $\mu\text{mol/L}$ (min-max = 78-210 $\mu\text{mol/L}$).

- Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale symptomatique (groupe Réact CMV) : 7 patients (31,8 %) ont eu une réactivation CMV symptomatique (5 épisodes survenus avant la 6^{ème} semaine de greffe ; 2 épisodes survenus entre la 6^{ème} semaine et le 3^{ème} mois post-transplantation). Age médian de 70 ans (min-max = 49-77 ans), 4 hommes et 3 femmes. Les patients de ce groupe avaient une tendance à être plus âgés ($p = 0,079$). Les reprises retardées de fonctions et les reprises chirurgicales étaient plus fréquentes. L'évolution à 8 mois avait tendance à être moins favorable ($p > 0,05$) par rapport au groupe D⁻/R⁻ avec une créatininémie médiane = 183 $\mu\text{mol/L}$ (min-max = 80-542 $\mu\text{mol/L}$), 2 rejets (28,6 %) et 2 pertes de greffon (28,6 %) dont 1 transplantectomie. Les complications infectieuses étaient aussi plus fréquentes avec 4 réactivations EBV (57,1 %), 2 réactivations herpétiques (28,6 %) et 1 réactivation à BK-virus (14,3 %).

La reconstitution de l'immunité cellulaire

Immunité T mémoire spécifique du CMV : comparaison entre témoins et patients à J0

Les résultats sont exprimés en médiane de réponses lymphocytaires (pourcentage de LT répondant à une stimulation sur les LT totaux) avec quartiles 25 % - 75 % (Q1-Q3).

Parmi les LT totaux (LT CD3⁺) des témoins sains, 4,7 % (Q1-Q3= 2,1-9,6) répondent à une stimulation par les antigènes IE-1 du CMV tandis que la réponse est de 4,9 % (Q1-Q3= 2,5-11,3) après stimulation par les antigènes pp65. La réponse lymphocytaire des patients transplantés séropositifs pour le CMV à J0 est plus faible par rapport aux témoins, avec un taux de réponse de 1,8 % (Q1-Q3= 1,2 - 2,7 – $p = 0,003$) des LT spécifiques d'IE-1 (IE-1 LT) et de 2,9 % (Q1-Q3= 2,0 – 5,0 – $p = 0,05$) des LT spécifiques de pp65 (pp65 LT).

LT CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques du CMV répondant à une stimulation IE-1 ou pp65 : (Figure 19)

Les LT CD8⁺ spécifiques d'IE-1 ou de pp65 sont significativement plus représentés chez les témoins par rapport aux groupes Réact. CMV et No Réact. CMV (IE-1 LT CD8⁺ spécifiques

témoins / Réact. CMV / No Réact. CMV – $p = 0,001$; pp65 LT CD8⁺ témoins / Réact. CMV / No Réact. CMV – $p = 0,022$).

Répartition des sous-groupes de LT mémoires spécifiques du CMV

Chez les témoins, la répartition lymphocytaire CD4⁺ est majoritairement de type TCM et TEM tandis que les LT CD8⁺ sont majoritairement de type TEM et TD. Les TSCM représentent 1,1 à 1,6 % de l'ensemble des LT, cette proportion est plus élevée pour les LT CD8⁺ TSCM spécifiques de pp65 (2,6 %) (Tableau 5).

Nous avons comparé les stades de différenciation lymphocytaire des LT spécifiques du CMV chez les patients à J0 et chez les témoins. La différenciation lymphocytaire spécifique du CMV est plus avancée chez les patients greffés par rapport aux témoins (Tableau 6 + Figure 20) :

- expansion des LT CD4⁺ TEM spécifiques de pp65 (témoins = 42,7 [Q1-Q3 = 32,7-49,3] ; Réact. CMV = 74,3 [Q1-Q3 = 61,5-78,6] ; No Réact. CMV = 69,6 [Q1-Q3 = 54,8-74,1] – $p = 0,004$),
- expansion des LT CD8⁺ TEM spécifiques d'IE-1 (témoins = 37,3 [Q1-Q3 = 31,3-53,3] ; Réact. CMV = 59,6 [Q1-Q3 = 52,2-85,0] – $p = 0,013$) et LT CD8⁺ TEM spécifiques de pp65 (témoins = 40,8 [Q1-Q3 = 30,9-51,2] ; Réact. CMV = 65,3 [Q1-Q3 = 57,9-77,8] – $p = 0,008$)
- expansion des LT CD4⁺ TSCM spécifiques d'IE-1 dans le groupe Réact. CMV (témoins = 1,3 [Q1-Q3 = 1,0-2,8] ; Réact. CMV = 4,6 [Q1-Q3 = 3,1-5,4] – $p = 0,008$).
- diminution des LT naïfs : CD4⁺ TN spécifiques de pp65 (témoins = 15,3 [Q1-Q3 = 8,6-26,5] ; Réact. CMV = 3,4 [Q1-Q3 = 2,6-5,4] ; No Réact. CMV = 4,0 [Q1-Q3 = 2,2-9,8] – $p = 0,001$), CD4⁺ TN spécifiques d'IE-1 (témoins = 16,7 [Q1-Q3 = 10,5-27,2] ; No Réact. CMV = 5,2 [Q1-Q3 = 2,7-10,7] – $p = 0,02$), CD8⁺ TN spécifiques d'IE-1 (témoins = 19,4 [Q1-Q3 = 13,4-38,1] ; Réact. CMV = 2,6 [Q1-Q3 = 1,1-5,2] ; No Réact. CMV = 7,9 [Q1-Q3

= 0,9-18,8] – $p = 0,003$) et CD8⁺ TN spécifiques de pp65 (témoins = 23,6 [Q1-Q3 = 14,5-39,3] ; Réact. CMV = 1,9 [Q1-Q3 = 1,3-4,6] – $p = 0,001$)

- diminution des LT CD4⁺ TCM spécifiques de pp65 (témoins = 33,3 [Q1-Q3 = 23,0-41,1] ; Réact. CMV = 19,5 [Q1-Q3 = 9,9-26,7] ; No Réact. CMV = 19,0 [Q1-Q3 = 15,9-26,2] – $p = 0,042$).

Evolution des réponses cytokiniques des LT spécifiques du CMV après transplantation

Nous avons comparé la cinétique des réponses cytokiniques des LT spécifiques du CMV dans les groupes Réact. et No Réact. CMV de J0 à 6 mois. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre ces 2 groupes. Cependant, on remarque une réponse lymphocytaire spécifique du CMV supérieure chez les patients du groupe No Réact. CMV à J0 et M6. (Figure 21)

Dans le groupe D⁺/R⁻ (données non montrées), les réponses lymphocytaires CD4⁺ et CD8⁺ après stimulation étaient négatives à J0 et S6. Au 3^{ème} mois, on observe une réponse après stimulation chez 1 patient (réponse des LT totaux spécifiques d'IE-1 de 5,5 % et de 8,3 % spécifiques de pp65). Les LT étaient majoritairement de type TEM, TD, monofonctionnels. Ce patient a fait une primo-infection CMV transmise par le greffon au 4^{ème} mois post-transplantation, à l'arrêt de la prophylaxie. La réponse au 6^{ème} mois chez ce patient était de 12,9 % après stimulation par pp65. Les réponses lymphocytaires du 2^{ème} patient (réactivation virale au 8^{ème} mois post-transplantation) sont négatives tout au long de l'étude.

Dans le groupe D⁻/R⁻, les réponses lymphocytaires CD4⁺ et CD8⁺ après stimulation par IE-1 et pp65 étaient négatives à J0, au 3^{ème} et 6^{ème} mois. On retrouvait une réponse cytokinique lymphocytaire après stimulation par les peptides du CMV à la 6^{ème} semaine post-greffe en l'absence de manifestation clinico-biologique de primo-infection CMV (réponse des LT totaux à J0 : 0,8 - 1 % inchangé par rapport au contrôle négatif ; S6 : 1,2 – 1,5 % contre 0,7 % pour le contrôle négatif ; M6 : 0,7 - 0,8 % inchangé par rapport au contrôle négatif) avec réponse lymphocytaire CD8⁺ monofonctionnelle sécrétrice d'IL2 à plus de 97 % (données non montrées).

Comparaison des répartitions des différents stades de différenciation lymphocytaire des LT spécifiques du CMV après transplantation de S6 à M6

A 3 mois de greffe, les LT CD8⁺ TEM spécifiques d'IE-1 étaient significativement plus représentés dans le groupe Réact. CMV (groupe Réact. CMV = 67,5 [Q1-Q3 = 59,3-84,5] ; groupe No Réact. CMV = 43,5 [Q1-Q3 = 31,2-64,2] – $p = 0,003$). (Tableau 7, Figure 22)

A 6 mois de greffe, les LT CD8⁺ TN spécifiques de pp65 étaient significativement plus représentés dans le groupe No Réact. CMV (No Réact. CMV = 3,9 [Q1-Q3 = 1,0-9,3] ; groupe Réact. CMV = 0,2 [Q1-Q3 = 0,2-0,9] – $p = 0,048$). Même si le seuil de significativité n'a pas été atteint, au 6^{ème} mois, les LT CD8⁺ TCM spécifiques de pp65 étaient plus représentés dans le groupe No Réact. CMV ($p = 0,065$) tandis que les LT CD8⁺ TEM spécifiques de pp65 étaient plus représentés dans le groupe Réact. CMV ($p = 0,073$). (Tableau 7, Figure 22)

Polyfonctionnalité lymphocytaire

A J0, on retrouve une polyfonctionnalité lymphocytaire (en termes de LT bi ou trifonctionnels) plus représentée chez les patients par rapport aux témoins (Figure 23) :

- les LT CD4⁺ sont majoritairement monofonctionnels chez les témoins (spécifiques d'IE-1 : témoins = 92,8 [Q1-Q3 = 84,2-96,8] ; No Réact. CMV = 85,3 [Q1-Q3 = 41,6-90,8] ; Réact. CMV = 77,4 [Q1-Q3 = 70,9-86,1] – $p = 0,019$ et spécifiques de pp65 : témoins = 84,9 [Q1-Q3 = 79,2-94,0] ; No Réact. CMV = 59,5 [Q1-Q3 = 20,6-79,4] ; Réact. CMV = 32,7 [Q1-Q3 = 15,1-61,5] – $p = 0,001$).
- les LT CD8⁺ sont majoritairement monofonctionnels chez les témoins (spécifiques d'IE : témoins = 96,1 [Q1-Q3 = 83,6-99,3] ; Réact. CMV = 80,6 [Q1-Q3 = 22,1-90,9] – $p = 0,029$ et spécifiques de pp65 : témoins = 98,3 [Q1-Q3 = 93,2-99,4] ; No Réact. CMV = 68,6 [Q1-Q3 = 43,8-90,4] ; Réact. CMV = 53,0 [Q1-Q3 = 39,8-61,9] – $p = 0,001$).

- La bi-fonctionnalité lymphocytaire CD4⁺ est plus représentée chez les patients transplantés (spécifiques d'IE-1 : témoins = 5,0 [Q1-Q3 = 2,5-9,6] ; Réact. CMV = 16,4 [Q1-Q3 = 9,2-23,0] – $p = 0,019$ et spécifiques de pp65 : témoins = 9,7 [Q1-Q3 = 4,2-13,1] ; No Réact. CMV = 36,0 [Q1-Q3 = 14,5-64,8] ; Réact. CMV = 66,4 [Q1-Q3 = 31,5-68,9] – $p = 0,001$). Il n'y a pas de différence statistique retrouvée pour la tri-fonctionnalité lymphocytaire.
- La bi-fonctionnalité lymphocytaire CD8⁺ est plus représentée chez les patients transplantés (spécifiques d'IE-1 : témoins = 2,9 [Q1-Q3 = 0,5-14,5] ; No Réact. CMV = 39,7 [Q1-Q3 = 25,8-54,6] ; Réact. CMV = 19,2 [Q1-Q3 = 8,4-77,5] – $p = 0,004$ et spécifiques de pp65 : témoins = 1,5 [Q1-Q3 = 0,5-6,4] ; No Réact. CMV = 31,2 [Q1-Q3 = 9,5-54,9] ; Réact. CMV = 47,0 [Q1-Q3 = 35,9-59,8] – $p = 0,001$). Il n'y a pas de différence statistique retrouvée pour la tri-fonctionnalité.

L'évolution de la polyfonctionnalité lymphocytaire chez les patients transplantés de la 6^{ème} semaine au 6^{ème} mois met en évidence (Figure 24) :

- A S6 : une polyfonctionnalité lymphocytaire plus importante des LT CD4⁺ chez les patients n'ayant pas fait de réactivation CMV (spécifiques d'IE-1 1 fonction : Réact. CMV = 95,1 [Q1-Q3 = 85,1-96,9] ; No Réact. CMV = 66,3 [Q1-Q3 = 57,6-86,6] – $p = 0,039$; spécifiques d'IE-1 2 fonctions : No Réact. CMV = 17,2 [Q1-Q3 = 11,4-39,0] ; Réact. CMV = 4,3 [Q1-Q3 = 3,1-12,8] – $p = 0,029$; spécifiques d'IE-1 3 fonctions : No Réact. CMV = 2,4 [Q1-Q3 = 0,9-8,2] ; Réact. CMV = 0,1 [Q1-Q3 = 0,0-1,5] – $p = 0,05$ et spécifiques de pp65 3 fonctions : No Réact. CMV = 3,9 [Q1-Q3 = 3,3-11,0] ; Réact. CMV = 0,3 [Q1-Q3 = 0,1-1,5] – $p = 0,014$).
- A M3 et M6 : une tri-fonctionnalité des LT CD8⁺ plus importante chez les patients n'ayant pas fait de réactivation CMV (spécifiques d'IE-1 3 fonctions M3 : No Réact. CMV = 0,8 [Q1-Q3 = 0,3-1,6] ; Réact. CMV = 0,1 [Q1-Q3 = 0,0-0,2] – $p = 0,008$; spécifiques d'IE-1 3 fonctions M6 : No Réact. CMV = 0,3 [Q1-Q3 = 0,1-0,5] ; Réact. CMV = 0,1 [Q1-Q3 = 0,0-

0,1] – $p = 0,048$ et spécifiques de pp65 3 fonctions M6 : No Réact. CMV = 0,3 [Q1-Q3 = 0,1-0,7] ; Réact. CMV = 0,0 [Q1-Q3 = 0,0-0,0] – $p = 0,048$.

L'index de polyfonctionnalité lymphocytaire était plus élevé chez les patients transplantés à J0 par rapport aux témoins (LT CD4⁺ spécifiques d'IE-1 témoins / No Réact. CMV / Réact. CMV – $p = 0,022$; LT CD8⁺ spécifiques d'IE-1 témoins / No Réact. CMV – $p = 0,006$; LT CD4⁺ spécifiques de pp65 témoins / Réact. CMV – $p = 0,005$; LT CD8⁺ spécifiques de pp65 témoins / No Réact. CMV / Réact. CMV – $p = 0,001$). A la 6^{ème} semaine, on retrouvait un index de polyfonctionnalité lymphocytaire T CD4⁺ spécifique d'IE-1 plus élevé dans le groupe sans réactivation virale par rapport au groupe avec réactivation ($p = 0,022$). Il n'y avait pas d'autres différences statistiques entre les patients avec ou sans réactivations virales (Figure 25).

DISCUSSION

Devant l'impact important du CMV en transplantation rénale, notre travail avait pour but de rechercher un lien entre la réponse immunitaire cellulaire spécifique du CMV et les réactivations/primo-infections à CMV en post-transplantation. Cette réponse peut potentiellement fournir un outil permettant de guider l'utilisation des stratégies thérapeutiques préemptives ou prophylactiques. Nous avons spécifiquement étudié la différenciation ainsi que la polyfonctionnalité lymphocytaire par analyse en cytométrie en flux multiparamétrique.

Nous avons pu mettre en évidence que la réponse lymphocytaire CD8⁺ spécifique d'IE-1 des patients transplantés séropositifs pour le CMV à J0 était plus faible par rapport aux témoins. Chez les témoins, la répartition lymphocytaire CD4⁺ spécifiques du CMV est majoritairement de type TCM et TEM tandis que les LT CD8⁺ spécifiques du CMV étaient majoritairement de type TEM et TD. Ces différences concernant la différenciation lymphocytaire peuvent s'expliquer par la fonction

lymphocytaire (LT CD4⁺ avec fonction « helper » et d'initiation de la réponse immune et LT CD8⁺ avec fonction effectrice cytotoxique).

La différenciation lymphocytaire spécifique du CMV était plus avancée chez les patients par rapport aux témoins (expansion des LT CD4⁺ et CD8⁺ TEM et diminution des CD4⁺ et CD8⁺ TN et des CD4⁺ TCM). Cette différenciation terminale plus avancée que celle liée à l'immunosénescence est en accord avec les données récentes de la littérature.(35) L'insuffisance rénale chronique est responsable d'une altération complexe du fonctionnement du système immunitaire, associant un état pro-inflammatoire et l'établissement d'un déficit immunitaire acquis. Malgré un nombre total de lymphocytes similaire chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique par rapport à un groupe témoin, une lymphopénie sélective portant sur les lymphocytes B, les LT CD4⁺ et CD8⁺ naïfs et les TCM CD4⁺ a été mise en évidence. Il s'y associe une expansion des TEM CD8⁺ avec une polarisation lymphocytaire T majoritairement de type Th1 (36). Betjes *et al.* (35) ont mis en évidence un vieillissement prématuré du contingent cellulaire T. Des patients âgés de 25 à 45 ans atteints d'insuffisance rénale chronique avaient une distribution relative des LT naïfs et mémoires similaire à celle d'un groupe de sujets sains de 60 à 80 ans, évoquant une différenciation terminale plus avancée que dans la population du même âge. Un déclin prématuré des fonctions immunitaires assurées par le thymus était également mis en évidence avec une diminution de la longueur des télomères des LT. La polyfonctionnalité lymphocytaire est influencée par les infections virales chroniques mais ne semble pas affectée par l'immunosénescence.(37) L'expansion des TSCM dans le groupe de patients séropositifs pour le CMV avec réactivation virale par rapport aux témoins pourrait traduire un nombre de réactivations virales infra-cliniques plus important avec expansion réactionnelle des progéniteurs mémoires T spécifiques du CMV chez ces patients.

L'évolution de la différenciation lymphocytaire entre les groupes Réact. et No Réact. CMV présentait des disparités, montrant ainsi la relation entre charge virale et différenciation lymphocytaire déjà décrite dans la littérature.(19) Si à J0 il n'y avait pas de différence entre ces 2 groupes. Dans le groupe Réact. CMV, nous avons retrouvé à M3 une expansion des LT CD8⁺ TEM

spécifiques d'IE-1 et une tendance à l'expansion des LT CD8⁺ TEM spécifiques de pp65. L'interprétation de ces données pourrait s'expliquer par une exposition prolongée du système immunitaire au virus entraînant l'émergence dans le groupe Réact. CMV, d'une population effectrice prédominante afin de contrôler l'infection. On peut également suspecter que le contrôle moins efficace de la charge virale soit lié à l'expansion de ces LT plus différenciés.

De même, l'expansion dans le groupe de patients No Réact. CMV des LT CD8⁺ TN spécifiques de pp65 à M6 soulève deux hypothèses : des capacités de reconstitution lymphocytaire plus importante dans ce groupe permettant un meilleur contrôle de l'infection virale ou, inversement, un niveau inférieur d'exposition antigénique du système immunitaire entraînant l'accumulation d'une population lymphocytaire moins différenciée.

La polarisation de la réponse lymphocytaire anti-CMV est de type T_H1 avec la production majoritaire de cytokines pro-inflammatoires (dont IL2, IFN- γ et TNF α). Cette polarisation permet l'activation des cellules de l'immunité innée et stimule la production d'anticorps aboutissant à l'opsonisation, la phagocytose des virions extracellulaires et la lyse des cellules infectées.(4,21)

La polyfonctionnalité lymphocytaire (en termes de LT bi ou tri-fonctionnels) et l'index de polyfonctionnalité lymphocytaire (défini comme l'ensemble des capacités de sécrétions mono, bi ou tri-fonctionnelles des LT spécifiques du CMV d'un patient) sont plus représentés chez les patients greffés par rapport aux témoins. Le taux de LT naïfs spécifiques du CMV étant plus représenté chez les témoins par rapport aux patients avec une sécrétion majoritairement monofonctionnelle d'IL2, cette donnée pourrait expliquer la diminution significative de la mono-fonctionnalité lymphocytaire chez les patients transplantés où nous avons mis en évidence une diminution du taux des LT naïfs. L'augmentation des capacités de sécrétions cytokiniques bi ou trifonctionnels chez les patients transplantés pourrait s'expliquer par des réactivations infra-cliniques asymptomatiques plus fréquentes chez les patients insuffisants rénaux responsables d'une stimulation antigénique répétée du système immunitaire. Cette stimulation antigénique répétée a également été impliquée dans l'expansion de cellules hautement différenciées tel que des LT CD4⁺CD28⁻ cytotoxiques.(38)

Chez les patients n'ayant pas fait de réactivation CMV, on observait à la 6^{ème} semaine post-transplantation, une polyfonctionnalité lymphocytaire plus importante des LT CD4⁺ spécifiques du CMV et au 3^{ème} et 6^{ème} mois, une tri-fonctionnalité plus importante des LT CD8⁺ spécifiques du CMV. Ces données pourraient être liées à une différenciation lymphocytaire moins avancée chez les patients ne faisant pas de réactivation virale. L'analyse de la répartition des différentes sous-populations lymphocytaire mémoires en fonction de la mono-, bi- ou tri-fonctionnalité n'était pas contributive dans notre étude du fait d'un manque de puissance (nombre de patients et de lymphocytes répondeurs trop faibles pour analyser les différents sous-groupes).

Notre étude suggère chez les patients transplantés un lien entre la polyfonctionnalité et la différenciation lymphocytaire (une différenciation lymphocytaire moins avancée serait associée à une plus grande polyfonctionnalité lymphocytaire). Ce profil de phénotype lymphocytaire est retrouvé chez les patients n'ayant pas fait de réactivations virales. Cependant, si nous retrouvons une association entre polyfonctionnalité, différenciation lymphocytaire et contrôle de la charge virale, nous ne sommes pas en mesure de savoir si c'est l'impact de l'immunité cellulaire sur la charge virale qui permet le contrôle de la virémie ou si c'est l'inverse.

Nous avons constaté que les patients transplantés séropositifs pour le CMV ne faisant pas de réactivation virale avaient une tendance à présenter une réponse immune spécifique d'IE-1 plus importante par rapport aux patients séropositifs pour le CMV avec réactivation virale (réponse immune anti-pp65 majoritaire). Ceci nous suggère qu'une réponse immune spécifique d'IE-1 est associée à une moindre réactivation virale. Cette donnée a déjà été évoquée dans la littérature.(29)

Dans le groupe D⁻/R⁻, nous avons retrouvé une réponse cytokinique lymphocytaire après stimulation par les peptides du CMV à la 6^{ème} semaine post-greffe sans signes clinico-biologiques de primo-infection à CMV. Ces résultats posent la question d'une « sur-activation » lymphocytaire dans le contexte de greffe récente, d'autant plus devant le fort taux d'utilisation du SAL dans ce groupe (60 % d'utilisation).

En routine clinique, l'évaluation de l'immunité humorale en post-transplantation n'est pas réalisée chez les patients D⁺/R⁻ sous prophylaxie systématique. Ce fait est discutable car il pourrait permettre une évaluation rapide et simple de la constitution d'une réponse immune spécifique du CMV en post-greffe. Cependant, la question de l'efficacité de cette réponse humorale se pose et ne permettrait probablement pas de guider l'utilisation des différentes stratégies thérapeutiques.

Nous n'avons pas mis en évidence d'impact du traitement immunosuppresseur sur l'immunité mémoire spécifique du CMV et le risque de réactivation virale. Ceci ne va pas dans le sens de la littérature qui retrouve un rôle probable du SAL dans les réactivations virales. La libération d'une grande quantité de TNF α et d'autres cytokines pro-inflammatoires induite par le SAL avec activation de l'immunité innée et adaptative pourrait en effet favoriser une réactivation CMV.(10) La majorité des patients étant sous CNI dans notre étude, celle-ci ne permet pas d'évaluer spécifiquement l'impact des CNI sur l'immunité cellulaire spécifique du CMV. Cependant, il a été démontré que les CNI modifient la qualité de la réponse lymphocytaire. Sans impacter la fréquence absolue des lymphocytes CD8⁺, ces molécules réduisent de façon significative la polyfonctionnalité cellulaire T (co-sécrétion d'IFN γ , TNF α et IL2) sans altérer la réponse monofonctionnelle CD8⁺ IFN γ ⁺ ni leur capacité de cytotoxicité.(39) De façon intéressante, Havenith et al. (40) ont observé une augmentation significative des lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ de types effecteurs chez les patients sous inhibiteurs de mTOR, pouvant potentiellement expliquer la diminution du risque de réactivation CMV constaté chez les patients recevant ce traitement.

L'étude de la polyfonctionnalité lymphocytaire dans cette étude est faite par l'analyse de la diversité de sécrétion cytokinique. La polyfonctionnalité peut également être explorée par l'étude des capacités de cytotoxicité cellulaire (exemple : analyse du marqueur CD107a de dégranulation) ou des capacités de prolifération lymphocytaire (exemple : étude de la décroissance de fluorescence de « Carboxy-Fluorescein Succinimidyl Ester » comme marqueur de prolifération). Compte tenu des délais impartis pour la réalisation de notre étude et des contraintes liées au laboratoire, nous avons choisi de ne réaliser qu'une analyse des différentes capacités de sécrétion cytokinique comme

marqueurs d'évaluation de la polyfonctionnalité lymphocytaire. Notre étude de type observationnelle comporte un petit nombre de patients et manque par là-même de puissance. Cependant, elle présente l'avantage d'être prospective et d'évaluer l'immunité cellulaire en pré et post-transplantation avant toute réactivation virale et en l'absence de traitement antiviraux systématique chez les patients séropositifs pour le CMV.

CONCLUSION – PERSPECTIVES

Notre étude suggère un lien entre polyfonctionnalité et différenciation lymphocytaire. Une différenciation lymphocytaire moins avancée serait associée à une plus grande polyfonctionnalité lymphocytaire et pourrait permettre un meilleur contrôle de la charge virale. Cependant, notre étude ne nous permet pas de conclure si le phénotype lymphocytaire T permet un contrôle de la charge virale ou si c'est la virémie qui influe sur l'immunité cellulaire. La poursuite d'une telle étude avec un plus grand nombre de patients et notamment l'analyse de la répartition des différentes sous-populations mémoires en fonction de la mono-, bi- ou tri-fonctionnalité pourrait permettre de répondre à cette question.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Agence de la Biomédecine. Le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France. 2011.
2. Agence de la Biomédecine. Rapport annuel 2012 de l'Agence de la biomédecine. 2012.
3. Agence de la Biomédecine. Rapport Annuel REIN (Réseau Epidémiologie et Information en Néphrologie) 2011. 2012;
4. Abbas A, Lichtman A. Réponse immunitaire de type cellulaire - Activation des lymphocytes T. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Elsevier. p. 81 -102.
5. Thaumat O, Morelon E. Mode d'action des immunosuppresseurs et leurs complications - DIU Rein et Maladies systémiques. 2012.
6. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, Duong-Van-Huyen J-P, Suberbielle C, Anglicheau D, et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. Lancet. janv 2013;381:313-319.
7. Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. N Engl J Med. déc 2007;357:2601-2614.
8. Kotton CN, Fishman JA. Viral infection in the renal transplant recipient. J Am Soc Nephrol. juin 2005;16:1758-1774.
9. San Juan R, Aguado JM, Lumberras C, Díaz-Pedroche C, López-Medrano F, Lizasoain M, et al. Incidence, clinical characteristics and risk factors of late infection in solid organ transplant recipients: data from the RESITRA study group. Am J Transplant. avr 2007;7:964-971.
10. Crough T, Khanna R. Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. Clin Microbiol Rev. janv 2009;22:76-98.
11. Lopo S, Vinagre E, Palminha P, Paixao MT, Nogueira P, Freitas MG. Seroprevalence to cytomegalovirus in the Portuguese population, 2002-2003. Euro Surveill. 2011;16.
12. Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ. Cytomegalovirus seroprevalence in the United States: the national health and nutrition examination surveys, 1988-2004. Clin Infect Dis. juin 2010;50:1439-1447.
13. Helanterä I, Lautenschlager I, Koskinen P. The risk of cytomegalovirus recurrence after kidney transplantation. Transpl Int. déc 2011;24:1170-1178.
14. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Snyderman DR, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. Transplantation. avr 2010;89:779-795.

15. Humar A, Limaye AP, Blumberg EA, Hauser IA, Vincenti F, Jardine AG, et al. Extended valganciclovir prophylaxis in D+/R- kidney transplant recipients is associated with long-term reduction in cytomegalovirus disease: two-year results of the IMPACT study. *Transplantation*. déc 2010;90:1427-1431.
16. Reischig T, Jindra P, Hes O, Svecová M, Klaboch J, Treska V. Valacyclovir prophylaxis versus preemptive valganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease after renal transplantation. *Am J Transplant*. janv 2008;8:69-77.
17. Witzke O, Hauser IA, Bartels M, Wolf G, Wolters H, Nitschke M. Valganciclovir Prophylaxis Versus Preemptive Therapy in Cytomegalovirus-Positive Renal Allograft Recipients: 1-Year Results of a Randomized Clinical Trial. *Transplantation*. janv 2012;93:61-68.
18. Sylwester AW, Mitchell BL, Edgar JB, Taormina C, Pelte C, Ruchti F, et al. Broadly targeted human cytomegalovirus-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells dominate the memory compartments of exposed subjects. *J Exp Med*. sept 2005;202:673-685.
19. Harari A, Dutoit V, Cellerai C, Bart P-A, Du Pasquier RA, Pantaleo G. Functional signatures of protective antiviral T-cell immunity in human virus infections. *Immunol Rev*. juin 2006;211:236-254.
20. Van de Berg PJEJ, van Stijn A, Ten Berge IJM, van Lier RAW. A fingerprint left by cytomegalovirus infection in the human T cell compartment. *J Clin Virol*. mars 2008;41:213-217.
21. Villacres MC, Longmate J, Auge C, Diamond DJ. Predominant type 1 CMV-specific memory T-helper response in humans: evidence for gender differences in cytokine secretion. *Hum Immunol*. mai 2004;65:476-485.
22. Appay V, van Lier RAW, Sallusto F, Roederer M. Phenotype and function of human T lymphocyte subsets: consensus and issues. *Cytom A*. nov 2008;73:975-983.
23. Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM. Expanding roles for CD4⁺ T cells in immunity to viruses. *Nat Rev Immunol*. févr 2012;12:136-148.
24. Lugli E, Dominguez MH, Gattinoni L, Chattopadhyay PK, Bolton DL, Song K, et al. Superior T memory stem cell persistence supports long-lived T cell memory. *J Clin Invest*. févr 2013;123:594-599.
25. Gattinoni L, Lugli E, Ji Y, Pos Z, Paulos CM, Quigley MF, et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. *Nat Med*. oct 2011;17:1290-1297.
26. Pantaleo G, Harari A. Functional signatures in antiviral T-cell immunity for monitoring virus-associated diseases. *Nat Rev Immunol*. mai 2006;6:417-423.
27. Riou C, Treurnicht F, Abrahams M-R, Mlisana K, Liu MKP, Goonetilleke N, et al. Increased memory differentiation is associated with decreased polyfunctionality for HIV but not for cytomegalovirus-specific CD8⁺ T cells. *J Immunol*. oct 2012;189:3838-3847.

28. Gerna G, Lilleri D, Chiesa A, Zelini P, Furione M, Comolli G, et al. Virologic and immunologic monitoring of cytomegalovirus to guide preemptive therapy in solid-organ transplantation. *Am J Transplant.* nov 2011;11:2463-2471.
29. Bunde T, Kirchner A, Hoffmeister B, Habedank D, Hetzer R, Cherepnev G, et al. Protection from cytomegalovirus after transplantation is correlated with immediate early 1-specific CD8 T cells. *J Exp Med.* avr 2005;201:1031-1036.
30. Nickel P, Bold G, Presber F, Biti D, Babel N, Kreutzer S, et al. High levels of CMV-IE-1-specific memory T cells are associated with less alloimmunity and improved renal allograft function. *Transpl Immunol.* mars 2009;20:238-242.
31. Nebbia G, Mattes FM, Smith C, Hainsworth E, Kopycinski J, Burroughs A, et al. Polyfunctional cytomegalovirus-specific CD4+ and pp65 CD8+ T cells protect against high-level replication after liver transplantation. *Am J Transplant.* déc 2008;8:2590-2599.
32. Ladriere M, Foucher Y, Legendre C, Kamar N, Garrigue V, Morelon E, et al. The Western Europe Cohort of Kidney Transplanted Recipients- The DIVAT Network.
33. Larsen M, Sauce D, Arnaud L, Fastenackels S, Appay V, Gorochoy G. Evaluating cellular polyfunctionality with a novel polyfunctionality index. *PloS One.* 2012;7:e42403.
34. Béné MC, Kolopp Sarda MN, El Kaissouni J, De March Kennel A, Molé C, Kohler C, et al. Automated cell count in flow cytometry: a valuable tool to assess CD4 absolute levels in peripheral blood. *Am J Clin Pathol.* sept 1998;110:321-326.
35. Betjes MGH, Langerak AW, van der Spek A, de Wit EA, Litjens NHR. Premature aging of circulating T cells in patients with end-stage renal disease. *Kidney Int.* juill 2011;80:208-217.
36. Litjens NHR, van Druningen CJ, Betjes MGH. Progressive loss of renal function is associated with activation and depletion of naive T lymphocytes. *Clin Immunol.* janv 2006;118:83-91.
37. Lelic A, Verschoor CP, Ventresca M, Parsons R, Eveleigh C, Bowdish D, et al. The polyfunctionality of human memory CD8+ T cells elicited by acute and chronic virus infections is not influenced by age. *PLoS Pathog.* 2012;8:e1003076.
38. Betjes MGH, Huisman M, Weimar W, Litjens NHR. Expansion of cytolytic CD4+CD28- T cells in end-stage renal disease. *Kidney Int.* sept 2008;74:760-767.
39. Fuhrmann S, Lachmann R, Streitz M, Hetzer R, Volk H-D, Lehmkuhl H, et al. Cyclosporin A and tacrolimus reduce T-cell polyfunctionality but not interferon- γ responses directed at cytomegalovirus. *Immunology.* août 2012;136:408-413.
40. Havenith SHC, Yong SL, van Donselaar-van der Pant KAMI, van Lier RAW, ten Berge IJM, Bemelman FJ. Everolimus-treated renal transplant recipients have a more robust CMV-specific CD8+ T-cell response compared with cyclosporine- or mycophenolate-treated patients. *Transplantation.* 15 janv 2013;95(1):184-191.

TABLE DES TABLEAUX et FIGURES – ANNEXES

Figure 1 : Activité de transplantation d'organes en France en 2012	66
Figure 2 : Prévalence de la dialyse et de la transplantation en France en 2011.....	66
Figure 3 : Néphropathies initiales des patients transplantés	67
Figure 4 : Mécanisme de l'activation lymphocytaire T	67
Figure 5 : Calendrier des infections chez le patient transplanté	68
Figure 6 : Virus de la famille des Herpèsviridae infectant l'espèce humaine.....	69
Figure 7 : Structure du virion du CMV humain.....	69
Figure 8 : Représentation schématique des antigènes viraux reconnus par la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T CD4 ⁺ et CD8 ⁺	70
Figure 9 : Cycle de réplication intracellulaire du CMV humain.....	70
Figure 10 : Infection à CMV chez le patient transplanté	71
Figure 11 : Relation entre phénotype, fonction et différenciation lymphocytaire des lymphocytes CD4 ⁺ et CD8 ⁺ spécifiques d'antigènes	72
Figure 12 : Reconstitution de l'immunité mémoire T spécifique d'antigène	72
Figure 13 : Signature fonctionnelle lymphocytaire T en fonction	73
de la "pression antigénique virale"	73
Figure 14 : Polyfonctionnalité lymphocytaire et charge virale.....	74
Figure 15 : Impact de la charge virale sur la polyfonctionnalité et la différenciation lymphocytaire (exemple du HIV et du CMV)	74
Figure 16 : Schéma de l'étude.....	75
Figure 17 : Diagramme de flux de l'étude	76
Figure 18 : Stratégie d'analyse des sous-populations lymphocytaire en cytométrie en flux. Etude de la différenciation et de la sécrétion lymphocytaire	77
Figure 19 : Taux de lymphocytes CD4 ⁺ et CD8 ⁺ spécifiques d'IE-1 et de pp65 à J0	78

Figure 20 : Répartition des différents stades de maturation lymphocytaire à J0 des LT CD4 ⁺ et CD8 ⁺ spécifiques d'IE-1 et de pp65 entre les patients transplantés rénaux et les témoins.....	79
Figure 21 : Cinétique de réponse des lymphocytes T CD4 ⁺ et CD8 ⁺ spécifique de CMV	80
Figure 22 : Répartition des différents stades de maturation lymphocytaire des LT CD4 ⁺ (A) et CD8 ⁺ (B) de la 6 ^{ème} semaine au 6 ^{ème} mois post-transplantation	81
Figure 22 (suite) : Répartition des différents stades de maturation lymphocytaire des LT CD4 ⁺ (A) et CD8 ⁺ (B) de la 6 ^{ème} semaine au 6 ^{ème} mois post-transplantation	Erreur ! Signet non défini.
Figure 23 : Polyfonctionnalité lymphocytaire en IE-1 et pp65.....	83
chez les patients transplantés et les témoins à J0	83
Figure 24 : Polyfonctionnalité lymphocytaire en IE-1 et pp65.....	84
chez les patients transplantés de la 6 ^{ème} semaine au 6 ^{ème} mois	84
Figure 25 : Index de polyfonctionnalité lymphocytaire des LT CD4 ⁺ et CD8 ⁺	85
A : LT CD4 ⁺ et CD8 ⁺ spécifiques d'IE-1 ; B : LT CD4 ⁺ et CD8 ⁺ spécifiques de pp65	
Tableau 1 : Signes cliniques d'infections à CMV.....	86
Tableau 2 : Caractéristiques de la population le jour de l'appel de greffe.....	87
Tableau 3 : Evolution générale des patients en post-transplantation rénale	88
Tableau 4 : Comparaison de l'évolution en post-greffe.....	89
selon la survenue ou non d'une infection à CMV.....	89
Tableau 5 : Polyfonctionnalité et Répartition lymphocytaire des témoins CMV positifs	90
Tableau 6 : Maturation lymphocytaire des LT CD4 ⁺ et CD8 ⁺ spécifiques d'IE-1 et de pp65 plus avancée chez les patients transplantés rénaux à J0 par rapport aux témoins	91
Tableau 7 : Maturation lymphocytaire des LT CD4 ⁺ et CD8 ⁺ plus avancée chez les patients transplantés rénaux avec réactivation virale au 6 ^{ème} mois post-transplantation.....	92
Annexe 1 : Suivi standardisé des patients transplantés.....	93
au cours de la première année de transplantation	93

LA GREFFE D'ORGANES EN 2012

	Malades restant en attente de greffe le 1 ^{er} janvier	Nouveaux malades inscrits en attente dans l'année	Malades greffés (a)	Malades décédés en attente de greffe	Malades sortis de liste d'attente (b)	Malades restant en attente de greffe le 31 décembre	Porteurs d'un greffon fonctionnel le 31 décembre (c)
Cœur	300	530	397	63	45	325	4 208
Poumon	143	335	322	16	16	124	1 410
Cœur-poumons	21	23	20	3	3	18	174
Foie	941	1 721	1 161 (9)	182	215	1 104	10 739
Rein	9 064	4 265	3 044 (357)	211	239	9 835	33 298
Pancréas	146	118	72	5	22	165	800
Intestin	12	8	7	2	1	10	15
Total	10 627	7 000	5 023 (366)	482	541	11 581	50 644

a) Entre parenthèses: le nombre de malades greffés à partir d'un donneur vivant. Il est inclus dans le total des malades greffés indiqué.

b) Hors la greffe ou le décès, les malades sortent de liste d'attente lorsqu'une aggravation de leur maladie ou des complications médicales rendent la greffe incompatible avec leur état ou, dans une moindre mesure, lorsque leur maladie est en amélioration et ne justifie plus le recours à la greffe ou lorsqu'ils en décident pour des raisons personnelles.

c) Nombre estimé.

Figure 1 : Activité de transplantation d'organes en France en 2012

(Rapport annuel 2012 de l'Agence de la biomédecine)

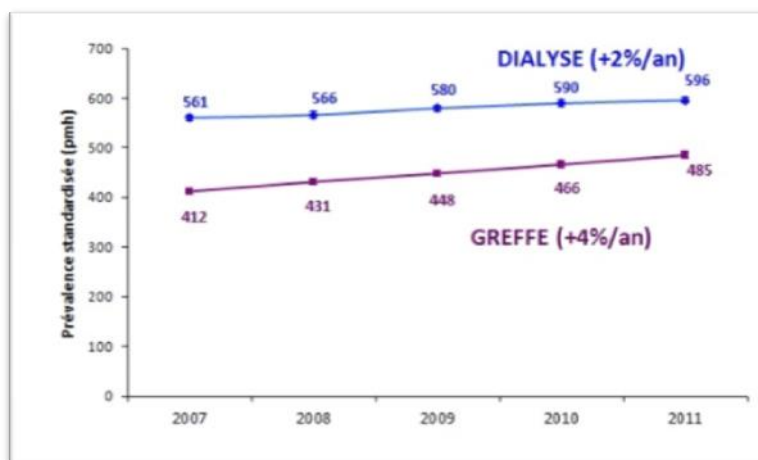


Figure 2 : Prévalence de la dialyse et de la transplantation en France en 2011

(Rapport annuel REIN 2011)

Maladie rénale initiale	n	%	Taux standardisé	Intervalle de confiance à 95% du taux standardisé
Glomérulonéphrite primitive	8 352	26.8	130	[127- 132]
Pyélonéphrite	2 655	8.5	41	[40- 43]
Polykystose	3 961	12.7	61	[60- 63]
Diabète	2 116	6.8	33	[31- 34]
Hypertension	1 594	5.1	25	[24- 26]
Vasculaire	231	0.7	4	[3- 4]
Autre	7 211	23.2	112	[109- 114]
Inconnu	5 019	16.1	78	[76- 80]

Figure 3 : Néphropathies initiales des patients transplantés

(Rapport annuel REIN 2011)

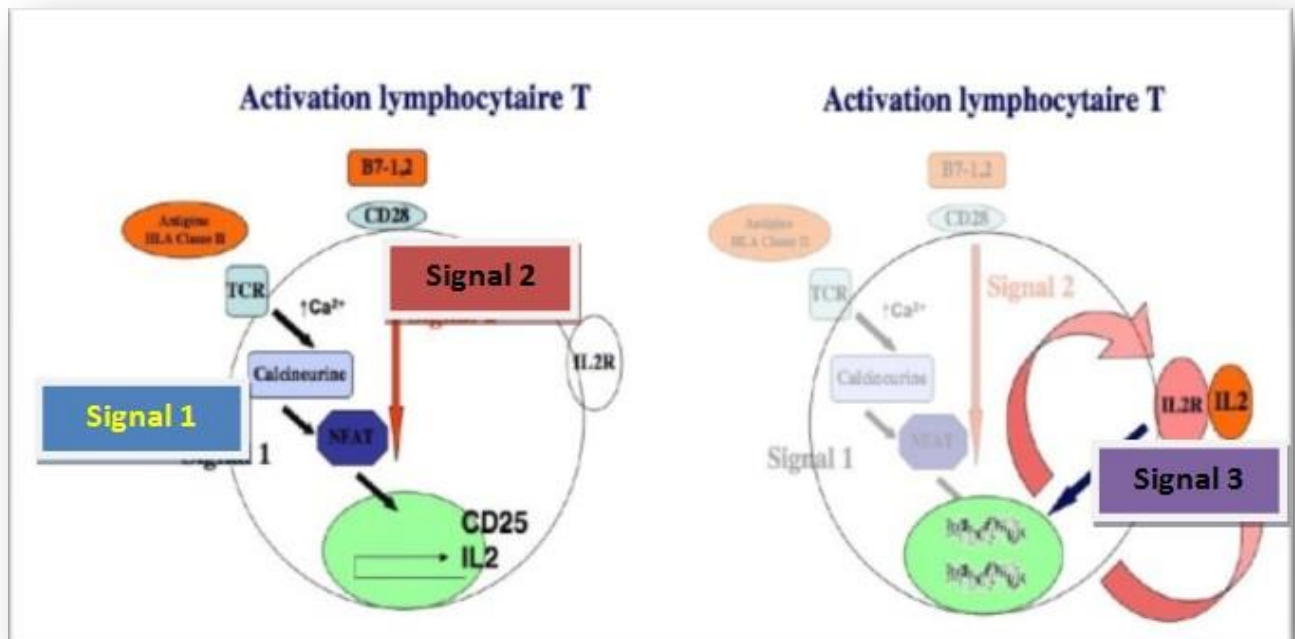


Figure 4 : Mécanisme de l'activation lymphocytaire T

Principe des 3 signaux nécessaires à l'activation

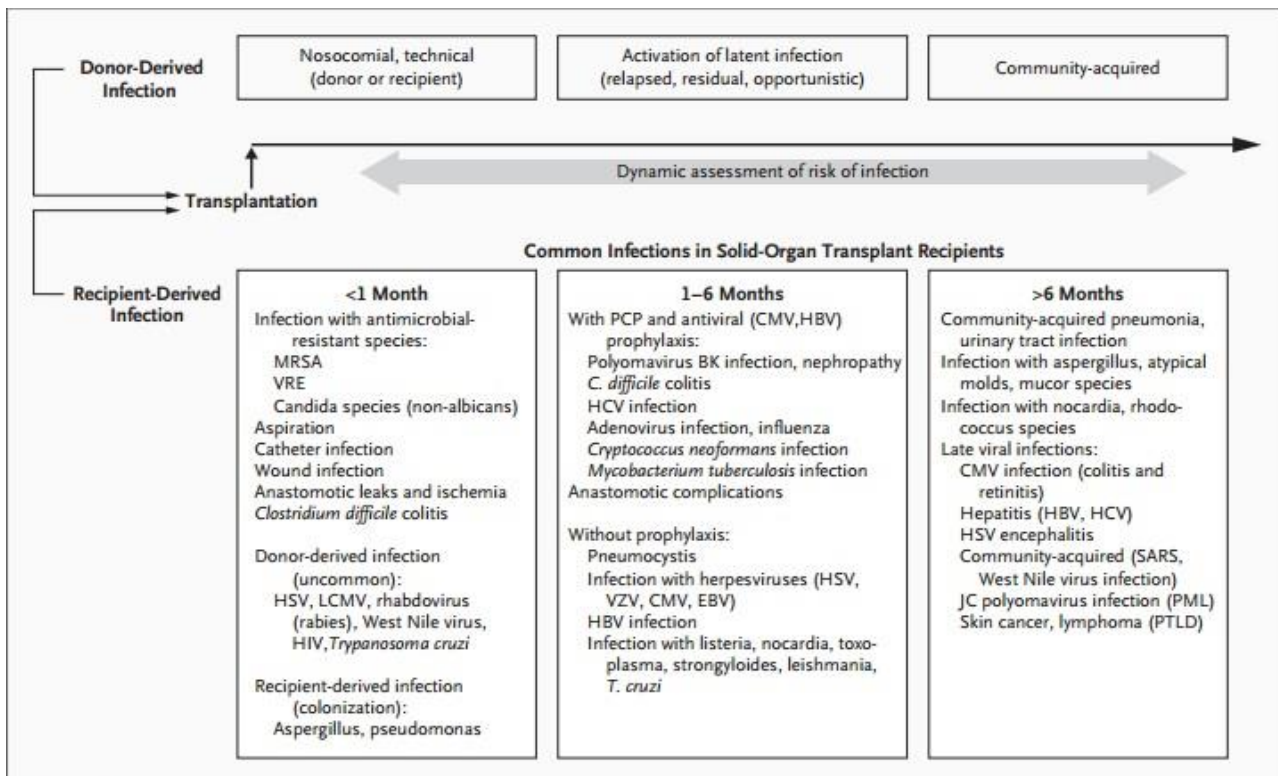


Figure 4. Changing Timeline of Infection after Organ Transplantation.

Infections occur in a generally predictable pattern after solid-organ transplantation. The development of infection is delayed by prophylaxis and accelerated by intensified immunosuppression, drug toxic effects that may cause leukopenia, or immunomodulatory viral infections such as infection with cytomegalovirus (CMV), hepatitis C virus (HCV), or Epstein-Barr virus (EBV). At the time of transplantation, a patient's short-term and long-term risk of infection can be stratified according to donor and recipient screening, the technical outcome of surgery, and the intensity of immunosuppression required to prevent graft rejection. Subsequently, an ongoing assessment of the risk of infection is used to adjust both prophylaxis and immunosuppressive therapy. MRSA denotes methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, VRE vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*, HSV herpes simplex virus, LCMV lymphocytic choriomeningitis virus, HIV human immunodeficiency virus, PCP *Pneumocystis carinii* pneumonia, HBV hepatitis B virus, VZV varicella-zoster virus, SARS severe acute respiratory syndrome, PML progressive multifocal leukoencephalopathy, and PTLD post-transplantation lymphoproliferative disorder. Modified from Fishman and Rubin¹ and Rubin et al.⁴⁵

Figure 5 : Calendrier des infections chez le patient transplanté

(Fishman, 2007. NEJM)

Identification			Génome
Désignation	Nom usuel (abréviation anglo-saxonne)	Sous-famille	Taille (kpb)
HHV-1	Herpès simplex 1 (HSV-1)	α	152
HHV-2	Herpès simplex 2 (HSV-2)	α	152
HHV-3	virus de la varicelle (VZV)	α	125
HHV-4	Virus d'Epstein Barr (EBV)	γ	172
HHV-5	Cytomégalovirus Humain (HCMV)	β	248
HHV-6 A	roseolovirus	β	159
HHV-6-B	roseolovirus	β	162
HHV-7		β	
HHV-8	virus du sarcome de Kaposi (KSHV)	α	230

Figure 6 : Virus de la famille des Herpèsviridae infectant l'espèce humaine

(Pellett and Roizman, 2007)

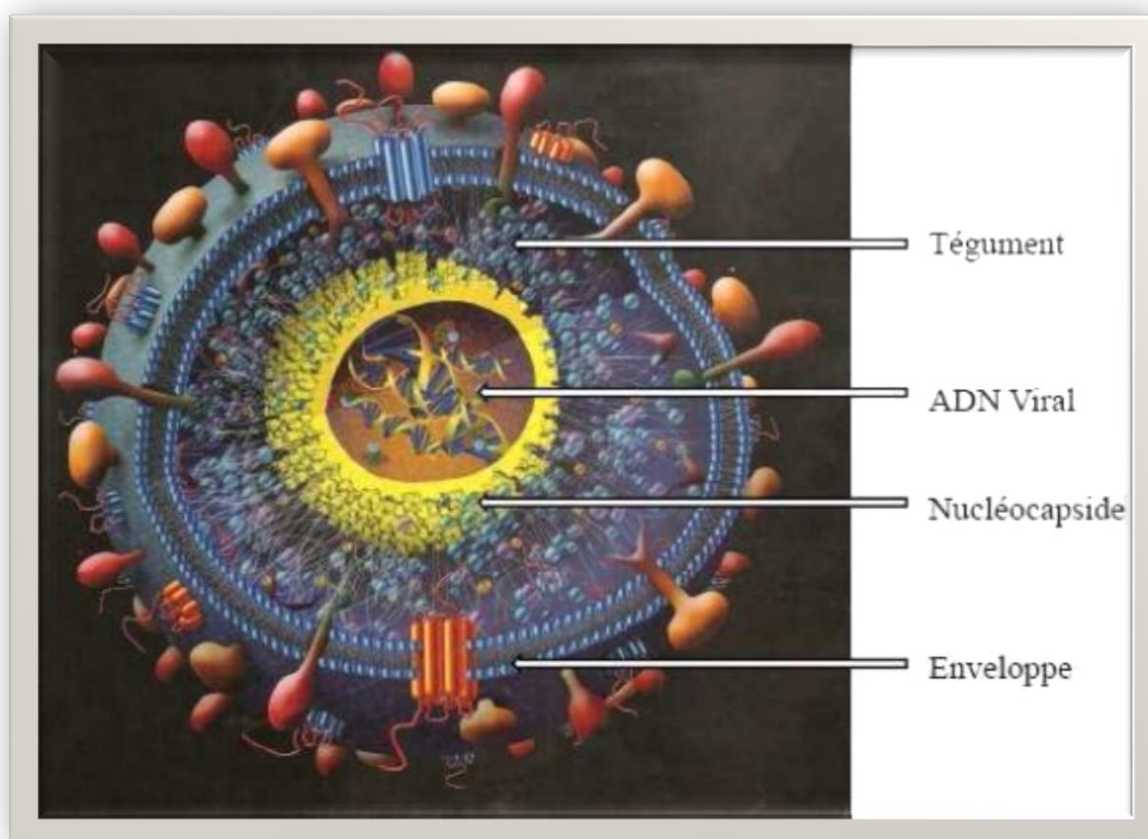


Figure 7 : Structure du virion du CMV humain

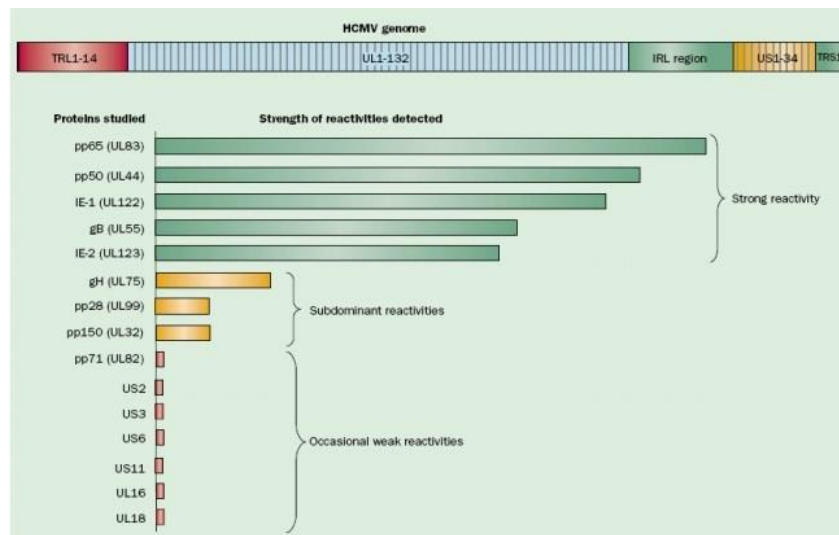


Figure 8 : Représentation schématique des antigènes viraux reconnus par la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T $CD4^+$ et $CD8^+$ (Gandhi and Khanna, 2004)

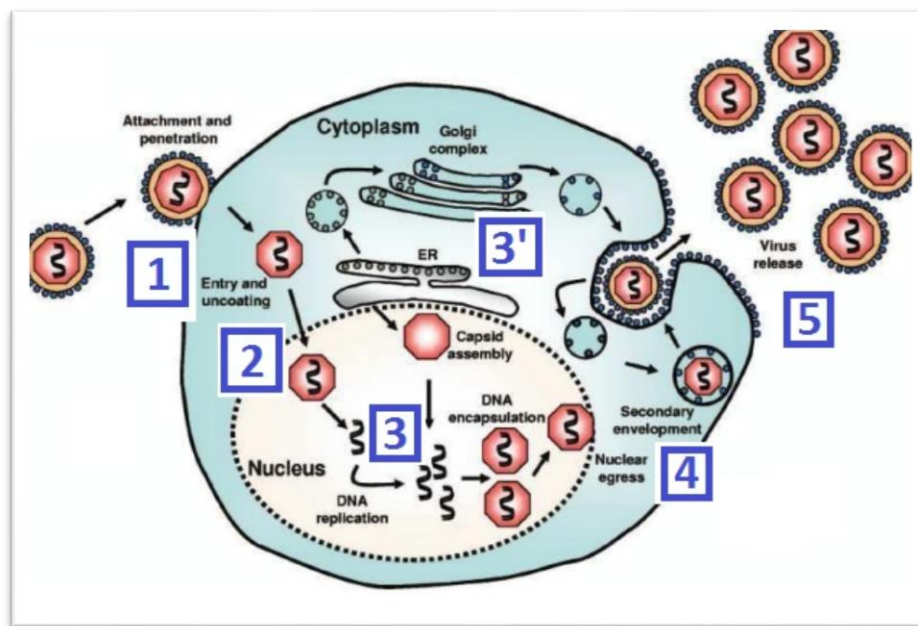


Figure 9 : Cycle de réplication intracellulaire du CMV humain (d'après Crough and Khanna, 2009)

- 1 : Entrée du virion CMV dans la cellule
- 2 : Entrée de la nucléocapside dans le noyau cellulaire
- 3 et 3' : Duplication du génome viral et synthèse des protéines de la nucléocapside
- 4 : Assemblage de la nucléocapside dans le noyau et acquisition des protéines du tégument
- 5 : Excrétion du virion dans le milieu extérieur avec acquisition de la bicouche lipidique

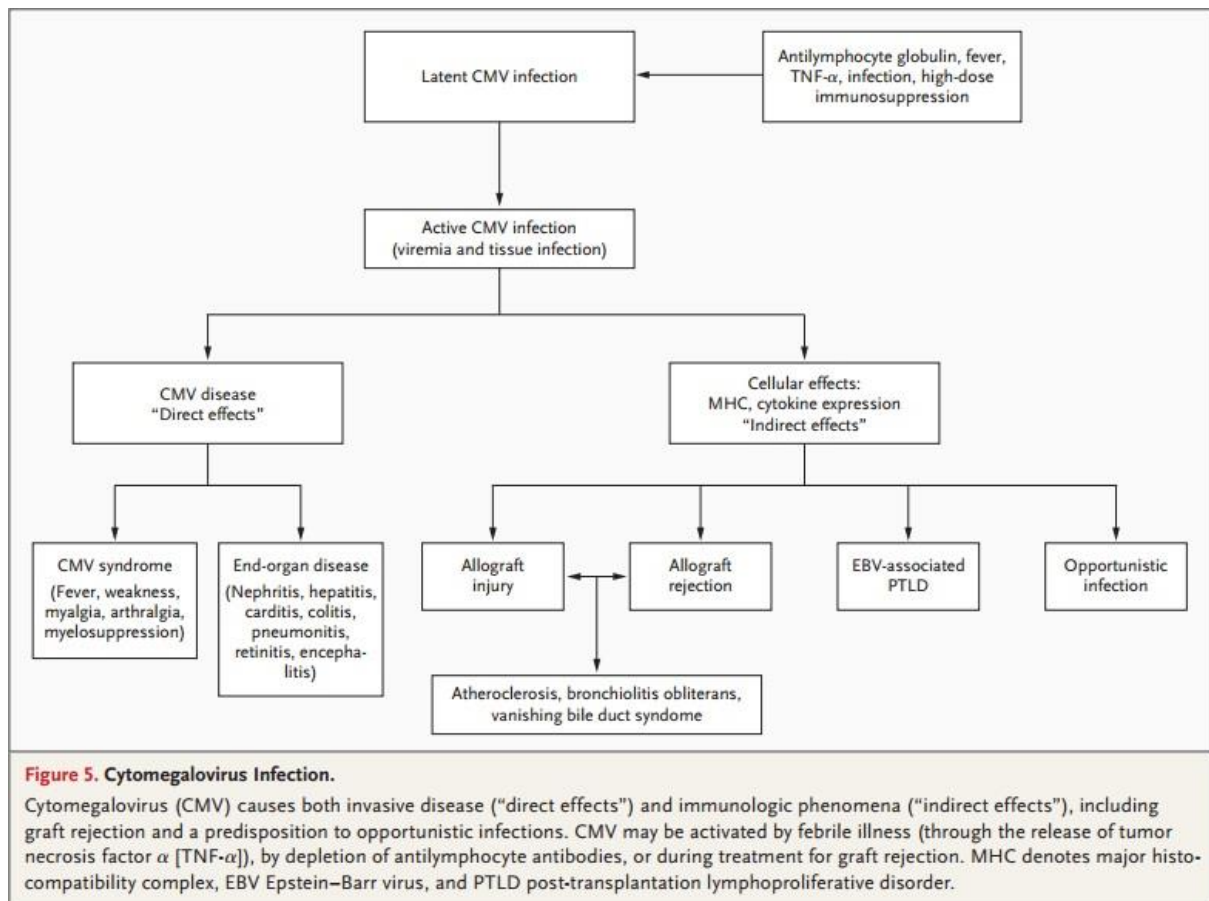


Figure 10 : Infection à CMV chez le patient transplanté

(Fishman, 2007. NEJM)



Figure 11 : Relation entre phénotype, fonction et différenciation lymphocytaire des lymphocytes CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques d'antigènes

(Harari, 2006. Immunol. Rev.)

T_{CM} : Lymphocytes T mémoires centraux ; T_{EM} : Lymphocytes T effecteurs mémoires ; T_{ET} : lymphocytes T effecteurs terminaux ; IFN-γ : Interféron γ ; IL2 : Interleukine 2

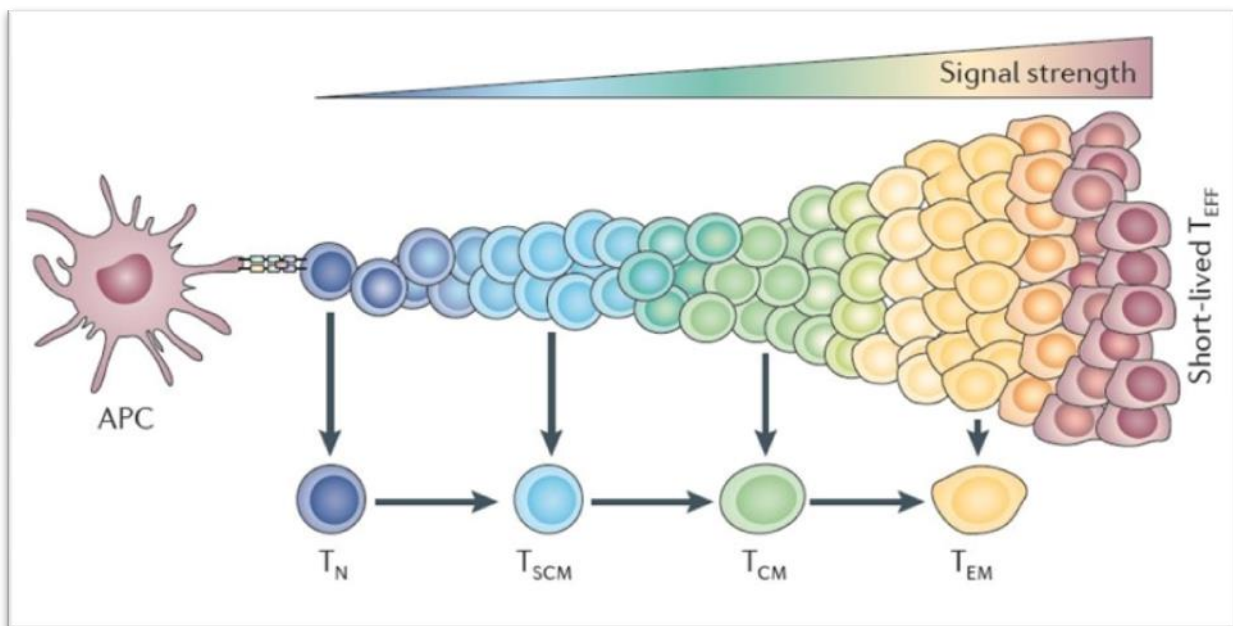


Figure 12 : Reconstitution de l'immunité mémoire T spécifique d'antigène

Gattinoni, 2012. Nat Rev Cancer

T_N : Lymphocytes T Naïfs ; T_{SCM} : Cellules progénitrices mémoires T ; T_{CM} : Lymphocytes T mémoires centraux ; T_{EM} : Lymphocytes T effecteurs mémoires ; Short-lived T_{EFF} : lymphocytes T effecteurs terminaux

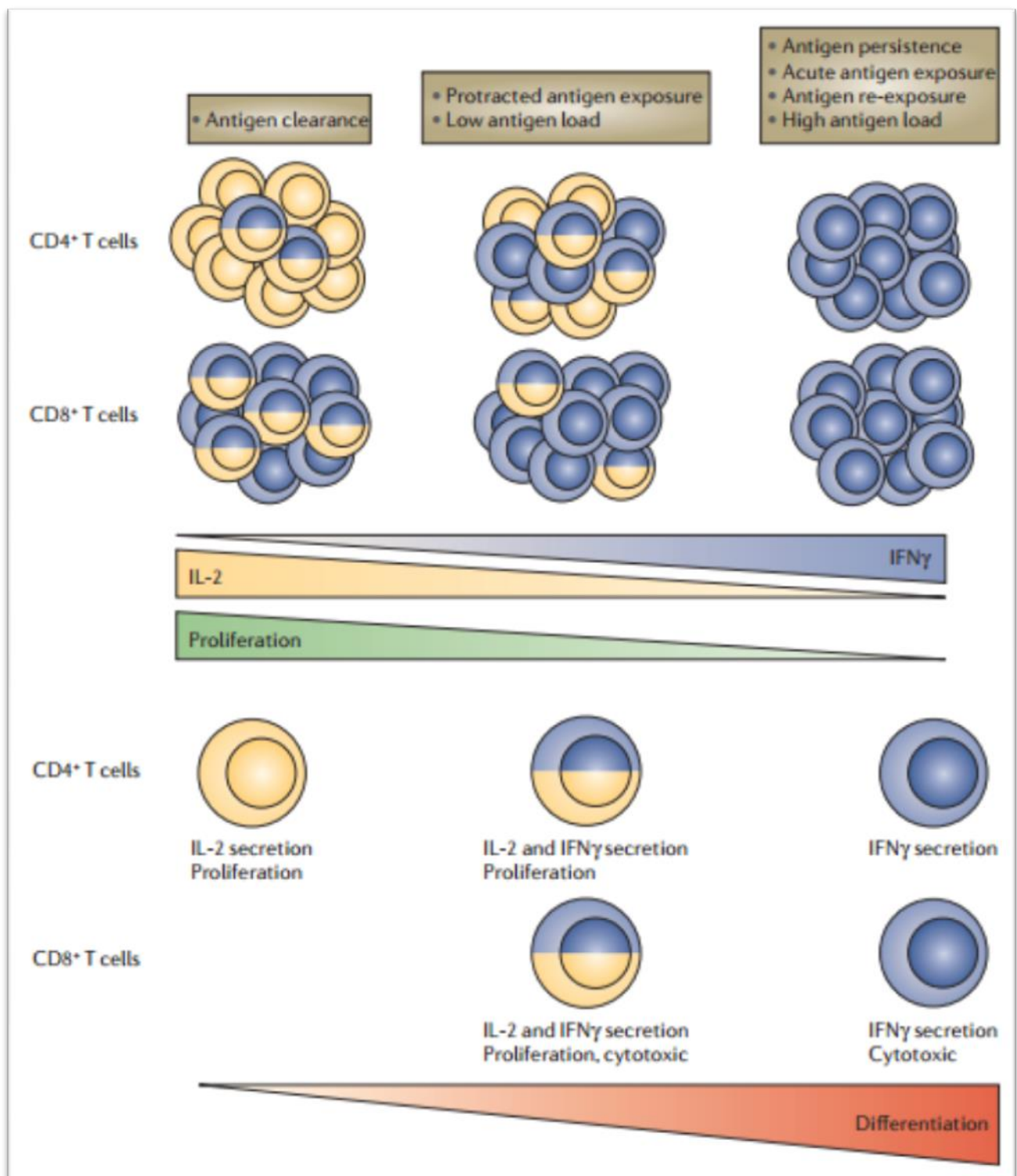


Figure 13 : Signature fonctionnelle lymphocytaire T en fonction
de la "pression antigénique virale"

Pantaleo, 2006. Nat. Rev. Immunol.



Figure 14 : Polyfonctionnalité lymphocytaire et charge virale

Harari, 2006. Immunol. Rev.

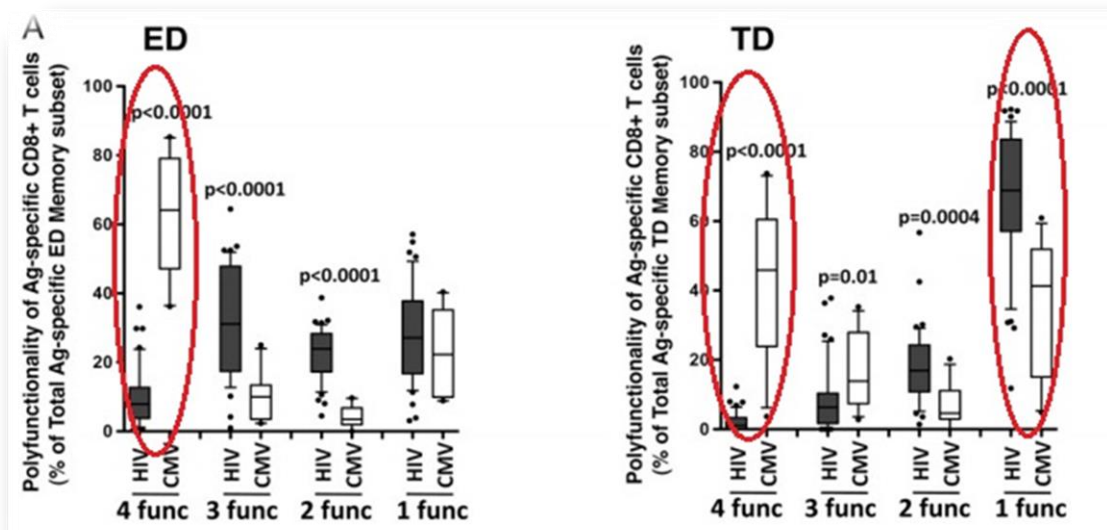


Figure 15 : Impact de la charge virale sur la polyfonctionnalité et la différenciation lymphocytaire (exemple du HIV et du CMV) Riou, 2012. Journal of immunology

ED : Early Differentiated ; TD : Terminally Differentiated ; func : fonctionnalité lymphocytaire ; Ag : antigène

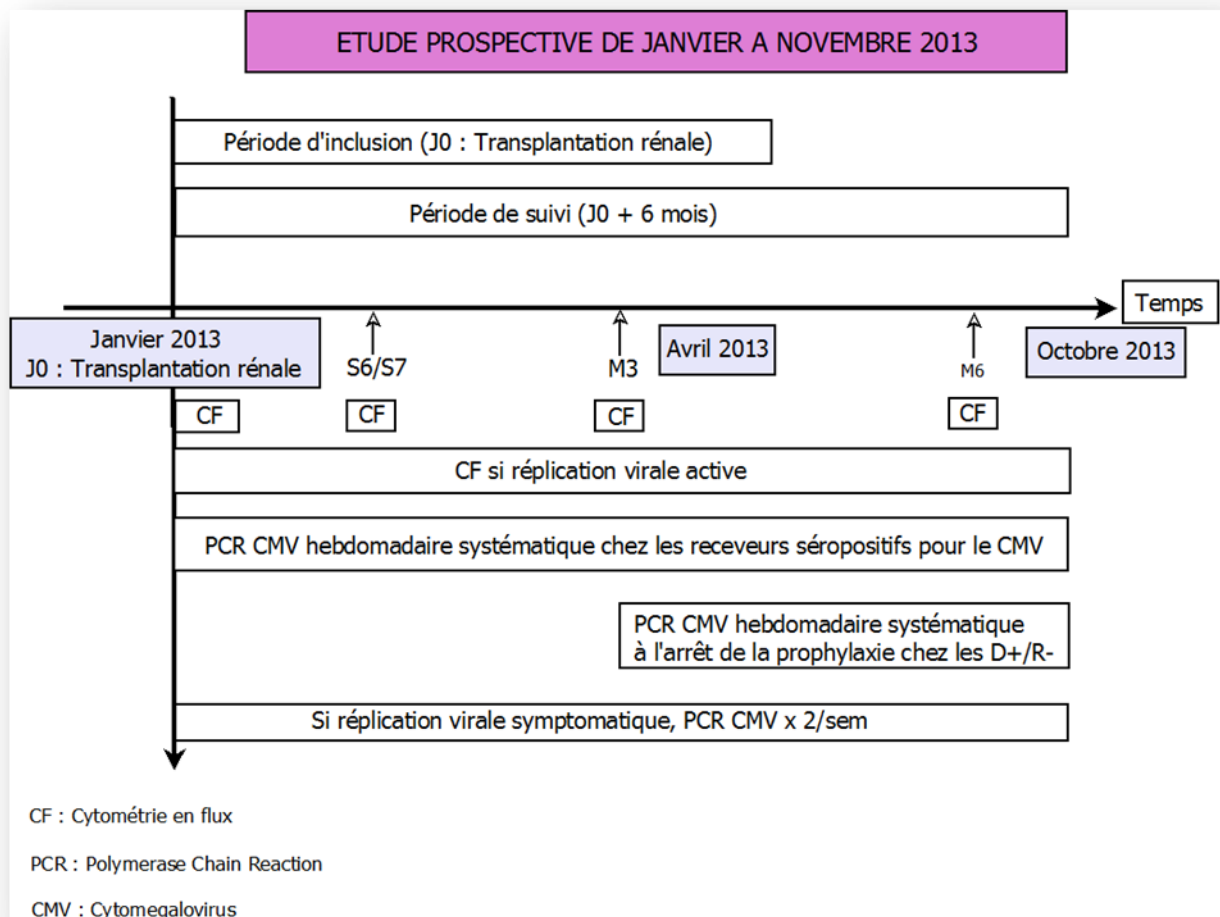


Figure 16 : Schéma de l'étude

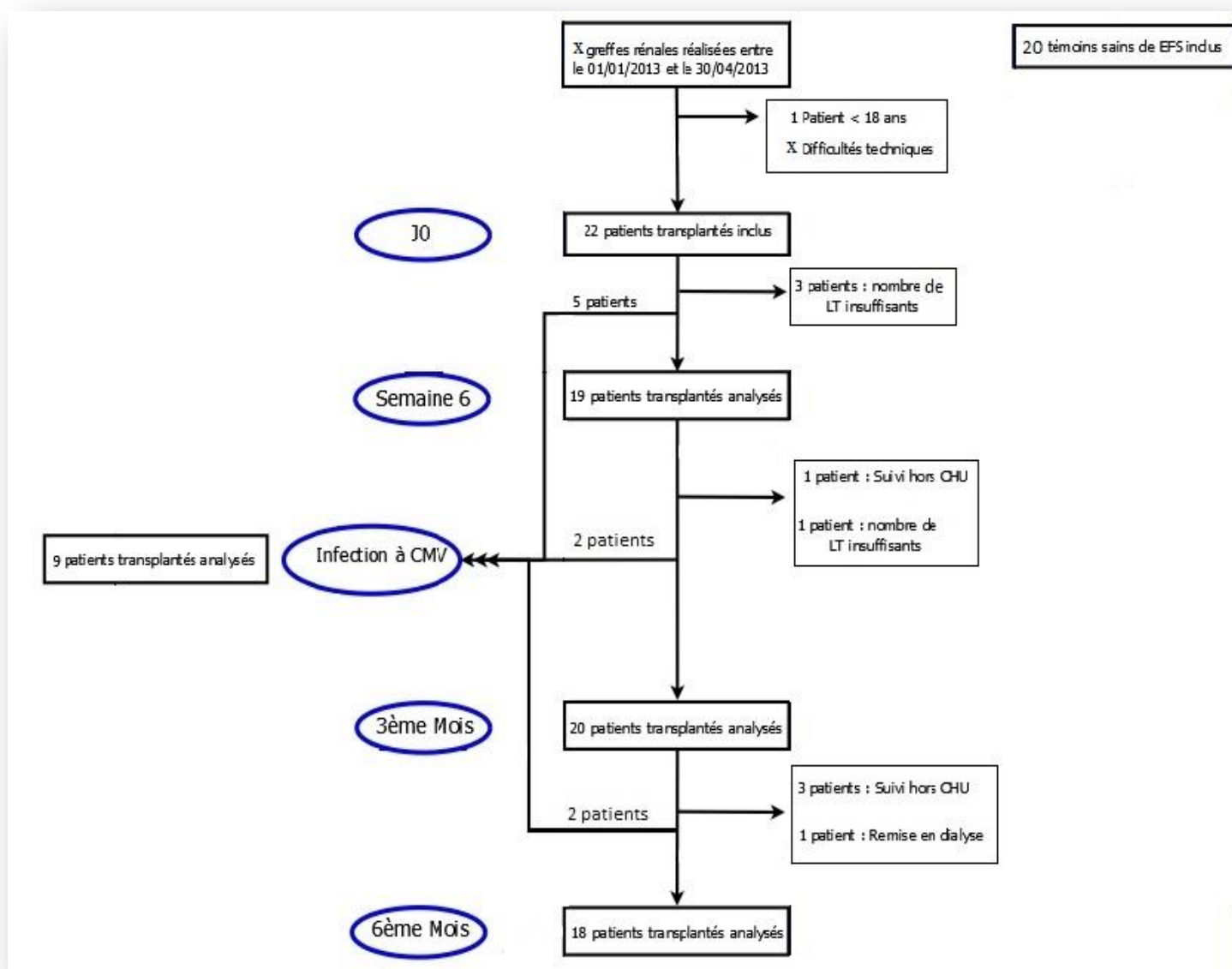


Figure 17 : Diagramme de flux de l'étude

Infection à CMV : 7 réactivations CMV symptomatique et 2 primo-infections CMV par le greffon

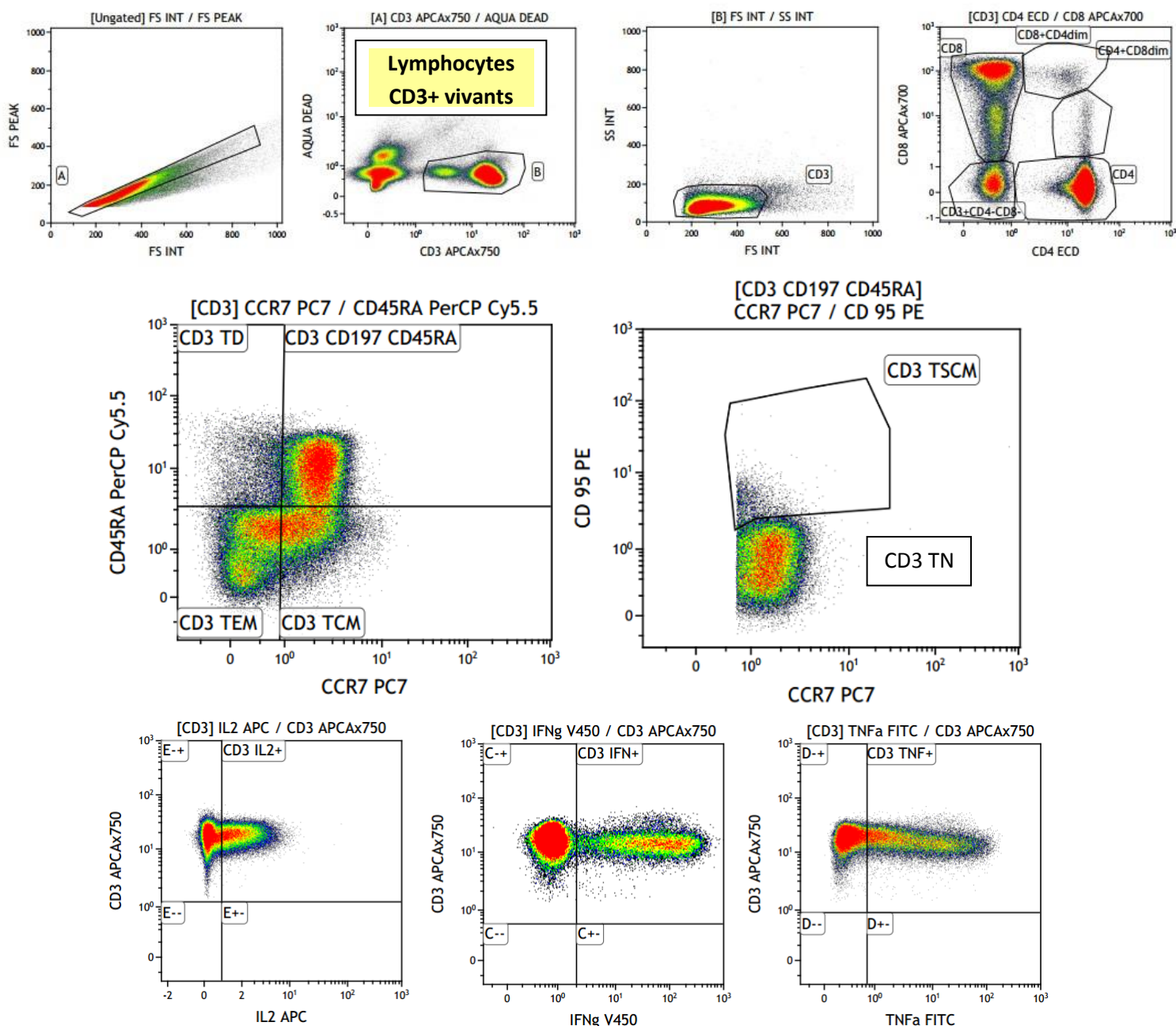


Figure 18 : Stratégie d'analyse des sous-populations lymphocytaire en cytométrie en flux.

Etude de la différenciation et de la sécrétion lymphocytaire

CD3 : Lymphocytes T $CD3^+$; CD4 : Lymphocytes T $CD4^+$; CD8 : Lymphocytes T $CD8^+$; CD3 TN : Lymphocytes T $CD3^+$ naïfs ; CD3 STCM : Progéniteurs Mémoires T $CD3^+$; CD3 TCM : Lymphocytes T $CD3^+$ Mémoires Centraux ; CD3 TEM : Lymphocytes T $CD3^+$ Effecteurs Mémoires ; CD3 TD : Lymphocytes T $CD3^+$ Effecteurs Terminaux ; CD3 IL2 : Lymphocytes T $CD3^+$ sécréteurs d'IL2 ; CD3 IFN γ : Lymphocytes T $CD3^+$ sécréteurs d'IFN γ ; CD3 TNF α : Lymphocytes T $CD3^+$ sécréteurs de TNF α .

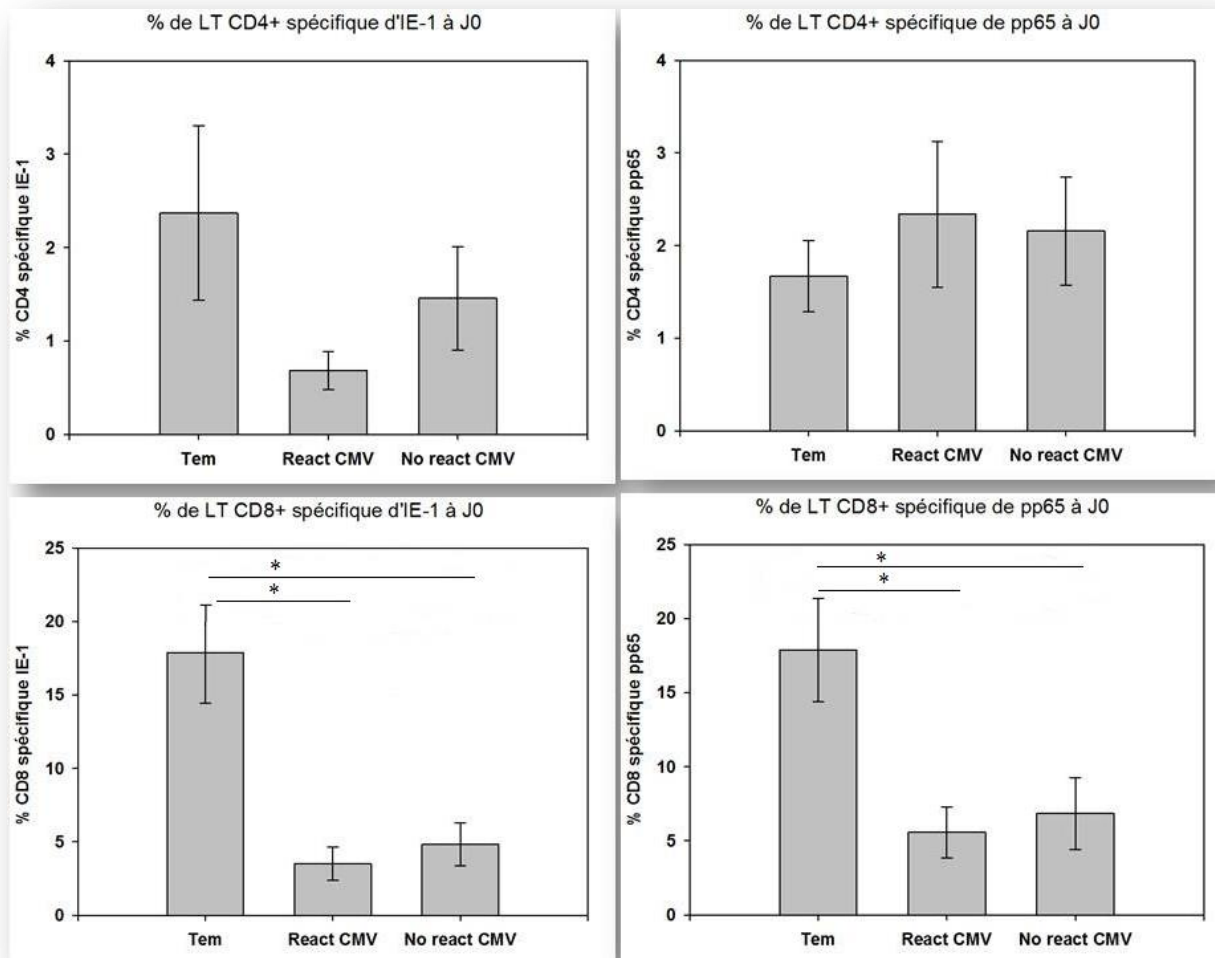


Figure 19 : Taux de lymphocytes CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques d'IE-1 et de pp65 à J0

LT : Lymphocytes T ; Tem : Témoins ; React CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale symptomatique ; No Réact : Receveurs séropositifs pour le CMV sans réactivation virale symptomatique (pas de virémie ou réplication CMV asymptomatique) ; % = pourcentage ; * = $p < 0,05$.

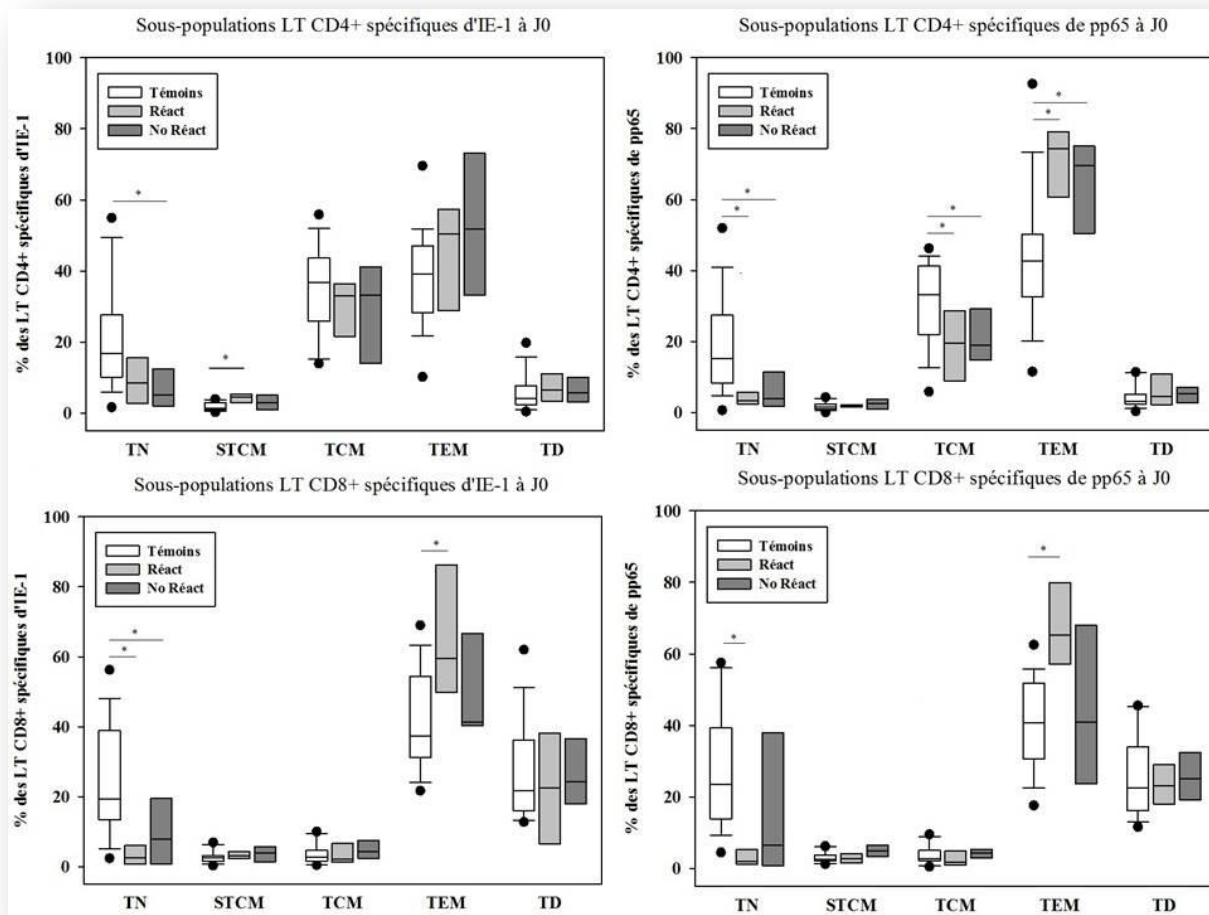


Figure 20 : Répartition des différents stades de maturation lymphocytaire à J0 des LT CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques d'IE-1 et de pp65 entre les patients transplantés rénaux et les témoins

Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale ; No Réact : Receveurs séropositifs pour le CMV sans réactivation virale ; TN : Lymphocytes T naïfs ; STCM : Progéniteurs Mémoires T ; TCM : Lymphocytes T Mémoires Centraux ; TEM : Lymphocytes T Effecteurs Mémoires ; TD : Lymphocytes T Effecteurs Terminaux. * = $p < 0,05$

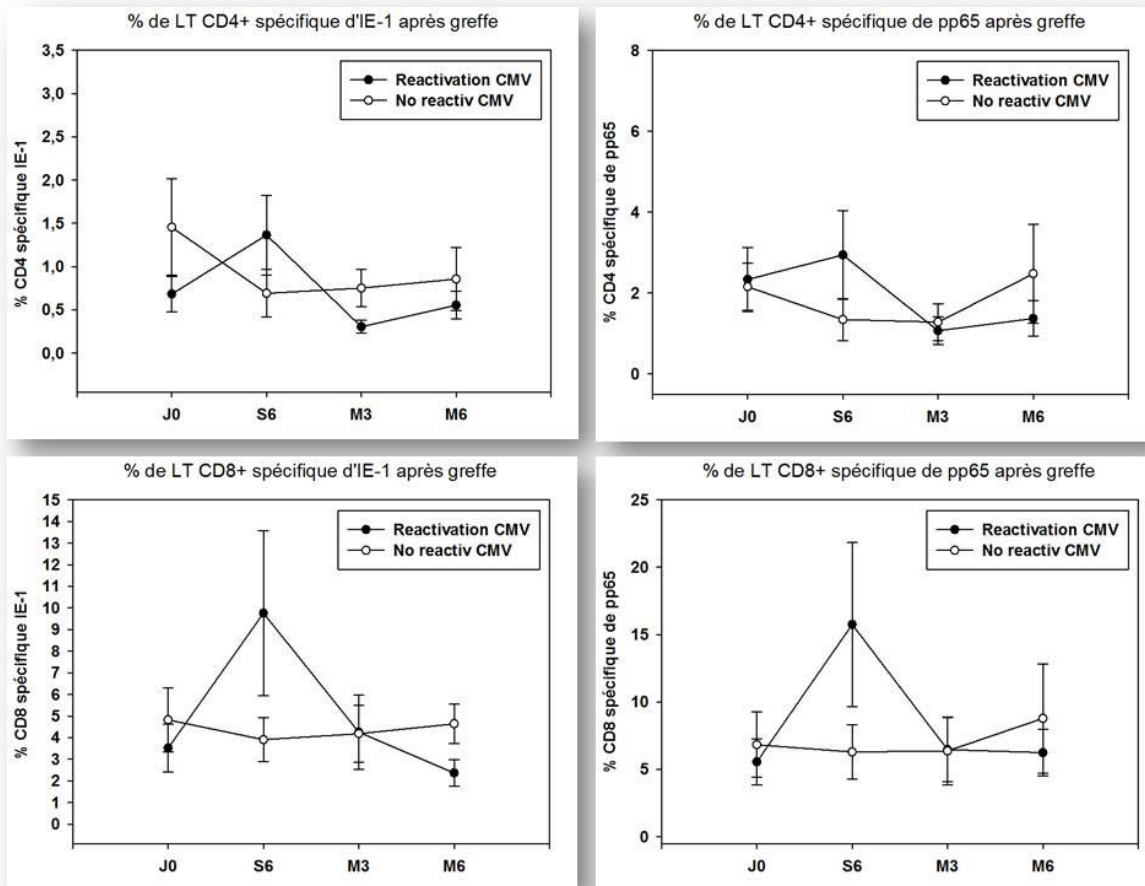


Figure 21 : Cinétique de réponse des lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ spécifique de CMV

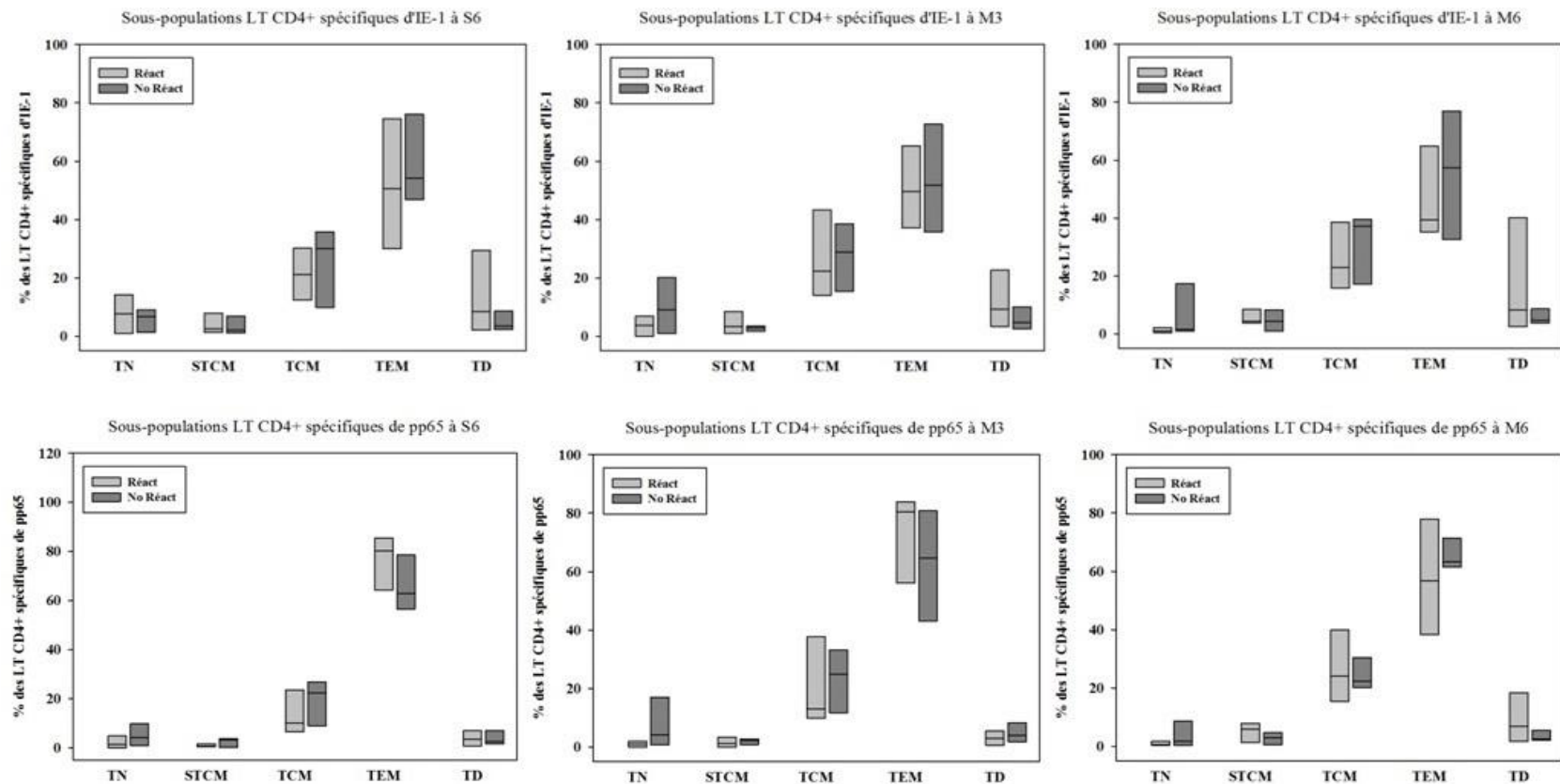


Figure 22 : Répartition des différents stades de maturation lymphocytaire des LT CD4⁺ (A) et CD8⁺ (B) de la 6ème semaine au 6^{ème} mois post-transplantation

Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale ; No Réact : Receveurs séropositifs pour le CMV sans réactivation virale ; TN : Lymphocytes T naïfs ; STCM : Progéniteurs Mémoires T ; TCM : Lymphocytes T Mémoires Centraux ; TEM : Lymphocytes T Effecteurs Mémoires ; TD : Lymphocytes T Effecteurs Terminaux. * = $p < 0,05$

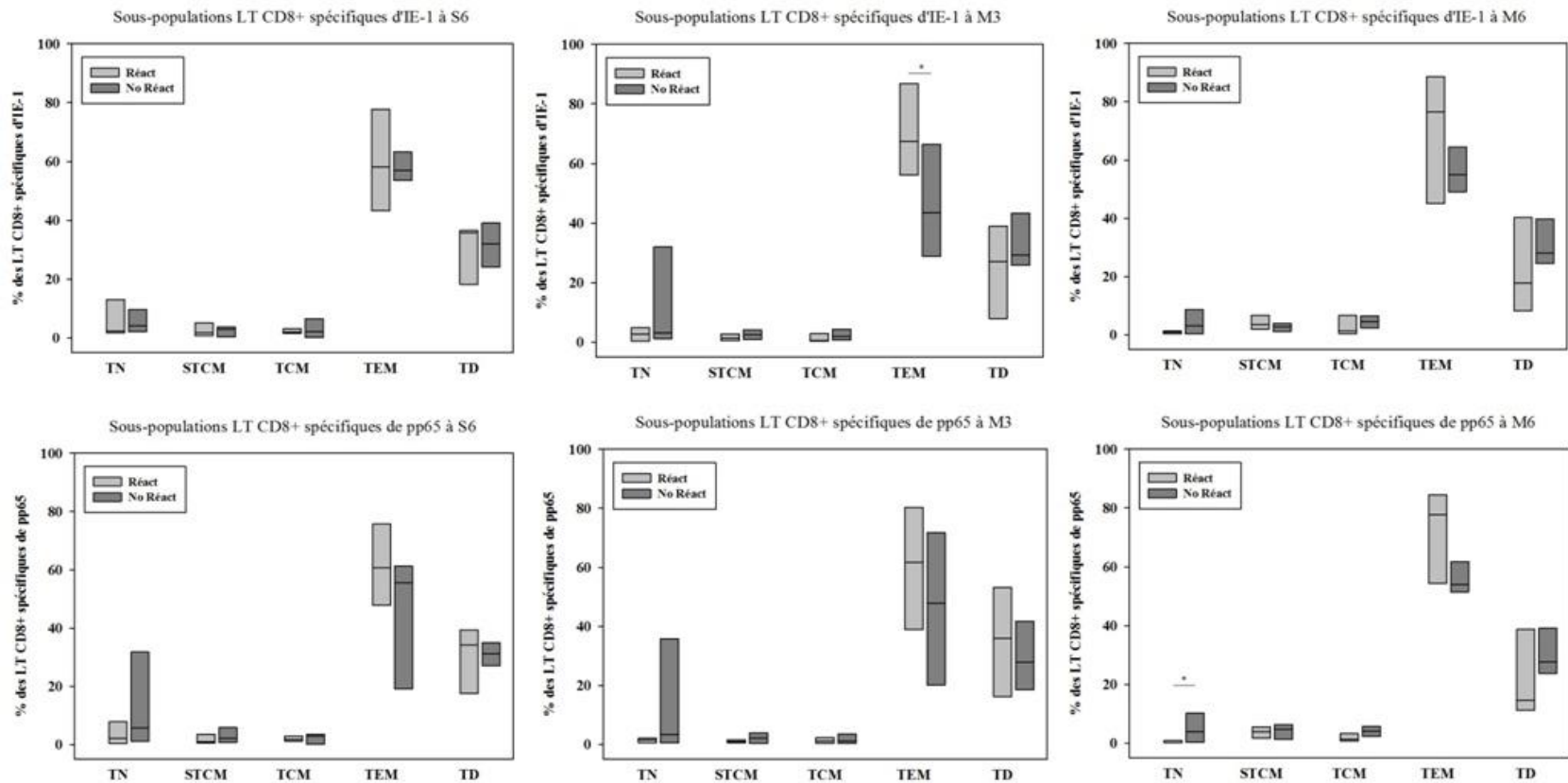
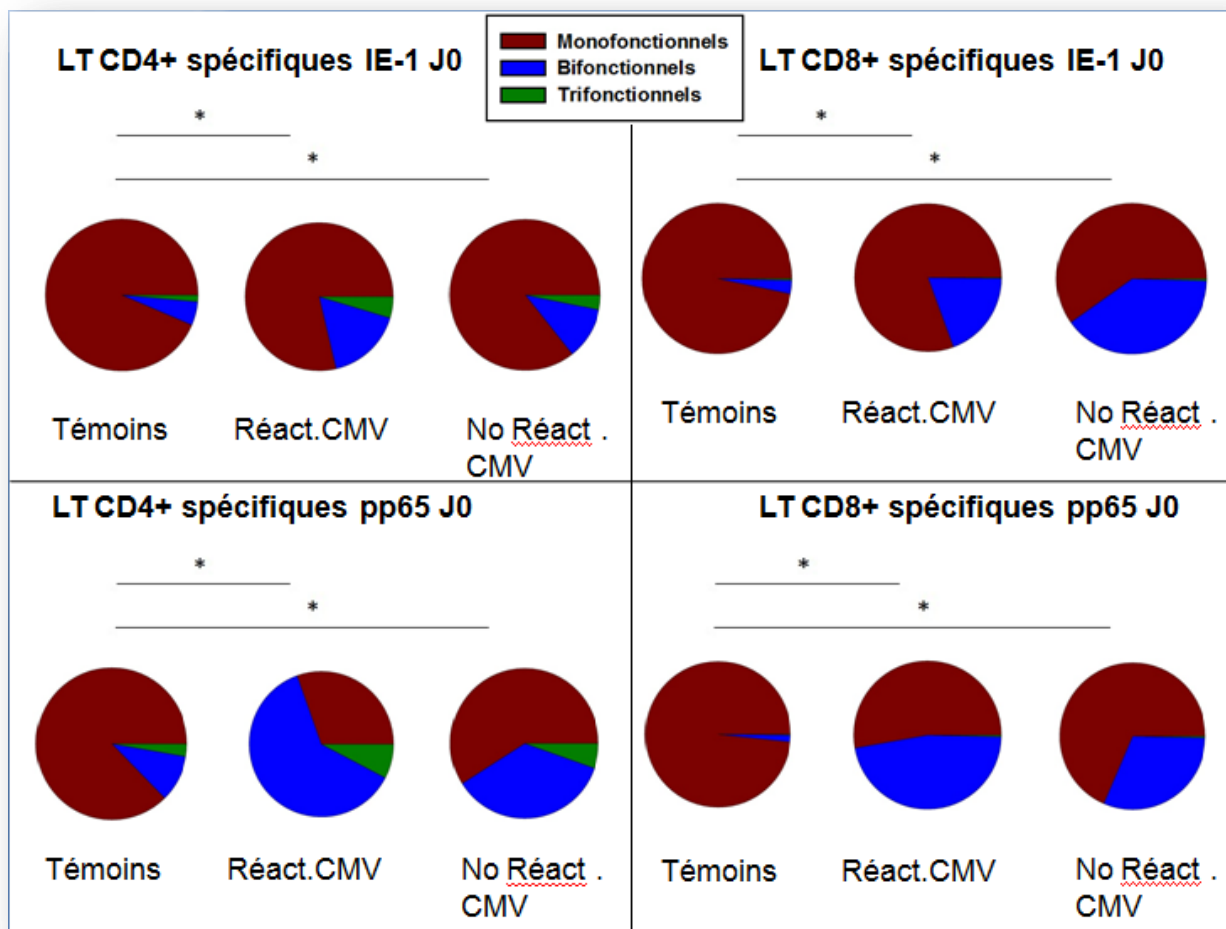


Figure 22 (suite) : Répartition des différents stades de maturation lymphocytaire des LT CD4⁺ (A) et CD8⁺ (B) de la 6^{ème} semaine au 6^{ème} mois post-transplantation

Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale ; No Réact : Receveurs séropositifs pour le CMV sans réactivation virale ; TN : Lymphocytes T naïfs ; STCM : Progéniteurs Mémoires T ; TCM : Lymphocytes T Mémoires Centraux ; TEM : Lymphocytes T Effecteurs Mémoires ; TD : Lymphocytes T Effecteurs Terminaux. * = $p < 0,05$



**Figure 23 : Polyfonctionnalité lymphocytaire en IE-1 et pp65
chez les patients transplantés et les témoins à J0**

Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale ; No Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV sans réactivation virale ; Témoins : Témoins séropositifs pour le CMV ; LT : Lymphocytes T ; J0 : Jour 0 ; * = $p < 0,05$

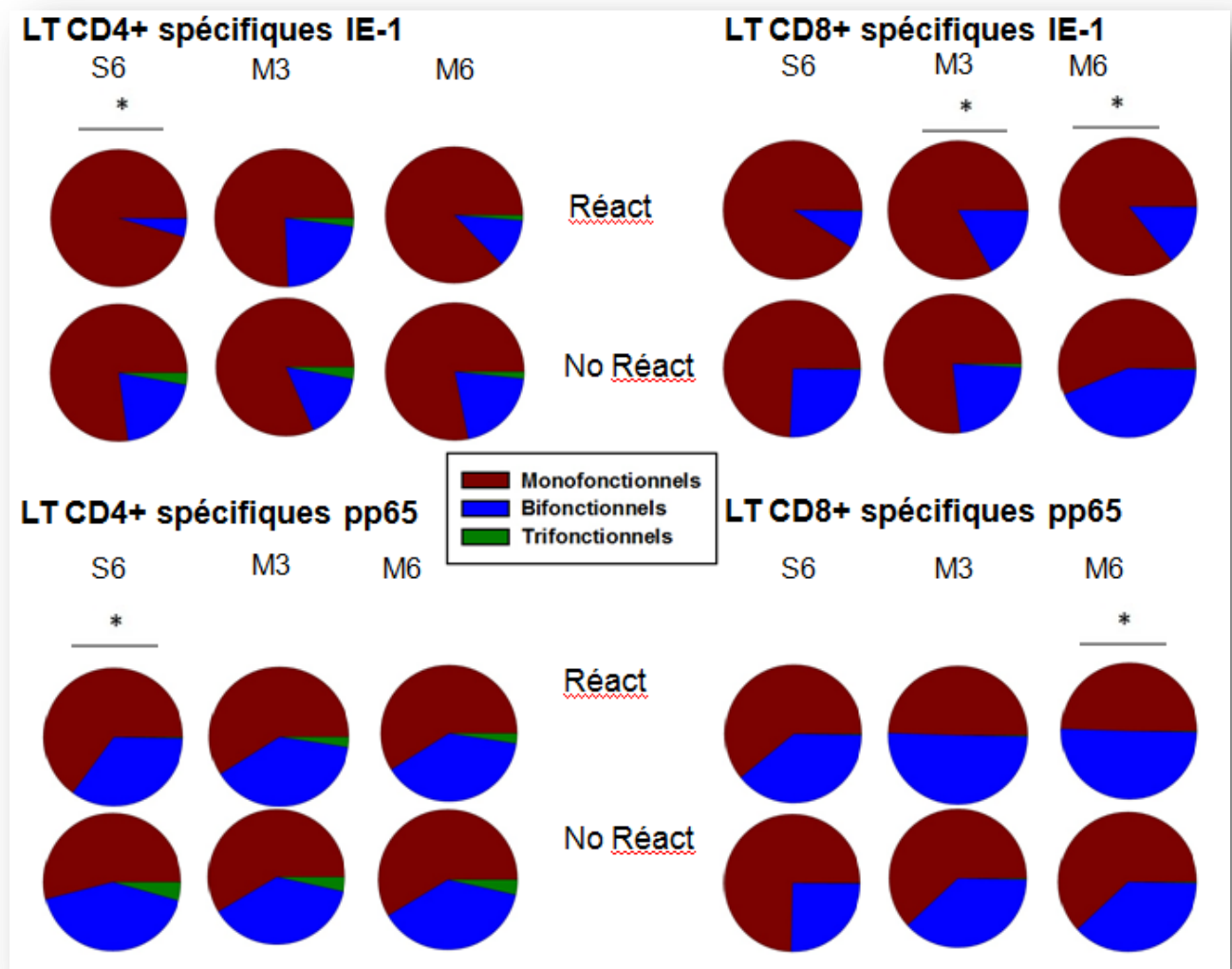
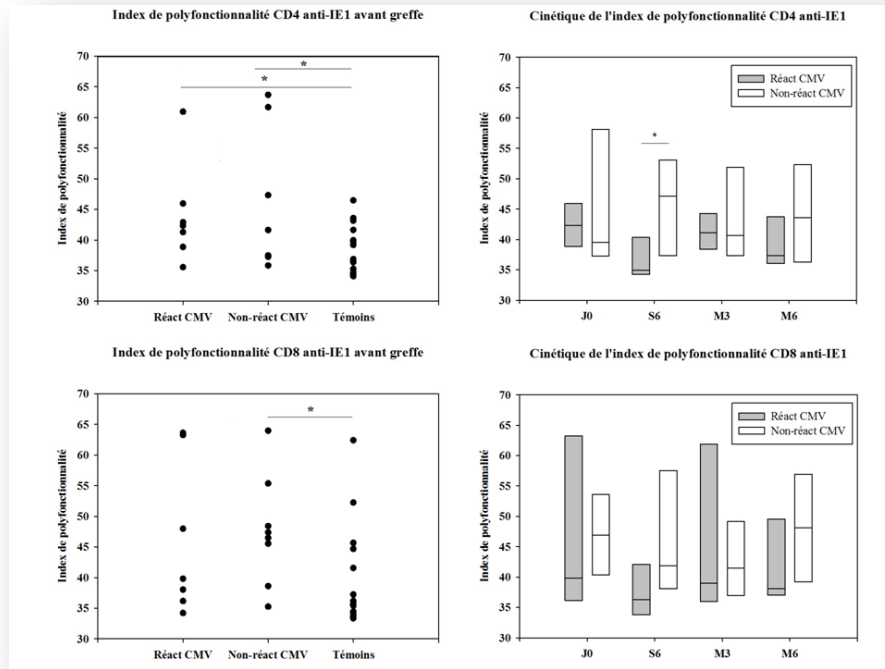


Figure 24 : Polyfonctionnalité lymphocytaire en IE-1 et pp65

chez les patients transplantés de la 6^{ème} semaine au 6^{ème} mois

Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale ; No Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV sans réactivation virale ; Témoins : Témoins séropositifs pour le CMV ; LT : Lymphocytes T ; J0 : Jour 0 ; S6 : Semaine 6 ; M3 : 3^{ème} mois ; M6 : 6^{ème} mois ; * = $p < 0,05$

A



B

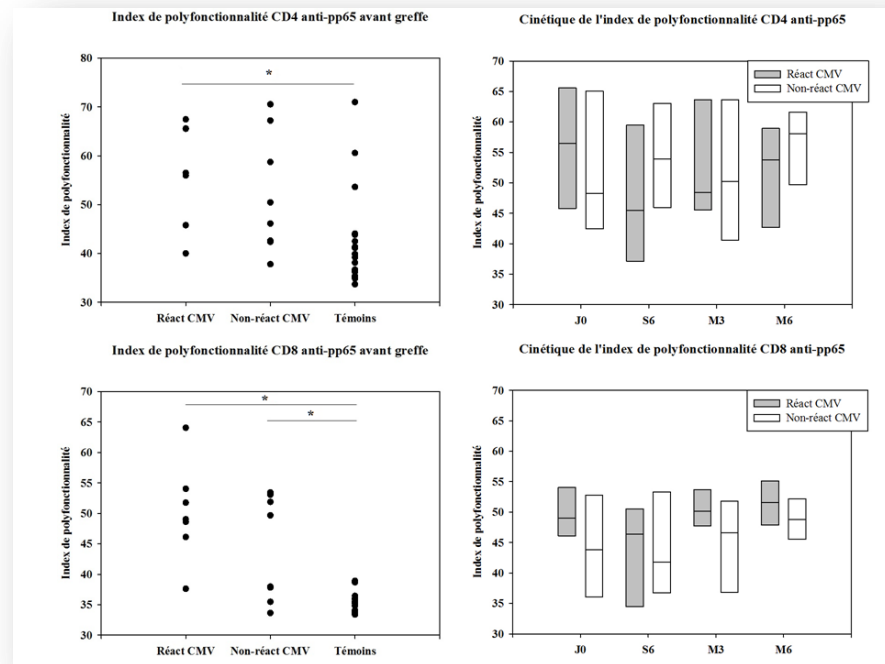


Figure 25 : Index de polyfonctionnalité lymphocytaire des LT CD4⁺ et CD8⁺

A : LT CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques d'IE-1 ; B : LT CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques de pp65 ; Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale ; No Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV sans réactivation virale ; Témoins : Témoins séropositifs pour le CMV ; LT : Lymphocytes T ; J0 : Jour 0 ; S6 : Semaine 6 ; M3 : 3^{ème} mois ; M6 : 6^{ème} mois ; * = p < 0,05.

Tableau 1 : Signes cliniques d'infections à CMV

Maladie à CMV : Fièvre, myalgies, asthénie et syndrome neutropénique (leuco-thrombopénie)	
Atteinte spécifique d'organe :	
- Néphrite,	- Chorioretinite
- Hépatite,	- Pancréatite
- Pneumonie,	- Myélosuppression
- Colite, Gastrite, Ulcère (risque d'hémorragie et de perforation intestinale)	

Tableau 2 : Caractéristiques de la population le jour de l'appel de greffe

n : Nombre ; CMV : Cytomégalo virus ; EBV : Epstein-Barr Virus ; IgG : Immuno-globuline G ;
SAL : Sérum anti-lymphocytaire

Caractéristiques des patients à J0		n	%
SEXE	Femmes	6	27,3
	Hommes	16	72,7
Age (ans)		59	
Receveur : Néphropathie initiale			
	Néphropathie diabétique et/ou vasculaire	10	45,5
	Uropathie malformative	1	4,5
	Glomérulonéphrite	6	27,3
	Néphropathie indéterminée	5	22,7
Ancienneté de dialyse (années)		3	
Hémodialyse		19	86,4
Dialyse péritonéale		2	9,1
Antécédents néoplasiques		4	18,2
Antécédents infectieux		3	13,6
Receveur : Sérologie CMV		15	68,2
Taux d'Anticorps IgG anti-CMV (UA/ml)		250	
Receveur : Sérologie EBV		22	100
Receveur : Groupe Sanguin			
	A	11	50
	B	2	9,1
	AB	2	9,1
	O	7	31,8
Anticorps antiHLA classe I		8	36,4
Anticorps antiHLA classe II		5	22,7
Taux de greffons incompatibles >85 %		2	9,1
Programme Antigènes permis		1	4,5
1ère Transplantation	Oui	18	81,8
	Non	4	18,2
Greffe Preemptive		1	4,5
Greffe Donneur Vivant		6	27,3
Greffe dérogatoire VHB		2	9,1
Patient hyperimmunisé		2	9,1
Induction		20	90,9
	SAL	9	45
	Basiliximab	11	55
Entretien			
	Ciclosporine A	9	40,9
	Tacrolimus	13	59,1
	MMF	22	100
	Corticoïdes	22	100
Donneur : Groupe Sanguin			
	A	10	45,5
	B	3	13,6
	AB	1	4,5
	O	8	36,4
Donneur : Sérologie CMV		10	45,5
Donneur : Sérologie EBV		22	100

Tableau 3 : Evolution générale des patients en post-transplantation rénale

n : Nombre ; CMV : Cytomégalovirus ; EBV : Epstein-Barr Virus ; Inh. mTOR : Inhibiteur de la voie mTOR ; n : nombre.

Evolution post-greffe sur 8 mois	n	%
Reprise retardée de fonction	9	40,9
Reprises chirurgicales post-opératoires	3	13,6
Créatininémie (μmol/L)	148	
Rejet	4	18,2
Néphrotoxicité aux immunosuppresseurs	3	13,6
Perte de greffon	2	9,1
Transplantectomie	1	4,5
Minimisation des anticalcineurines	2	9,1
Switch des anticalcineurines vers Inh.mTOR	1	4,5
Arrêt Mycophénolate Mofétil	4	18,2
Complications infectieuses virales	14	63,6
Réactivation CMV symptomatique	7	31,8
Primo-infection CMV par le greffon	2	9,1
Réplication CMV asymptomatique	4	18,2
Réactivation EBV	8	36,4
Réactivation herpétique	2	9,1
Réplication BKvirus	4	18,2

Tableau 4 : Comparaison de l'évolution en post-greffe

selon la survenue ou non d'une infection à CMV

Réact. CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV avec réactivation virale symptomatique ; No

Réact CMV : Receveurs séropositifs pour le CMV sans réplication virale ou réplication CMV

asymptomatique ; Primo-infection CMV : Receveurs séronégatifs transplantés avec Donneurs

séropositifs ; D-/R- : Receveurs et Donneurs séronégatifs pour le CMV ; n : nombre.

	Réact. CMV		No Réact. CMV		Primo-infection CMV		D-/R-	
	n=7	%	n=8	%	n=2	%	n=5	%
Age (ans)	70		50		64		41	
Ancienneté de dialyse (années)	4		2		4,5		2	
1ère Transplantation	6	85,7	6	75	2	100	4	80
Taux d'Ac IgG anti-CMV (UA/ml)	222		250		0		0	
Evolution post-greffe sur 10 mois								
Reprise retardée de fonction	3	42,9	1	12,5	2	100	3	60
Reprises chirurgicales post-op	2	28,6	0	0	0	0	1	20
Reprise retardée de fonction	3	42,9	1	12,5	2	100	3	60
Reprises chirurgicales post-op	2	28,6	0	0	0	0	1	20
Créatininémie (μmol/L)	183		148		149		111	
Rejet	2	28,6	1	12,5	1	50	0	0
Néphrotoxicité aux immunosuppresseurs	0	0	2	28,6	1	50	0	0
Perte de greffon	2	28,6	0	0	0	0	0	0
Transplantectomie	1	14,3	0	0	0	0	0	0
Minimisation CNI	0	0	1	12,5	0	0	0	0
Switch CNI vers Inh.mTOR	0	0	0	0	1	50	0	0
Arrêt MMF	2	28,6	1	12,5	0	0	0	0
Complications infectieuses virales	6	85,7	2	28,6	1	50	3	60
Réactivation EBV	4	57,1	1	12,5	0	0	3	60
Réactivation herpétique	2	28,6	0	0	0	0	0	0
Réplication Bkvirus	1	14,3	1	12,5	1	50	1	20

Tableau 5 : Polyfonctionnalité et Répartition lymphocytaire des témoins CMV positifs

IE-1 CD4⁺ : Lymphocytes T CD4⁺ répondant à une stimulation par le peptide IE-1 ; IE-1 CD8⁺ : Lymphocytes T CD8⁺ répondant à une stimulation par le peptide IE-1 ; pp65 CD4⁺ : Lymphocytes T CD4⁺ répondant à une stimulation par le peptide pp65 ; pp65 CD8⁺ : Lymphocytes T CD8⁺ répondant à une stimulation par le peptide pp65 ; TN : Lymphocytes T naïfs ; STCM : Cellules Souches Mémoires T ; TCM : Lymphocytes T Mémoires Centraux ; TEM : Lymphocytes T Effecteurs Mémoires ; TD : Lymphocytes T Effecteurs Terminaux.

	Réponse cytokinique	Mono- fonction	Bi ou Tri- fonction	TN	TCM	TEM	TD	TSCM
IE-1 CD4 ⁺	0,9	92,8	6,4	16,8	36,7	39,2	4,1	1,4
pp65 CD4 ⁺	1,2	84,9	12,3	15,3	33,3	42,7	3,1	1,6
IE-1 CD8 ⁺	8,2	49,4	50,7	12,2	1,6	69,3	15,8	1,1
pp65 CD8 ⁺	12,2	98,3	1,7	23,6	2,8	40,8	22,5	2,6

Tableau 6 : Maturation lymphocytaire des LT CD4⁺ et CD8⁺ spécifiques d'IE-1 et de pp65 plus avancée chez les patients transplantés rénaux à J0 par rapport aux témoins

CD4⁺ : Lymphocytes T CD4⁺ ; CD8⁺ : Lymphocytes T CD8⁺ ; TN : Lymphocytes T naïfs ; STCM : Progéniteurs Mémoires T ; TCM : Lymphocytes T Centraux Mémoires ; TEM : Lymphocytes T Effecteurs Mémoires ; TD : Lymphocytes T Effecteurs Terminaux ; DS : déviation standard ; NS : Non significatif. * p<0,05

	Témoins	Patients avec réactivation virale	Patients sans réactivation virale
CD4⁺ TEM pp65	44,1 % [DS : 18,5] *	69,0 % [DS : 13,3] *	62,8 % [DS : 18,9] *
CD8⁺ TEM IE-1	37,3 % [Q1-Q3 = 31,3-53,3] *	59,6 % [Q1-Q3 = 52,2-85,0] *	NS
CD8⁺ TEM pp65	40,8 % [Q1-Q3 = 30,9-51,2] *	65,3 % [Q1-Q3 = 57,9-77,8] *	NS
CD4⁺ TSCM IE-1	1,3 % [Q1-Q3 = 1,0-2,8] *	4,6 % [Q1-Q3 = 3,1-5,4] *	NS
CD4⁺ TN IE-1	16,7 % [Q1-Q3 = 10,5-27,2] *	NS	5,2 % [Q1-Q3 = 2,7-10,7] *
CD4⁺ TN pp65	15,3 % [Q1-Q3 = 8,6-26,5] *	3,4 % [Q1-Q3 = 2,6-5,4] *	4,0 % [Q1-Q3 = 2,2-9,8] *
CD8⁺ TN IE-1	25,0 % [DS : 15,8] *	4,3 [DS : 5,3] *	11,0 [DS : 11,9] *
CD8⁺ TN pp65	23,6 % [Q1-Q3 = 14,5-39,3] *	1,9 % [Q1-Q3 = 1,3-4,6] *	NS
CD4⁺ TCM pp65	31,0 % [DS : 11,4] *	18,7 % [DS : 11,6] *	22,6 % [DS : 12,2] *

Tableau 7 : Maturation lymphocytaire des LT CD4⁺ et CD8⁺ plus avancée chez les patients transplantés rénaux avec réactivation virale au 6^{ème} mois post-transplantation

CD4⁺ : Lymphocytes T CD4⁺ ; CD8⁺ : Lymphocytes T CD8⁺ ; TN : Lymphocytes T naïfs ; STCM : Progéniteurs Mémoires T ; TCM : Lymphocytes T Centraux Mémoires ; TEM : Lymphocytes T Effecteurs Mémoires ; TD : Lymphocytes T Effecteurs Terminaux ; DS : déviation standard ; NS : Non significatif. * p<0,05

	Patients avec réactivation virale	Patients sans réactivation virale
CD8⁺ TEM IE-1 (M3)	69,8 % [DS : 17,3] *	46,9 % [DS : 20,3] *
CD8⁺ TN pp65 (M6)	0,2 % [Q1-Q3 = 0,2-0,9] *	3,9 % [Q1-Q3 = 1,0-9,3] *
CD8⁺ TCM pp65 (M6)	1,9 % [DS : 1,6] NS	4,0 % [DS : 1,8] NS
CD8⁺ TEM pp65 (M6)	77,7 % [Q1-Q3 = 60,5-83,3] NS	54,0 % [Q1-Q3 = 52,0-60,7] NS

Annexe 1 : Suivi standardisé des patients transplantés
au cours de la première année de transplantation

	M1	M2	M3	M4 / M6	M7 / M9	M 10 / M12
Périodicité des visites	2 fois/sem	1 fois/sem, suivi biologique en externe possible	1 fois/10j, suivi biologique en externe possible	1 fois/15j, mise en route du suivi alterné	1 fois / mois	1 fois / mois
Education thérapeutique	4 à 6 consultations			× à M6		× à M12
Sang : NFS, X7, bicar, X14, Dosage du traitement IS*	À chaque visite	À chaque visite	À chaque visite	À chaque visite	À chaque visite	À chaque visite
BU, ECU si BU+, DM	À chaque visite	À chaque visite	À chaque visite	À chaque visite	À chaque visite	À chaque visite
BFR, Prot/24h	1 fois sur 4	1 fois sur 4	1 fois sur 4	À chaque visite	À chaque visite	À chaque visite
Echographie	Post-ablation J1 ou J15					Echo M12
AUC Cellcept			×			
HbA1c, si patient diabétique	×		×	× à M6	× à M9	× à M12
γGT, Bilan lipidique§	×		×	× à M6		× à M12
CRP, Bilan martial			×	× à M6		× à M12
Anticorps antiHLA	×	En cas de rejet	×	× à M6		× à M12
Sérologies HBV, HCV			×			× à M12
BK virus urines (si +, remplacer par BK virus plasma)	×	×	×	× à M6		× à M12
CMV/ D- et R-	Pas de PCR					
CMV/ D+ et R-	Roalcyt pendant 3 à 6 mois, suivi PCR à chaque visite de M4 à M12					
CMV/ D- et R+ ou D+ et R+	PCR 1 fois sur 2					
EBV	1 fois/sem	1 fois/mois	1 fois/mois	1 fois/mois	1 fois/mois	1 fois/mois
Ca ionisé, PTH, 25OH vit D	×			× à M6		× à M12
Rhumatologie	Radiographie, Ostéodensitométrie, Scintigraphie, Puis consultation Rhumatologie					
EP, PSA						× à M12
Consultation Cardiologie en ville, à défaut au CHU	Selon avis du néphrologue					
Consultation Urologie	Avant M6					
Consultation Dentaire en ville, à défaut au CHU	× Courrier type signé par l'interne					
Consultation Gynécologie en ville, à défaut au CHU	× Courrier type signé par l'interne					
Consultation Dermatologie en ville, ou au CHU	× Courrier type signé par l'interne					

PERMIS D'IMPRIMATURE

VU

NANCY, le **10 janvier 2014**

Le Président de Thèse

NANCY, le **10 janvier 2014**

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur L. FRIMAT

Professeur H. COUDANE

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/6729

NANCY, le **14 janvier 2014**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE,

Professeur P. MUTZENHARDT

RÉSUMÉ : En transplantation rénale, le Cytomégalovirus humain (CMV) est une des infections virales les plus importantes. L'évaluation de la reconstitution de l'immunité mémoire T spécifique du CMV nous permettrait potentiellement d'évaluer le risque infectieux de chaque patient et de fournir un outil permettant de guider l'utilisation des thérapeutiques anti-virales préemptives ou prophylactiques. Nous avons comparé de façon prospective, par cytométrie en flux multiparamétrique, les sous-populations lymphocytaires T spécifiques du CMV de 20 témoins et de 22 patients nouvellement transplantés rénaux le jour de l'appel de greffe, à la 6^{ème} semaine, au 3^{ème} et 6^{ème} mois post-transplantation et lors d'une réactivation du CMV en étudiant notamment la polyfonctionnalité (définie notamment par la capacité pour une même cellule de sécréter de façon concomitante plusieurs cytokines) et la différenciation lymphocytaire (stades de lymphocytes T naïfs, mémoires centraux et effecteurs, effecteurs terminaux et les progéniteurs mémoires T). Nous avons montré une différenciation lymphocytaire spécifique du CMV plus avancée avec une polyfonctionnalité lymphocytaire plus restreinte et une expansion modérée des progéniteurs mémoires T CD8⁺ spécifiques du CMV chez les patients ayant fait une réactivation virale CMV. Ces données suggèrent une stimulation répétée du système immunitaire des patients avec réactivation virale responsable d'une différenciation lymphocytaire plus avancée. Une polyfonctionnalité lymphocytaire plus importante pourrait être associée à un meilleur contrôle de la charge virale CMV.

TITLE : Assessment of Cytomegalovirus specific memory T cells in renal transplant and correlation with viral primo-infection or reactivation

THÈSE : MÉDECINE SPÉCIALISÉE NÉPHROLOGIE– ANNÉE 2014

MOTS CLEFS : Transplantation rénale ; Cytomégalovirus ; Lymphocytes T mémoires ; Réactivation – Primo-infection

INTITULÉ ET ADRESSE : UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Faculté de Médecine de Nancy

9, avenue de la Forêt de Haye

54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex