

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 29 septembre 2025
Par M Mollet Julien**

**Résistance des herpès virus (HSV, VZV et CMV) : état des lieux de la
résistance au niveau local et apport des approches génotypiques de
recherche de résistance aux antiviraux**



Membres du jury :



Président : Pr GOFFARD Anne, PU-PH, Université de Lille, CHU de Lille

Directeur : Dr COULON Pauline, PH, CHU de Lille

Assesseur(s) : Dr LAZREK Mouna, PH, CHU de Lille

Dr VUOTTO Fanny, PH, CHU de Lille

  Université de Lille	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie Document transversal	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
		Page 2/12

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
Document transversal		Page 3/12

Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-présidente Formation	Corinne ROBACZEWSKI
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-président Ressources Humaine	Jean-Philippe TRICOIT
Directrice Générale des Services	Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

UFR3S



Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Recherche	Karine FAURE
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Emmanuelle LIPKA
Vice-Doyen International	Vincent DERAMECOURT
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoire-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyen Santé numérique et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyenne Vie de Campus	Anne-Laure BARBOTIN
Vice-Doyen étudiant	Victor HELENA

Faculté de Pharmacie

Vice - Doyen	Pascal ODOU
Premier Assesseur et	
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté et	
Assesseur aux Ressources et Personnels	Emmanuelle LIPKA
Responsable de l'Administration et du Pilotage	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE
Chargé de mission 1er cycle	Philippe GERVOIS
Chargée de mission 2eme cycle	Héloïse HENRY
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche	Nicolas WILLAND
Chargé de mission Relations Internationales	Christophe FURMAN
Chargée de Mission Qualité	Marie-Françoise ODOU
Chargé de mission dossier HCERES	Réjane LESTRELIN

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)



Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
Document transversal		Page 4/12


M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bio inorganique	85
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
Document transversal		Page 5/12

M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86



	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
Document transversal		Page 6/12

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)



Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)



Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M	BEDART	Corentin	ICPAL	86
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
Document transversal		Page 7/12

Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
Document transversal		Page 8/12

Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	87
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
Document transversal		Page 9/12

M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés


Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BAILLY	Christian	ICPAL	86
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M	AYED	Elya	Pharmacie officinale	
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
Mme	DANICOURT	Frédérique	Pharmacie officinale	
Mme	DUPIRE	Fanny	Pharmacie officinale	
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
Mme	GEILER	Isabelle	Pharmacie officinale	

	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
Document transversal		Page 10/12

M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M	POTHIER	Jean-Claude	Pharmacie officinale	
Mme	ROGNON	Carole	Pharmacie officinale	

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)



Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMPAGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	FERRY	Lise	Biochimie	

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
Document transversal		Page 11/12



M	HASYEOUI	Mohamed	Chimie Organique	
Mme	HENRY	Doriane	Biochimie	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M	LAURENT	Arthur	Chimie-Physique	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	RAAB	Sadia	Physiologie	

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	DELOBEAU	Iris	Pharmacie officinale
M	RIVART	Simon	Pharmacie officinale
Mme	SERGEANT	Sophie	Pharmacie officinale
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

LRU / MAST

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FRAPPE	Jade	Pharmacie officinale
M	LATRON-FREMEAU	Pierre-Manuel	Pharmacie officinale
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
Département Pharmacie Document transversal	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.3 Applicable au 02/12/2024
		Page 12/12

CYCLE DE VIE DU DOCUMENT

Version	Modifié par	Date	Principales modifications
1.0		20/02/2020	Création
2.0		02/01/2022	Mise à jour
2.1		21/06/2022	Mise à jour
2.2		01/02/2024	Mise à jour
2.3		15/11/2024	Mise à jour

Remerciements

Madame le Professeur Anne Goffard

*Professeur des Universités et Praticien Hospitalier
Faculté de Pharmacie de Lille et Centre Hospitalier et Universitaire de Lille*

Vous avez été la première personne à m'avoir enseigné la virologie et, par la même occasion, à me transmettre le goût de cette discipline. C'est donc avec un profond respect que je vous remercie d'avoir accepté de présider mon jury de thèse et d'avoir consacré de votre temps à l'évaluation de ce travail.

Madame le Docteur Mouna Lazrek,

*Praticien Hospitalier
Service de Virologie, Centre Hospitalier et Universitaire de Lille*

J'ai eu l'opportunité de réaliser mon premier stage en tant qu'FFI dans le service de virologie puis un second à tes côtés et j'ai toujours été frappé par ta bienveillance et tes connaissances dans cette discipline.

Je tiens à t'exprimer tout le respect que je te porte et à te remercier d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Madame le Docteur Fanny Vuotto,

*Praticien Hospitalier
Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier et Universitaire de Lille*

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse et d'avoir consacré du temps à la lecture de mon manuscrit. Votre expertise sur ce sujet est pour moi précieuse et c'est un véritable honneur de vous compter parmi les membres de mon jury.

Madame le Docteur Pauline Coulon,

*Praticien Hospitalier
Service de Virologie, Centre Hospitalier et Universitaire de Lille*

Pauline, je te remercie sincèrement d'avoir accepté de m'encadrer pour ta première thèse. Je suis très heureux d'avoir pu mener ce projet à tes côtés et j'espère avoir l'occasion de poursuivre cette collaboration avec toi pour mon mémoire. Je t'ai découvert pendant mon premier stage en tant qu'FFI et j'ai toujours été impressionné par tes connaissances et ta rigueur. Merci également pour ta patience et ton investissement tout au long de cette thèse. Ta gentillesse et ta bienveillance sont des qualités précieuses, ne perds jamais ça !

À ma famille, tout particulièrement à Maman, Papa et Coco, je ne pourrais pas imaginer ce parcours sans vous. Merci d'avoir toujours été là, pour votre soutien indéfectible, vos encouragements, vos conseils et votre patience. Merci aussi pour tous ces moments de rire, de bonheur et de légèreté qui m'ont porté et permis de garder le moral tout au long de ce chemin. Vous êtes mon refuge, ma force et mon inspiration, et je vous aime profondément.

PS : merci à Oslo, mon chat, pour toutes les conneries que tu as pu faire et qui m'ont permis de penser à autre chose pendant la rédaction de cette thèse.

À mes amis,

La team MDF, merci de me supporter depuis le lycée et d'avoir partagé tant de moments inoubliables avec moi. Nos fous rires en cours, nos soirées mémorables et toutes nos aventures resteront à jamais gravés dans ma mémoire. Chaque fois que l'on se retrouve, c'est comme si c'était le premier jour, et c'est toujours un vrai bonheur.

La team des fins gourmets, je cite, Pepounette, Croquette, Emem, Nico, Zézette, Juju2 (eh oui !) et Ramzouille, je suis tellement heureux de vous avoir rencontrés : vous êtes ma bouffée d'oxygène, et chaque fois que l'on se retrouve, c'est fous rires assurés. Nos soirées bar et resto, nos parties de babyfoot et nos jeux de société, mêlant drames, éclats de rire et trahisons, resteront à jamais gravés dans ma mémoire. Merci à vous tous, et j'espère de tout cœur vous garder à mes côtés pour toujours.

Rayan, Perrine, Romain, Théo, Corentin, Cassandre, Diana, Manon et Dahbia, merci pour ces années d'étude de pharmacie passées à vos côtés. Merci pour nos délires, nos moments de doute partagés et toutes ces petites aventures du quotidien qui ont rendu ce parcours tellement plus vivant. Chacun de vous a contribué à rendre ces années inoubliables, et je garderai toujours en mémoire tous les bons moments que l'on a passé ensemble. La distance fait que nous nous voyons moins pour certains, mais sachez que vous êtes toujours présents dans mon cœur et dans mes pensées.

À mes co-internes,

À l'ensemble de mes co-internes, bravo de m'avoir supporté tout au long des stages. Tout d'abord, merci à Alex, Mahdi et Ibtissem de m'avoir accompagné pendant mon semestre de FFI : vous avez su me mettre à l'aise et me motiver pour la Biologie Médicale.

Merci à Sophie, Lotfi et Sofiane pour mon premier stage en tant qu'interne, et tout particulièrement à Soso, qui m'a permis de traverser ce semestre désastreux mais rempli de fous rires.

Merci également aux biologistes et aux techniciens du CH de Béthune, et plus particulièrement à Alison et Cathy, de m'avoir fait mourir de rire tout au long du stage. À mes co-internes du CH de Valenciennes : Mehdi, Pauline, Angèle, Fanny, Manon, Maëva et Khalil, merci d'avoir fait briller ce stage, sous le thème de la pluie.

Merci à mes co-internes d'hémato : Perrine, Fabien, Alizée, Mehdi, Ilyes, Estelle et Valentin, de m'avoir fait vivre probablement le meilleur de mes stages en termes d'ambiance, alors qu'on n'aurait pas parié dessus.

Merci à toute l'équipe de virologie, techniciens comme biologistes, vous êtes tous tellement adorables. Et un grand merci à mes co-internes Mama, Clarotte et Mahdi, ainsi qu'à Gégèle, Sophie et Anne-Claire, vous m'avez fait passer un semestre incroyable, vous êtes géniaux !

Enfin, merci à l'équipe de parasito-myco, vous êtes formidables, ne changez rien. Et merci à mes co-internes Emma, Angèle, Pauline et Mehdi, de m'avoir fait vivre un dernier semestre inoubliable au CHU.

Et à ceux avec qui je n'ai pas eu la chance de partager un stage, mais que j'ai eu le plaisir de croiser au cours de mon parcours : Joan, Wissal, Ronny, Denys, Amine, Juliette, Apolline, Lilian, Luc et Maximilien, merci pour votre bonne humeur et pour tous les rires que vous m'avez offerts.

Table des matières

Remerciements	13
Table des matières	15
Table des figures	18
Table des tableaux	18
Abréviations.....	20
I. Généralités et actualités sur le CMV et les alphaherpesvirus.....	21
A. Cytomégalovirus (CMV).....	21
1. Structure	21
a) Le génome.....	21
b) La capside.....	21
c) Le tégument.....	22
d) L'enveloppe.....	22
2. Cycle viral.....	22
a) Attachement et pénétration du virus	22
b) Décapsidation	23
c) Transcription et traduction	23
(1) Phase très précoce IE	23
(2) Phase précoce E	24
(3) Phase tardive L	24
d) Assemblage et maturation.....	24
e) Libération des nouveaux virions	24
f) Particularité : Latence et réactivation virale	25
3. Physiopathologie de l'infection	25
4. Clinique et diagnostic.....	27
a) Chez l'individu immunocompétent.....	27
b) L'infection congénitale.....	27
c) Chez l'individu immunodéprimé	28
(1) Transplantation d'organe solide (TOS).....	29
(2) Greffe de cellules souches hématopoïétiques (HSCT).....	30
(3) Personnes vivant avec le VIH (PVVIH)	31
d) Outils diagnostiques.....	31
(1) Techniques indirectes	31
(2) Techniques directes	31
5. Traitement et cinétique de décroissance attendue de la charge virale (CV)	32
a) Stratégies préventives des infections à CMV chez le patient SOT	34
b) Stratégies préventives des infections à CMV chez le patient HSCT	35
B. Herpes-simplex virus (HSV)	37
1. Structure	37
2. Cycle viral	38
3. Physiopathologie	39
4. Clinique et diagnostic.....	40
5. Traitement	42
C. Virus de la Varicelle et du Zona (VZV).....	44
1. Structure	44
2. Réplication	45
3. Physiopathologie	46
4. Clinique et diagnostic.....	47
a) Primo-infection = varicelle	47
b) Réactivation du VZV = zona.....	49
c) Diagnostic.....	50

5. Traitement et prévention	51
II. Génotypage de résistance en pratique au laboratoire.....	53
A. Recherche de mutations de résistance aux antiviraux	53
1. CMV	53
a) Définitions.....	53
b) Mécanisme de résistance et gènes cibles (Tableau 1)	53
c) Fréquence et facteur de risque	57
d) Diagnostic et recommandations	61
e) Prise en charge thérapeutique.....	62
2. HSV.....	64
a) Mécanisme de résistance et gènes cibles (Tableaux 5 et 6)	64
a) Fréquence et facteur de risque	68
b) Diagnostic et recommandations	70
(1) Tests phénotypiques	70
(2) Tests génotypiques.....	70
c) Prise en charge thérapeutique.....	71
3. VZV.....	72
a) Mécanisme de résistance et gènes cibles (Tableau 8)	72
b) Fréquence et facteur de risque	73
c) Diagnostic et recommandations	74
d) Prise en charge thérapeutique.....	75
B. Présentation de l'approche génotypique.....	75
1. Sanger	75
2. NGS	77
C. Recommandations	79
1. En termes de couverture et de choix de gènes	79
a) CMV.....	79
(1) UL54 (Alain et al. 2004) (119).....	79
(2) UL97 (Hantz et al. 2010) (120).....	80
(3) UL56 (Champier et al. 2008) (121)	80
(4) UL27 (Hantz et al. 2009) (122).....	81
(5) UL89 (Champier et al. 2007) (123)	81
b) HSV.....	81
(1) UL23 (Burrel et al. 2010) (126)	81
(2) UL30 (Burrel et al. 2010) (126)	82
c) VZV	82
(1) ORF36 (Perrier et al. 2016) (128)	82
(2) ORF28 (Perrier et al. 2016) (128)	82
2. En termes de profondeur	82
D. Revue des techniques actuelles de NGS.....	86
1. CMV	86
a) Techniques utilisées par le CNR en France (CHU de Limoges)	86
b) Techniques utilisées par les laboratoires associées (Pitié-Salpêtrière).....	86
2. HSV.....	86
3. VZV.....	86
E. Bases de données.....	87
III. Données épidémiologiques : présentation des données locales.....	88
A. Matériels et méthodes.....	88
1. Conception de l'étude	88
2. Analyses statistiques.....	89
B. Résultats CMV.....	89

1.	Données démographiques	89
2.	Pathologies sous-jacentes.....	90
3.	Statut sérologique CMV (donneur/receveur)	90
4.	Caractéristiques de l'infection à CMV.....	90
5.	Charge virale au moment du diagnostic	90
6.	Analyse géotypique	92
C.	Résultats HSV.....	94
D.	Résultats VZV.....	97
IV.	<i>Discussion et conclusion.....</i>	99
A.	CMV.....	100
B.	HSV.....	102
C.	VZV.....	103
D.	Conclusion générale.....	103
V.	<i>Annexe</i>	106
A.	Outils de diagnostic complémentaires CMV	106
B.	Traitement de l'herpès génital – Recommandations HAS 2024	107
	<i>Bibliographie</i>	109

Table des figures

Figure 1 : Cibles antivirales dans le cycle de réplication du CMV.	25
Figure 2 : Physiopathologie de l'infection à CMV.	26
Figure 3 : Cycle de multiplication des HSV (40)	39
Figure 4 : Représentation schématique des domaines conservés de la phosphotransférase UL97 et localisation des principales substitutions d'acides aminés responsables de la résistance au GCV (28).	54
Figure 5 : Représentation schématique des domaines conservés de l'ADN polymérase UL54 du CMV et localisation des principales substitutions d'acide aminé responsables de résistance (28).	54
Figure 6 : Représentation schématique des domaines conservés de l'UL56 et localisation des principales substitutions d'acides aminés responsables de la résistance au LTV (79).....	55
Figure 7 : Algorithme décisionnel pour la prise en charge des infections à CMV suspectées d'être résistante aux antiviraux chez les patients SOT (24).	63
Figure 8 : Algorithme décisionnel pour le traitement des infections et des maladies à CMV résistantes ou réfractaires chez les patients HSCT (25).....	64
Figure 9 : Représentation schématique des différentes mutations connues et des domaines conservés de la TK des HSV-1 et HSV-2 (2).	65
Figure 10 : Algorithme proposé pour la prise en charge des infections à HSV résistantes aux analogues nucléosidiques, Piret et Boivin et al. (94).	72
Figure 11 : Schéma explicatif de la méthode de séquençage Sanger (92).	77
Figure 12 : Schéma descriptif du principe du NGS (Illumina®).	78
Figure 13 : Schéma explicatif du test de la DNase.	106
Figure 14 : Schéma explicatif de la recherche de l'ARNm viral	106
Figure 15 : Algorithme proposé pour le traitement des primo-infections d'herpès génital à HSV, HAS 2024 (158).....	107
Figure 16 : Algorithme proposé pour le traitement des récurrences d'herpès génital à HSV, HAS 2024 (158).....	108

Table des tableaux

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des fréquences de mutations de résistances aux antiviraux CMV sur les gènes UL97/UL54/UL56.	56
Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques des échantillons avec et sans résistance aux antiviraux détectée, Li et al 2023 (81).....	59
Tableau 3 : Comparaison des caractéristiques des échantillons avec et sans résistance aux antiviraux détectée, Tamzali et al. 2023, (75).....	60
Tableau 4 : Comparaison des caractéristiques des échantillons avec et sans résistance aux antiviraux détectée, Lopez-Aladid et al., 2017 (82).	60
Tableau 5 : Tableau récapitulatif des fréquences des mutations de résistances aux antiviraux HSV-1 sur les gènes UL23 et UL30. *Signification clinique incertaine.....	66
Tableau 6 : Tableau récapitulatif des fréquences des mutations de résistances aux antiviraux HSV-2 sur les gènes UL23 et UL30. *Signification clinique incertaine.....	67
Tableau 7 : Fréquence des résistances HSV à l'aciclovir entre 2002-2006 et 2007-2011, Frobert et al, 2014 (95)	69
Tableau 8 : Tableau récapitulatif des fréquences des mutations de résistances aux antiviraux VZV sur les gènes ORF36 et ORF28.	73

Tableau 9 : Critères retenus pour l'analyse des séquences et l'interprétation des résultats de NGS appliqués à la résistance au CMV, HSV et VZV.....	84
<i>Tableau 10 : Comparaison des patients entre le groupe résistant et le groupe sensible des patients ayant eu une recherche de mutations de résistance CMV aux antiviraux entre 2014 et 2024 au CHU de Lille.....</i>	<i>91</i>
Tableau 11 : Détails des mutations pour chaque patient avec une recherche de mutations de résistance CMV aux antiviraux positive pour le gène UL97/UL54/UL56 au CHU de Lille entre 2014 et 2024.....	93
Tableau 12 : Données des patients ayant une résistance aux antiviraux contre les HSV chez les patients ayant eu une recherche de mutations de résistance HSV aux antiviraux entre 2014 et 2024 au CHU de Lille.	95
Tableau 13 : Détails des mutations pour chaque patient avec une recherche de mutations de résistance HSV aux antiviraux positive pour le gène UL23 au CHU de Lille entre 2014 et 2024.	96
Tableau 14 : Données des patients ayant une résistance aux antiviraux contre le VZV chez les patients ayant	98
Tableau 15 : Détails des mutations pour chaque patient avec une recherche de mutations de résistance VZV aux antiviraux positive pour le gène ORF36 au CHU de Lille entre 2014 et 2024.	99
Tableau 16 : Tableau récapitulatif des mécanismes de résistance aux antiviraux (154).	105

Abréviations

CMV : Cytomégalovirus

HSV : Herpesvirus

VZV : Virus du zona et de la varicelle

GCV : Ganciclovir

VGCV : Valganciclovir

ACV : Aciclovir

VACV : Valaciclovir

FOS : Foscarnet

PCV : Penciclovir

FCV : Famciclovir

TFT : Trifluridine ou trifluorothymidine

BCV : Brincidofovir

CDV : Cidofovir

MBV : Maribavir

LTV : Letermovir

IC : Immunocompétents

ID : Immunodéprimés

SOT ou **TOS** : Transplanté d'organe solide

HSCT : Transplanté de cellules souches hématopoïétiques

CSH : Cellules souches hématopoïétique

PVVIH : Personnes vivant avec le VIH

PCR : Polymerase chain reaction

ADN : Acide désoxyribonucléique

LBA : Lavage ou liquide broncho-alvéolaire

LCR : Liquide céphalo-rachidien

EIA : Enzyme immuno-assay

ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay

GVH ou **GVHD** : maladie du greffon contre hôte

AVDR : Antécédent de réalisation d'un test de résistance antivirale

NGS : Séquençage de nouvelle génération

CV : Charge virale

PI : primo-infection

I. Généralités et actualités sur le CMV et les alphaherpesvirus

A. Cytomégalovirus (CMV)

1. Structure

Le cytomégalovirus humain (CMV) fait partie de la famille des *Herpesviridae*, et de la sous-famille des *Betaherpesvirinae*. C'est un virus mesurant 150 à 200 nm de diamètre, constitué de 4 éléments principaux : un génome, une capside icosaédrique, un tégument (ou matrice) et une enveloppe. Tous les herpesvirus sont très proches structurellement parlant et ont une morphologie similaire en microscopie électronique.

a) Le génome

Le CMV possède l'un des génomes les plus longs et les plus complexes de tous les *Herpesviridae*. Le génome du CMV est constitué d'une molécule d'ADN linéaire bicaténaire enroulée autour d'un noyau de protéines. Ce génome est constitué de 2 segments uniques : un segment long UL (*unique long*) et un segment court US (*unique short*). Chacun de ces segments est flanqué de séquences répétées et inversées en position interne par IRL (*Internal Repeat Long*) et IRS (*Internal Repeat Short*) et en position terminale par TRL (*Terminal Repeat Long*) et TRS (*Terminal Repeat Short*). Il existe 4 isomères de l'ADN viral en fonction de l'orientation des composants UL et US. Le génome de la souche de référence AD169 a été entièrement séquencé et mesure 229354 pb. Il contient plus de 208 gènes (1).

b) La capside

Cette capside icosaédrique, d'une taille d'environ 100 nm de diamètre comporte 162 capsomères (1 penton aux 12 sommets de l'icosaèdre et 150 hexons). Elle est constituée de différentes protéines notamment :

- La protéine pUL86 (aussi appelée protéine majeure de capside MCP), qui est le principal constituant de la structure des pentamères et des hexamères de la capside.
- De 2 protéines mineures :
 - pUL85 (ou mCP) qui permet l'ancrage de l'ADN à la capside
 - pUL46 (ou mC-BP) qui assure le maintien des pentamères et des hexamères

- La protéine pUL48,5 ou SCP et d'autres protéines dérivant du peptide de 708 acides aminés

c) Le tégument

Aussi appelé matrice, il s'intercale entre la capside et l'enveloppe. Il est constitué d'au moins 25 phosphoprotéines. Les plus importantes sont la ppUL32 (ou pp150) qui constitue 20% des protéines du virion, ainsi que la ppUL83 (ou pp65) et la ppUL82 (ou pp71).

d) L'enveloppe

L'enveloppe du CMV est constituée d'une bicouche lipidique qui dérive des membranes nucléaires et intracytoplasmiques de la cellule hôte. Elle comporte des glycoprotéines virales en particulier la gpUL55 (glycoprotéine B ou gB), la gpUL75 (ou gH), la gpUL100 (ou gM), la gpUL48 (ou gp48) ainsi que la gpUL115 (ou gL) qui sont les plus connues. La glycoprotéine gB est très immunogène et constitue donc une cible majeure pour les anticorps neutralisants ainsi que pour les lymphocytes T CD4 et CD8. De plus, cette enveloppe confère au virion une sensibilité particulière aux solvants des lipides, aux pH acides et à la chaleur. La congélation à des températures inférieures à -70°C permet de diminuer fortement le pouvoir infectieux du virus.

2. Cycle viral

Le cycle de réplication du virus est strictement humain et est représenté en figure 1 (2).

a) Attachement et pénétration du virus

Les récepteurs et les corécepteurs permettant l'interaction et l'attachement du CMV à ses cellules cibles sont encore incomplètement connus. Parmi ceux identifiés, citons les protéoglycanes d'héparane sulfate (HSPG), ainsi que le récepteur de l'EGF (epidermal growth factor), du PGF (platelet growth factor) et de l'intégrine $\alpha_5\beta_3$. La fixation non spécifique du virus au niveau des récepteurs permet l'activation du métabolisme cellulaire. Il existe 2 modes de pénétration du virus en fonction des complexes de glycoprotéines exprimés à la surface de la cellule infectée :

- Pour les cellules fibroblastiques : La pénétration cellulaire se fait généralement par l'intermédiaire du trimère gH/gL/gO, qui interagit avec le récepteur du PGF

et induit la fusion pH dépendante de l'enveloppe avec la membrane des cellules fibroblastiques, par l'intermédiaire de la gB (3).

- Pour les cellules endothéliales et épithéliales en particulier, la pénétration cellulaire se fait par macropinocytose à l'aide du complexe pentamérique gH/gL/pUL128/pUL130/pUL131 (4).

b) Décapsidation

Les protéines du tégument sont ensuite libérées dans le cytoplasme. La nucléocapside est transportée vers le noyau via les microtubules et l'ADN viral est alors libéré au niveau des pores nucléaires. À son arrivée dans le noyau, le virus séquestre les protéines cellulaires nécessaires à sa multiplication (2), en particulier les protéines pp65 (pUL83) et pp71 (pUL82) qui contribuent respectivement à la réplication virale et à la modification de l'expression des gènes. La protéine pp71 se combine alors avec la protéine cellulaire Daxx (Death domain-associated protein 6) impliquée dans la défense antivirale et dans l'inactivation de l'expression des gènes IE. Ce complexe se lie alors aux histones désacétylases (HDAC), ce qui entraîne la dégradation de la protéine Daxx pour permettre l'activation des gènes IE (5). Ces protéines IE (pIE) agissent comme activateurs et promeuvent l'expression des gènes précoces et tardifs via leur interaction avec des cytokines (6).

c) Transcription et traduction

La transcription et la traduction des gènes viraux se déroulent en 3 étapes successives : la phase très précoce ou « *Immediate Early* » (IE), la phase précoce ou « *Early* » (E) et la phase tardive ou « *Late* » (L).

(1) Phase très précoce IE

Les protéines IE sont impliquées dans la régulation de la transcription de gènes viraux et cellulaires. La phosphoprotéine du tégument ppUL82 apportée par le virion stimule la transcription des gènes IE dans les 4h suivant l'infection. Les gènes très précoces IE1 et IE2 sont transcrits à partir d'un promoteur-activateur (« *Major Immediate Early Promoter* » ou MIEP). Les protéines très précoces majeures comme l'IE86, l'IE72 et l'IE55, sont impliquées dans l'activation et la répression des gènes viraux et cellulaires et régulent leur propre expression. Leur expression permet le

détournement du métabolisme cellulaire en faveur de la réplication virale, l'inhibition de la réplication de l'ADN cellulaire et le déclenchement de la phase précoce.

(2) Phase précoce E

Cette phase correspond à la synthèse des protéines nécessaires à la réplication du génome viral. Le génome du CMV se circularise environ 4 heures après l'infection et s'ensuit la réplication de l'ADN selon le modèle du cercle roulant. Le CMV réplique son ADN dans le noyau de la cellule hôte via son propre complexe de réplication. La pUL97 contribue à plusieurs stades de l'infection virale, en particulier au moment de la phase de réplication mais aussi dans le contrôle du cycle cellulaire, de la maturation du virion et en influençant les gènes IE dans les premiers stades du cycle infectieux (7). L'initiation de la réplication de l'ADN viral est effectuée par pUL84 qui permet le déroulement de l'ADN par le complexe primase-hélicase (pUL70/pUL102/pUL105). La polymérase virale pUL54 à l'aide de sa protéine accessoire pUL44 initie ensuite la synthèse de l'ADN viral.

(3) Phase tardive L

Cette phase fait suite au début de la réplication de l'ADN viral et correspond à la synthèse des protéines structurales (capside, protéines de l'enveloppe...).

d) Assemblage et maturation

L'encapsidation du génome est réalisée par le complexe terminase (pUL56/pUL89/pUL51) au niveau du noyau (8). Ces nucléocapsides virales nouvellement formées sont transportées dans le cytoplasme. Les protéines du tégument sont quant à elles acquises dans le cytoplasme, et les protéines d'enveloppe sont acquises au niveau réticulum endoplasmique (RE) et/ou de l'appareil de Golgi par bourgeonnement. La maturation finale implique l'ajout de glycoprotéines spécifiques et la formation de particules virales infectieuses.

e) Libération des nouveaux virions

Les particules virales enveloppées sont transportées vers la membrane plasmique et sortent de la cellule par exocytose, c'est-à-dire, par fusion des membranes des vésicules intracellulaires avec celles de la cellule. Une part des

particules formées peuvent également être libérées après lyse de la cellule. Les nouveaux virions peuvent alors infecter d'autres cellules, perpétuant ainsi l'infection.

f) Particularité : Latence et réactivation virale

Comme tous les herpesvirus, le CMV peut établir une latence (persistance sans cycle productif) dans certaines cellules, principalement dans les monocytes/macrophages et les cellules progénitrices myéloïdes. Le génome viral persiste alors sous forme épisomal dans le noyau de la cellule infectée. Il peut se réactiver sous certaines conditions, en particulier en cas d'immunodépression, de stress cellulaire, ou d'inflammation, entraînant une nouvelle phase de réplication active.

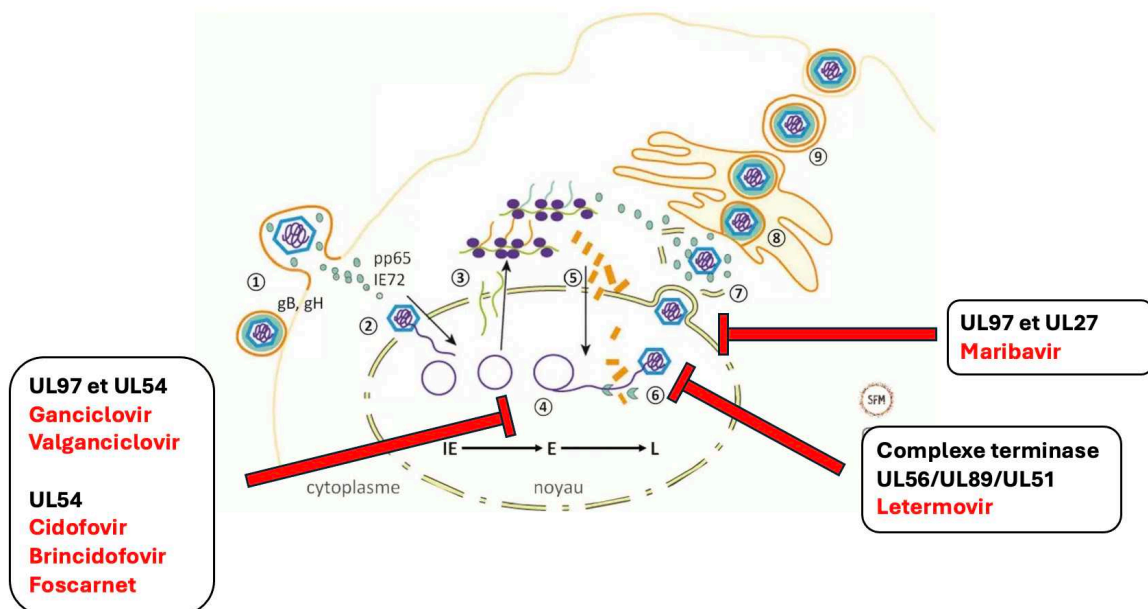


Figure 1 : Cibles antivirales dans le cycle de réplication du CMV.

3. Physiopathologie de l'infection

Le CMV se transmet par voie respiratoire (via les gouttelettes de sécrétions oro-pharyngées (9)), par contact direct avec l'ensemble des liquides biologiques contaminés (salive, urine, larmes) (10), par voie sexuelle, materno-fœtale et lors de l'allaitement (11). Il existe aussi une transmission par voie sanguine (via les transfusions sanguines) et via la transplantation d'organes qui est considérablement réduite depuis la déleucocytation des produits sanguins (12–14). Lors de la primo-infection, le virus dissémine par voie sanguine puis une fois les différents organes cibles atteints, il peut

infecter de nombreuses cellules, en particulier les fibroblastes, les cellules endothéliales, épithéliales, les monocytes et les macrophages, les cellules neuronales et même les hépatocytes (11). La diffusion se fait alors de cellule à cellule (10). Les cellules endothéliales sont impliquées dans la dissémination sanguine du virus. En effet, ces cellules constituent un site où le virus se réplique fortement, libérant des particules virales dans la circulation sanguine favorisant ainsi l'infection d'autres tissus.

L'existence de l'état de latence, décrit dans la figure 2, est responsable de la transmission iatrogène par transfusions de produits sanguins labiles non déleucocytés provenant de donneurs CMV positifs.

Lors d'un événement entraînant une modification de l'état immunitaire du patient (notamment une immunodépression, une stimulation immunitaire, ou une grossesse), une réactivation virale peut survenir, aboutissant à une excrétion virale dans différents liquides biologiques, constituant alors une source potentielle d'infection et entraînant éventuellement une virémie.

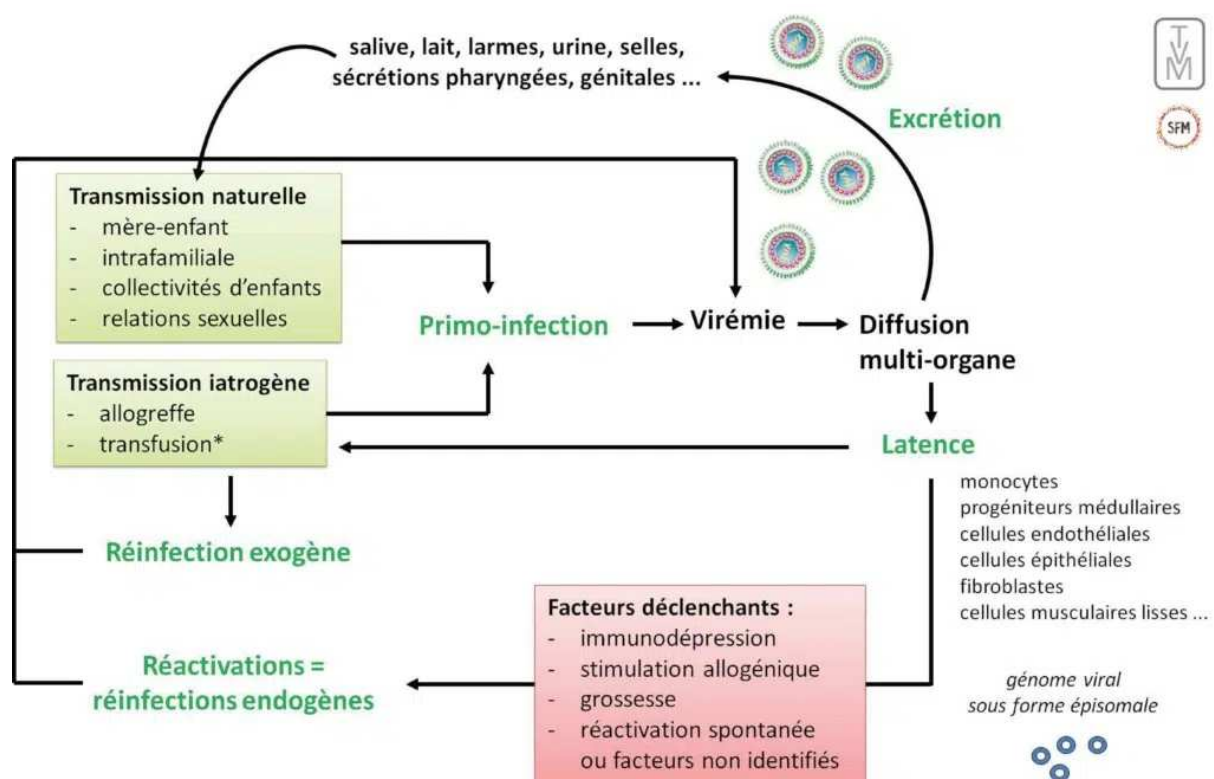


Figure 2 : Physiopathologie de l'infection à CMV.

4. Clinique et diagnostic

On distingue l'infection à CMV, c'est-à-dire, l'isolement du virus ou la détection de protéines virales (antigènes) ou d'acides nucléique dans un liquide corporel ou un échantillon de tissu, en l'absence de symptôme (15,16), de la maladie à CMV qui est définie par la présence de symptômes et/ou de signes cliniques appropriés, ainsi que la documentation du CMV dans le tissu de l'organe concerné par histopathologie, isolement du virus, immunohistochimie ou hybridation de l'acide nucléique (15,16).

a) *Chez l'individu immunocompétent*

Chez l'immunocompétent (IC), l'infection est asymptomatique dans 90% des cas (2). On dissocie, la primo-infection (au cours de laquelle la symptomatologie est plus fréquemment observée), de l'infection secondaire. L'incubation du virus dure généralement 30 jours (2). La forme symptomatique la plus typique retrouve une fièvre prolongée pouvant être sévère, des céphalées, des myalgies ainsi qu'une splénomégalie dans 1/3 des cas et plus rarement une hépatomégalie ou des adénopathies. De façon quasi constante on retrouve un syndrome mononucléosique avec une hyperlymphocytose dont $\geq 10\%$ de lymphocytes activés. La cytolyse hépatique est habituelle.

Généralement pour diagnostiquer ce type d'infection, une numération / formule sanguine est réalisée pour visualiser les lymphocytes hyperbasophiles. Une sérologie est réalisée pour rechercher les principales étiologies du syndrome mononucléosique. Elle permet d'évaluer le statut sérologique du patient *vis-à-vis* du CMV, en dosant les IgG spécifiques anti-CMV mais également les IgM anti-CMV. La détection d'IgM oriente vers une primo-infection, sans pouvoir l'assurer avec certitude (réactivation, réinfection, réaction croisée au sein des *Herpesviridae*, réaction non spécifique, activation polyclonale du système immunitaire, etc). Lorsque le diagnostic de primo-infection est indispensable, une PCR pour quantifier l'ADN viral CMV dans le sang peut être demandée.

b) *L'infection congénitale*

L'infection à CMV toucherait entre 1 et 4 % des femmes enceintes (FE) (17). C'est la cause la plus fréquente d'infection congénitale, avec une prévalence comprise entre 0,3 et 1 % (2,17–19). L'infection maternelle, tout comme celle du fœtus ou du

nouveau-né infecté, est le plus souvent asymptomatique. Lorsque l'infection congénitale est symptomatique, les principales séquelles fœtales rapportées sont un retard de croissance *in-utero*, un oligoamnios ou une anasarque foeto-placentaire, une microcéphalie, des calcifications périventriculaires, une hydrocéphalie évoquant une encéphalite, un épanchement péricardique, des images hyperéchogènes intra-abdominales (2) etc. A la naissance, des anomalies sont présentes chez 10 % des nouveau-nés (2). Chez moins de 5% des nouveau-nés infectés, on peut retrouver une maladie des inclusions cytomégamiques généralisée, qui se compose d'une infection généralisée avec microcéphalie, hépatosplénomégalie, atteinte hématologique et rénale. Ces atteintes s'accompagnent d'une mortalité de 30 % à court et moyen terme, ou pour les enfants survivants de séquelles neurologiques dans 90 % des cas (2). Pour les nouveau-nés infectés normaux à la naissance, 10 % développeront des séquelles en particulier une surdité et un retard psychomoteur (2).

En France, le dépistage systématique de l'infection à CMV chez la femme enceinte est recommandé depuis juin 2025 (17). Il est réalisé au premier trimestre de la grossesse, chez les femmes enceintes séronégatives ou de statut sérologique inconnu. Le diagnostic de primo-infection à CMV pendant la grossesse peut être porté avec certitude en cas d'apparition des anticorps de type IgG chez une femme préalablement séronégative avant la grossesse (recherche d'IgG négative), c'est ce que l'on appelle une séroconversion. Une PCR sur sang maternel peut être réalisée pour confirmer l'infection à CMV (= examen de référence).

Une primo-infection maternelle ne signifie pas forcément le passage chez le fœtus. Pour diagnostiquer une infection congénitale à CMV, une amniocentèse, suivie d'une PCR CMV sur liquide amniotique est nécessaire. Le diagnostic prénatal doit toujours être confirmé au cours des premières semaines après la naissance, en recherchant le virus par PCR dans la salive et/ou l'urine du nouveau-né (diagnostic néonatal) (17).

c) Chez l'individu immunodéprimé

Chez les patients immunodéprimés (ID), le CMV représente un défi diagnostique et thérapeutique majeur du fait de son impact en termes de morbidité et de mortalité.

Le suivi des patients repose sur des techniques de diagnostic direct (biologie moléculaire). La recherche de l'ADN viral dans les différents sites biologiques (sang

total EDTA, salive, urine, LBA, autres matrices) est recommandée. Il convient de distinguer une infection virale, d'un simple blip défini comme une charge virale (CV) CMV faible (<1000 UI/mL), détectée de manière ponctuelle ou sur une durée très courte c'est-à-dire sur 1 à 3 prélèvements, et sans augmentation significative de la CV (20,21). En parallèle de l'évolution de la cinétique de la CV, l'évaluation de la réponse immunitaire anti-CMV semble être prédictive des patients à risque augmenté de maladie à CMV en post-greffe. Le suivi immunologique repose à la fois sur :

- L'évaluation de la réponse humorale B. Ainsi les stratégies actuelles de stratification du risque sont basées notamment sur la sérologie.
- Sur le suivi de la réponse cellulaire T spécifique du CMV, qui semblerait pouvoir prédire les patients à risque accru de maladie à CMV post-greffe (10).

(1) Transplantation d'organe solide (TOS)

Les complications infectieuses constituent la première cause de mortalité la première année post-TOS. Parmi les complications infectieuses, l'infection à CMV est la virose opportuniste la plus fréquente et représente une cause majeure de morbidité (10). Le statut sérologique de receveur avant la greffe détermine l'incidence et la sévérité de la maladie. La primo-infection survient généralement lorsqu'il y a une incompatibilité CMV, c'est-à-dire quand un patient séronégatif au CMV reçoit un organe d'un donneur séropositif au CMV (D+/R-) et constitue le risque le plus important de survenue de maladie à CMV après greffe (22). L'infection secondaire, quant à elle, a lieu chez le patient séropositif au CMV (R+). Il peut s'agir soit d'une réactivation d'infection latente (D-/R+), soit d'une réinfection par une souche virale différente et transmise par le greffon du donneur (D+/R+) (23).

Après une transplantation d'organe solide (SOT), en l'absence de traitement préventif, l'infection à CMV survient généralement dans les 3 premiers mois après la greffe (10,11). Dans cette population, la localisation des manifestations cliniques peut varier en fonction du type d'organe greffé. Habituellement la maladie est associée à l'atteinte de l'organe transplanté (hépatite cytolytique ou cholangite après transplantation hépatique, pneumopathie interstitielle après greffe pulmonaire ou greffe cœur-poumon) ou d'autres organes (colite, gastrite, pancréatite, néphrite, chorioretinite ou plus rarement méningoencéphalite). D'autres manifestations plus difficilement perceptibles cliniquement, telles que la majoration du risque de rejet de

greffe ou l'augmentation du risque d'infections opportunistes (10,11,22) sont attribuables aux effets indirects du CMV (effets pro-inflammatoires et immunodépresseur induit par le CMV).

Chez les patients greffés, une sérologie de dépistage pré-greffe est recommandée chez le receveur et le donneur, en recherchant les IgG (le dosage des IgM n'est pas recommandé) (10). Les recommandations préconisent d'évaluer le statut sérologique du CMV à la fois au moment du diagnostic de la maladie sous-jacente et à proximité de la transplantation en cas de séronégativité du receveur. Cela permet de connaître le statut immunitaire et le risque d'infection ou de réactivation *vis-à-vis* du CMV du sujet greffé, et de pouvoir mettre en place une prophylaxie anti-CMV. En cas de résultat équivoque, il faut toujours considérer le groupe à risque le plus élevé (24).

(2) Greffe de cellules souches hématopoïétiques (HSCT)

Les patients receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont aussi une population à risque. Il existe plusieurs facteurs de risque, notamment le statut séropositif *vis-à-vis* du CMV du receveur (R+), l'intensité du déficit immunitaire et la survenue d'une maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) (10). Ces patients peuvent développer des manifestations cliniques qui se caractérisent le plus souvent par une atteinte gastro-intestinale à CMV, mais aussi une pneumopathie interstitielle à CMV et un risque de rejet de greffe avec la GVHD ainsi que l'augmentation du risque d'infections opportunistes.

Les recommandations préconisent d'évaluer le statut sérologique *vis-à-vis* du CMV du donneur et du receveur en dosant les IgG (le dosage des IgM n'est pas recommandé), à la fois au moment du diagnostic de la maladie sous-jacente et avant l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, et d'y associer une PCR CMV dans le sang (25) .

La surveillance des receveurs de HSCT allogéniques CMV D+/R+, D-/R+ et D+/R- ainsi que les patients recevant une prophylaxie par létermovir (LTV) doit se faire par quantification de la CV dans le plasma ou le sang total. En ce qui concerne les patients CMV D-/R-, une surveillance moins fréquente peut être envisagée.

(3) Personnes vivant avec le VIH (PVVIH)

Chez les PVVIH, les manifestations cliniques surviennent généralement lorsque le nombre de lymphocytes T CD4⁺ est < 50/mm³. Les principales manifestations décrites sont la chorioretinite à CMV, les atteintes gastro-intestinales (notamment les œsophagites, les hépatites et les colites), les atteintes neurologiques (encéphalites en particulier), la pneumopathie interstitielle (11).

d) Outils diagnostiques

(1) Techniques indirectes

L'infection à CMV peut être détectée indirectement par sérologie, objectivant alors la mise en évidence de la réaction immunitaire de l'hôte face au virus. Les techniques les plus répandues sont de type immunoenzymatiques (EIA « enzyme immuno-assay » ou ELISA « enzyme-linked immunosorbent assay ») et permettent la détection des isotypes IgG et IgM. Les IgM sont présentes lors de la primo-infection mais peuvent également réapparaître en cas de réinfection ou réactivation. Le dosage des IgG permet de définir le statut sérologique du patient, et de mettre en évidence une éventuelle séroconversion. Dans certaines situations notamment chez la FE, une mesure de l'avidité des IgG peut permettre de préciser la survenue de la séroconversion.

(2) Techniques directes

L'isolement viral dans le sang ou les urines par cultures sur des fibroblastes embryonnaires humains (MRC-5) est une technique lente abandonnée en routine et réservée aux laboratoires spécialisés. Cette technique permet l'isolement des souches pour étude épidémiologique ou antivirogramme, avec visualisation de foyers d'effet cytopathique (ECP) en « banc de poissons ».

La recherche directe du CMV constitue l'examen de référence pour le diagnostic d'une infection à CMV. Elle est également à privilégier pour le suivi de la virémie, en particulier chez les patients immunodéprimés. La détection de l'ADN viral du CMV est réalisée grâce à des techniques d'amplification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel permettant la mesure et la quantification de la CV. Cette recherche de la CV CMV peut se faire sur sang total EDTA, plasma ou sérum. La matrice la plus largement utilisée en France est le sang total sur EDTA, car ce dernier permet généralement de détecter plus précocement l'ADN du CMV que sur plasma

(10,26). Toutefois l'utilisation des 2 matrices est possible, mais il est recommandé de réaliser le suivi d'un patient donné toujours avec la même matrice et dans la mesure du possible dans le même laboratoire au vu du manque de standardisation entre les techniques (10,24,27). L'introduction récente du LTV a montré les limites de la mesure de la mesure de la CV CMV, comme marqueur fiable d'une réplication virale active. De par son mécanisme d'action (inhibition du complexe terminase), le LTV induit le relargage d'ADN du CMV nu libre (non infectieux), pouvant conduire à une mauvaise interprétation du résultat de la CV. Le déploiement récent de méthodes additionnelles permettant d'attester de la réplication virale est alors nécessaire, comme le test de la DNase et la recherche de l'ARNm CMV (Annexe A).

5. Traitement et cinétique de décroissance attendue de la charge virale (CV)

Différentes molécules anti-CMV sont disponibles pour le traitement et la prophylaxie des infections à CMV.

- Les inhibiteurs de l'ADN polymérase pUL54 :
 - Analogues nucléosidiques et nucléotidiques = le ganciclovir [GCV] (Cymevan®) et sa prodrogue (le valganciclovir [VGCV] (Rovalcyte®)), le cidofovir [CDV] (Vistide®) et sa prodrogue (le brincidofovir (BCV)). Pour être actifs, ils doivent être phosphorylés par des kinases cellulaires, la 1^{ère} phosphorylation du GCV étant toutefois assurée par la phosphotransférase virale pUL97. La forme triphosphate du GCV ou la forme biphosphate du CDV entre en compétition avec les désoxyguanosines triphosphates naturels et stoppe l'élongation de la chaîne d'ADN viral. Ce sont des terminateurs de chaînes (2,28).
 - Le foscarnet [FOS] (Foscavir®) : directement actif, il se fixe de façon réversible sur le site de liaison au pyrophosphate de l'enzyme virale (2,29).
- Inhibiteur de la phosphotransférase virale pUL97 = le maribavir [MBV] (Livtencity®). Il agit à différents niveaux du cycle de multiplication virale notamment au niveau de la protéines accessoire pUL44 de l'ADN polymérase virale pUL54. Il inhibe la réplication de l'ADN viral, l'encapsidation des virions et empêche le virus de sortir du noyau (29,30).

- Inhibiteur de la terminase virale pUL56 = le létermovir [LTV] (Prevymis®). C'est un benzimidazolé qui inhibe l'enzyme responsable du clivage et de l'encapsidation du génome viral (29,30).
- Il existe d'autres molécules présentant une certaine activité anti-CMV dont l'usage est détourné et dont l'efficacité n'est pas démontrée, comme l'artésunate (anti-paludéen), le léflunomide (anti-inflammatoire) et l'évérolimus (immunosuppresseur inhibiteur de mTOR).

Les traitements anti-CMV concernent surtout les patients immunodéprimés. Dans cette population et en l'absence de traitement le temps de doublement de la CV CMV est compris entre 1 et 2 jours (31). Le temps de demi-vie de décroissance sous traitement antiviral CMV est également compris entre 1 et 2 jours (32). Les objectifs de décroissance de la CV sous traitement par GCV ou VGCV sont une décroissance de 0,5 log à 1log / semaine (rebond possible J8-J15), avec une négativation de la CV à J21.

La cinétique de décroissance de la CV CMV a été analysée à partir de 92 patients provenant de l'étude VICTOR (33) (cohortes de patients transplantés d'organe solide, avec une maladie à CMV, traités par VGCV oral ou par GCV IV). Cela a permis de modéliser la cinétique de décroissance de la CV et d'identifier 4 profils cinétiques distincts :

- Le profil « biphasique », où l'on retrouve un déclin rapide lors de la première phase J0-J3, suivi d'un déclin plus lent lors de la seconde phase J3-J21.
- Le modèle « bosse », où l'on retrouve un rebond transitoire entre J3-J7, J7-J14 ou J3-J14 avant une nouvelle phase de déclin.
- Le modèle « retard », où l'on retrouve une phase de déclin lente (entre J0-J3 ou J0-J7), suivi d'un second déclin légèrement plus rapide que lors de la première phase.
- Enfin le modèle « rebond », où une première phase de déclin rapide est suivie d'un rebond persistant entre J7-J21.

Concernant la prévention de l'infection à CMV, deux stratégies efficaces coexistent : (i) D'une part le traitement prophylactique qui vise à prévenir la survenue de l'infection à CMV, notamment chez les receveurs d'organes solides, (le plus largement utilisé) (ii) d'autre part, le traitement préemptif qui vise plutôt à prévenir

l'apparition de manifestations cliniques de maladie à CMV chez le receveur qui a développé une infection active à CMV. Ce traitement est entrepris lorsqu'une infection active a été diagnostiquée par PCR avec un risque de développer à court terme une maladie à CMV (10).

Le traitement curatif de la maladie à CMV repose, en première intention, sur l'administration de VGCV per os à la dose de 900 mg deux fois par jour, dans les formes sans gravité et en l'absence de contre-indication à la voie orale. En cas d'infection sévère ou chez les patients présentant une malabsorption digestive, notamment dans un contexte de GvHD intestinal, le GCV intraveineux est préféré, à la posologie de 10 mg/kg/jour (25). En seconde intention, plusieurs alternatives sont disponibles. Le FOS, administré par voie intraveineuse, constitue une option efficace, et peut être utilisé en première ligne chez les patients HSCT (25). Le CDV, bien que moins fréquemment utilisé, peut également être envisagé, bien qu'il expose à une toxicité rénale importante et nécessite des précautions d'emploi particulières. Enfin, le MBV représente une alternative thérapeutique innovante chez les patients présentant une maladie à CMV réfractaire ou résistante aux antiviraux de première ligne. Bien toléré sur le plan hématologique, son indication est réservée aux situations complexes, bien qu'il ne soit pas recommandé en cas d'atteinte du système nerveux central ou oculaire, en raison de sa faible pénétration dans ces compartiments.

a) Stratégies préventives des infections à CMV chez le patient SOT

Chez les patients ayant bénéficié d'une transplantation d'organe solide (SOT), l'infection à CMV demeure une complication fréquente et potentiellement grave, justifiant une stratégie de prévention rigoureuse. Deux approches sont actuellement admises : le traitement prophylactique et le traitement préemptif (24). Le choix entre ces deux options dépend du statut sérologique du donneur et du receveur, du type d'organe greffé ainsi que de l'évaluation du risque immunovirologique propre à chaque patient.

La prophylaxie repose classiquement sur l'administration de VGCV à la dose de 450 mg deux fois par jour. Cependant, le LTV, a démontré une non-infériorité par rapport au VGCV, tout en offrant un profil de tolérance hématologique plus favorable, notamment en réduisant significativement le risque de neutropénie. Son utilisation est désormais recommandée, en particulier chez les receveurs de greffe rénale présentant

un statut donneur positif/receveur négatif (D+/R-), ou chez les patients ne tolérant pas le VGCV.

La durée de la prophylaxie varie selon le niveau de risque. En l'absence de risque identifié (D-/R-), une simple surveillance est recommandée. Dans les cas à risque intermédiaire (R+) ou élevé (D+/R-) la prophylaxie est proposée pour une période de 3 à 6 mois et prolongée jusqu'à 12 mois chez les receveurs de greffe pulmonaire (D+/R-), où le risque de réactivation est particulièrement élevé.

Dans certaines situations, l'immunomonitoring par des tests tels que l'ELIspot® ou le QuantiFERON®-CMV permet d'affiner la stratégie de prévention, notamment en évaluant la réponse immunitaire cellulaire antivirale. Ce recours est particulièrement utile chez les receveurs R+ de greffe rénale, pour guider la durée de la prophylaxie. En revanche, cette approche n'est pas recommandée chez les patients D+/R-, en raison de leur risque élevé de réactivation même en l'absence de réponse détectable (34).

La surveillance virologique par PCR n'est pas recommandée chez les patients sous prophylaxie, mais elle demeure incontournable en cas de stratégie préemptive, avec des prélèvements hebdomadaires réalisés sur la même matrice, au même laboratoire, avec des résultats exprimés en log UI/mL. Enfin, en cas d'infection à CMV, le traitement antiviral doit être poursuivi pendant un minimum de deux semaines, et ce jusqu'à obtention d'une guérison clinique associée à une négativation virologique, définie par deux PCR successives négatives à une semaine d'intervalle, ou une PCR ultrasensible strictement inférieure au seuil de quantification de 200 UI/mL.

b) Stratégies préventives des infections à CMV chez le patient HSCT

Chez les patients ayant reçu une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, la stratégie de prise en charge du risque lié au cytomégalovirus repose exclusivement sur la prophylaxie antivirale primaire (25). Cette approche est recommandée tant chez l'adulte qu'en pédiatrie, et s'appuie sur l'administration du LTV (35).

L'instauration du traitement doit être précoce, idéalement dans le premier mois suivant la greffe, afin de prévenir les réplifications virales précoces, fréquentes dès les premières semaines post-greffe qui pourraient compromettre l'efficacité de la prophylaxie. La durée du traitement est généralement de 100 jours après la greffe,

mais elle peut être prolongée au-delà de 200 jours chez les patients présentant une immunodépression persistante et un risque élevé de maladie à CMV.

Dans certains cas, une prophylaxie secondaire par LTV peut être envisagée. Celle-ci peut être proposée à l'issue d'un épisode d'infection à CMV survenu après la fin de la prophylaxie primaire, mais également après le traitement d'une réactivation CMV chez les patients les plus à risque, ou chez ceux n'ayant pas reçu de prophylaxie initiale. Il convient toutefois de souligner que le LTV n'est pas indiqué pour le traitement curatif des infections à CMV, en raison d'un risque élevé de sélection de résistances et de l'absence de concentrations optimales dans les compartiments ciblés pouvant entraîner un sous dosage.

L'utilisation de l'immunomonitoring pour adapter la durée de la prophylaxie, n'est à ce jour, pas recommandé. En parallèle, une surveillance virologique hebdomadaire par PCR est recommandée chez tous les patients, à l'exception des patients D-/R-, pour lesquels le risque est considéré comme négligeable. Cette surveillance doit être maintenue jusqu'à J100, et prolongée de trois mois supplémentaires en présence de facteurs de risque tels qu'un mismatch donneur/receveur, une greffe de sang de cordon, une greffe haplo-identique ou l'administration de corticoïdes à forte dose.

La détection de blips viraux (réplication transitoire et faible) ne doit pas conduire à l'interruption prématurée de la prophylaxie, en l'absence de signes cliniques ou de réplication significative.

En cas de réplication virale avérée, la stratégie de traitement repose sur une approche préemptive. En première ligne, le GCV ou le FOS intraveineux sont les molécules de référence. Le VGCV peut être utilisé en alternative, sauf chez les patients présentant une atteinte digestive par GVHD, en raison du risque de malabsorption. En seconde intention, le MBV peut constituer une option pertinente, notamment chez les patients souffrant de neutropénie ou d'insuffisance rénale, lorsque l'utilisation du GCV ou du FOS est contre-indiquée. Il est important de noter que le MBV n'est pas recommandé en cas d'atteinte du système nerveux central ou oculaire, en raison de sa faible pénétration dans ces compartiments. Bien que ce médicament ait démontré une bonne efficacité antivirale, les études disponibles n'ont pas permis d'établir une non-infériorité par rapport au VGCV. Toutefois, son profil de tolérance, notamment sur le plan hématologique, est nettement plus favorable, avec une incidence réduite de neutropénie (36).

B. Herpes-simplex virus (HSV)

1. Structure

L'herpès-simplex virus (HSV) fait partie de la famille des *Herpesviridae*, et de la sous-famille des *alphaherpesvirinae*. C'est un virus mesurant 120 à 200 nm de diamètre et est également constitué de 4 éléments principaux : un génome, une capside icosaédrique, un tégument (ou matrice), une enveloppe. Sa structure est très ressemblante à celle du CMV.

Ce virus possède un génome constitué d'une molécule d'ADN linéaire double brin. Ce génome se compose de deux segments uniques : un segment long (UL, *Unique Long*) et un segment court (US, *Unique Short*). Chacun de ces segments est encadré par des séquences répétées et inversées : les répétitions internes (IRL pour *Internal Repeat Long* et IRS pour *Internal Repeat Short*) et les répétitions terminales (TRL pour *Terminal Repeat Long* et TRS pour *Terminal Repeat Short*). L'ADN viral a une taille d'environ 153kb et code pour >80 gènes (37). L'homologie de séquence entre HSV-1 et HSV-2 est d'environ 50 %, ce qui témoigne d'une parenté génétique partielle entre les deux.

La capside virale, de forme icosaédrique, mesure environ 100nm de diamètre. Elle est composée de 150 hexons, répartis sur les faces et les arêtes, et de 12 pentons situés aux sommets, dont l'un, dit « portail », joue un rôle clé dans l'encapsidation de l'ADN viral.

Ensuite, entre la capside et l'enveloppe se trouve le tégument, une matrice fibrillaire amorphe contenant des protéines virales essentielles à l'initiation de la réplication virale dès l'entrée du virus dans la cellule.

L'enveloppe du virus est formée d'une bicouche lipidique, acquise par bourgeonnement à partir de la lamelle interne de la membrane nucléaire ainsi que des membranes intracytoplasmiques de la cellule hôte. À sa surface, on retrouve des glycoprotéines virales, certaines communes aux deux types de HSV (comme la glycoprotéine gD), d'autres spécifiques à l'un ou l'autre (comme gG1 pour HSV-1 et gG2 pour HSV-2) (2).

2. Cycle viral

Tout comme la structure du virus, le cycle de multiplication viral du HSV est très proche de celui du CMV. Il est présenté Figure 3.

Le cycle viral débute par l'entrée du virus dans la cellule, avec l'attachement aux récepteurs cellulaires et la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cytoplasmique. Cette phase nécessite l'intervention de glycoprotéines virales majeures, la gD, la gB, le complexe hétérodimérique gH/gL ainsi que la gC. S'ensuit une décapsidation au niveau des pores nucléaires, accompagnée de la circularisation du génome viral.

La première phase d'expression génique concerne la transcription et la traduction des gènes très précoces (IE, *immediate early*). Les protéines IE jouent un rôle clé dans la régulation de la transcription des gènes viraux et cellulaires. Vient ensuite la transcription et la traduction des gènes précoces (E, *early*), codant pour des protéines E nécessaires à la réplication du génome viral. La réplication de l'ADN viral s'effectue selon le modèle du cercle roulant, avec la formation de concatémères de génomes viraux, à l'aide de l'ADN polymérase UL30 et du complexe hélicase-primase UL5/UL52. La thymidine kinase UL23, quant à elle, a un rôle important dans la réplication virale des cellules en quiescence en permettant de garder un pool suffisant de désoxynucléotides indispensable à la réplication de l'ADN viral (2,38). Une fois la réplication du génome viral amorcée, on observe l'expression des gènes tardifs (L, *late*), qui permettent la synthèse des protéines structurales, telles que celles de la capside et de l'enveloppe. Les concatémères sont ensuite clivés, et le génome est encapsidé grâce au complexe terminase UL15/UL28/UL33. La nucléocapside acquiert d'abord une enveloppe transitoire, qui est ensuite perdue (désenveloppement), avant d'acquérir son enveloppe définitive, enrichie en glycoprotéines virales, au niveau du réticulum endoplasmique (RE) et/ou de l'appareil de Golgi. Enfin, les virions matures sont libérés de la cellule par fusion des vésicules intracellulaires avec la membrane plasmique (2,38).

Tout comme le CMV, le HSV peut se mettre en état de latence au niveau des corps cellulaires des neurones sensitifs. Généralement pour HSV-1, la latence se situe au niveau du ganglion trigéminal ou ganglion de Gasser (zone orofaciale) et pour HSV-2 au niveau du ganglion sacré (zone génitale) (39).

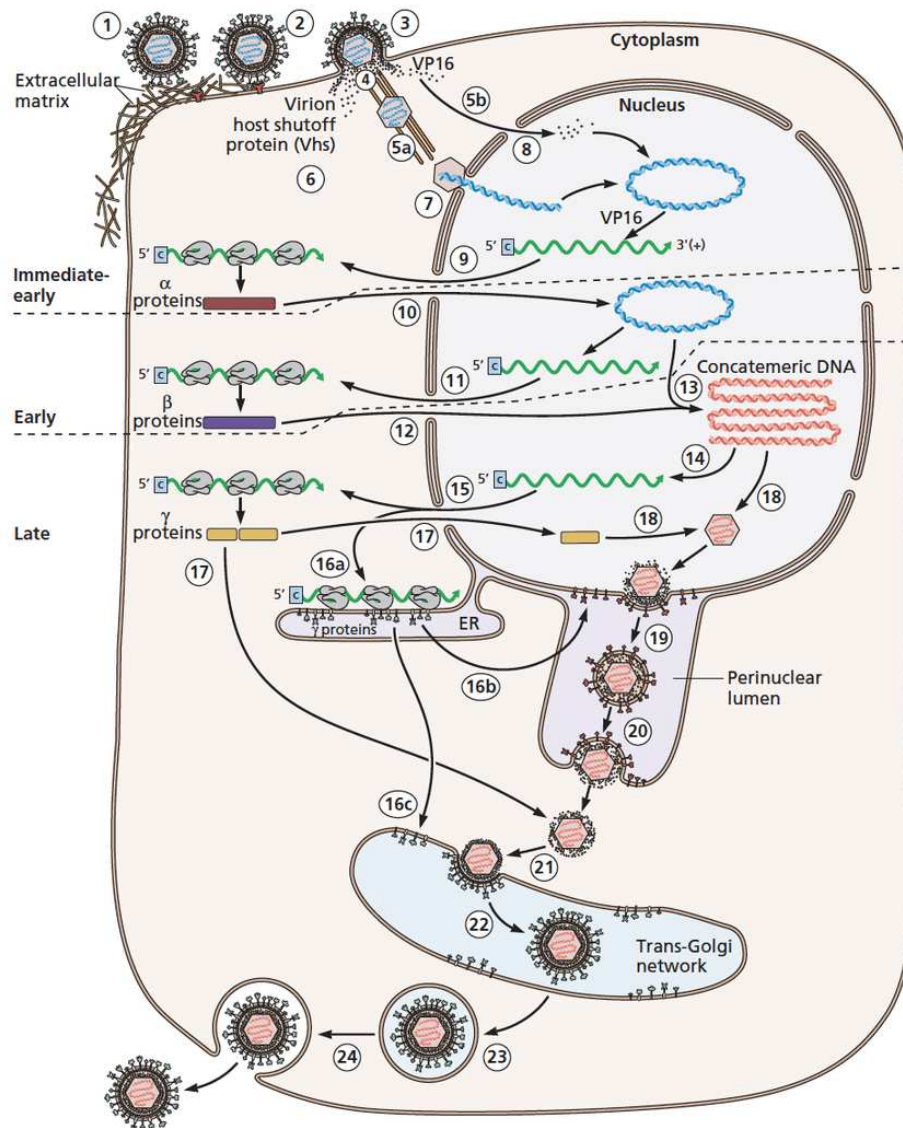


Figure 3 : Cycle de multiplication des HSV (40)

3. Physiopathologie

L'HSV est un virus strictement humain, fragile. Il se transmet principalement lors de contacts rapprochés avec les sécrétions, les muqueuses infectées, ou avec des lésions cutanées avec un sujet excréant du virus à l'occasion d'une primo-infection, d'une récurrence ou d'une excrétion virale asymptomatique. La transmission peut-être nosocomiale, impliquant l'organe donneur chez les transplantés d'organes solides (foie, rein) (41). Plus rarement la transmission peut se faire par du matériel de donneur infecté.

Le risque de transmission est maximal en présence de lésions évolutives. La transmission interhumaine se fait alors le plus souvent via la salive, au cours de contacts avec les lésions, lors de rapports sexuels non protégés ou lors de

l'accouchement. HSV-1 se transmet chez l'enfant principalement par la salive et le liquide de vésicules oro-labiales puisqu'il est majoritairement présent au niveau buccal. HSV-2 est quant à lui préférentiellement retrouvé au niveau génital. 85,7 % des infections HSV chez PVVIH sont dues à HSV-2, contre 11,4 % pour HSV-1, indiquant une dominance claire de la voie sexuelle pour HSV-2 (42). La séroprévalence globale dans la population pour HSV-1 est de 67 % (43) et pour HSV-2 environ 11,3 % (44).

Il existe 2 types d'infection au sein des cellules de l'hôte : une infection lytique et une infection latente. L'infection lytique correspond au cycle de multiplication classique du virus et a généralement lieu dans les cellules épithéliales lors de la primo-infection. Les particules virales produites infectent les terminaisons nerveuses, puis les capsides virales gagnent par voie neuronale centripète le corps cellulaire du neurone sensitif innervant la région infectée avant l'établissement de l'infection latente. Pendant la phase de latence, le génome viral persiste à vie dans le noyau des neurones sous forme d'ADN épisomal (forme circularisée de l'ADN viral) sans synthèse de protéines virales. Ce programme de latence, entrecoupé de phases de cycle lytique, dont le contrôle est de nature immunologique (lymphocytes T) et épigénétique (organisation de l'ADN), permet au virus d'échapper à la réponse immune de l'hôte et à l'action des antiviraux. Au cours de l'infection latente, il n'y a ni réplication d'ADN viral, ni expression de protéines virales mais transcription d'ARN viraux antisens les ARN LAT (latency-associated transcript). Différents stimuli entraînent une réactivation de la multiplication virale. Dans l'exemple d'une infection latente à HSV-1 au niveau oral, le virus regagne par voie neuronale centrifuge la périphérie, où il donne, sur le territoire cutanéomuqueux de la primo-infection, une réinfection endogène symptomatique (récurrence clinique) ou une simple excrétion virale asymptomatique (simple excrétion salivaire), mais transmissible à un autre individu pérennisant ainsi son maintien dans la population humaine.

4. Clinique et diagnostic

La diversité des manifestations cliniques de l'HSV traduit la complexité de l'infection et la variabilité de sa présentation selon le type viral, l'âge et le statut immunitaire de l'hôte. L'HSV-1 est généralement responsable d'infections oro-faciales, se manifestant typiquement par une gingivostomatite aiguë chez l'enfant ou des poussées d'herpès labial récidivant chez l'adulte. L'HSV-2 est rarement impliqué dans

les formes cliniques d'herpès oral malgré une transmission lors de rapports génito-oraux. HSV-2 est surtout impliqué dans les infections génitales, même si la répartition tend à l'équilibre entre HSV-1 et HSV-2 concernant les formes génitales. Sur le plan clinique, l'herpès génital débute souvent par une primo-infection symptomatique caractérisée par des lésions vésiculeuses douloureuses, des érosions, un prurit et des signes systémiques (fièvre, adénopathies), mais il peut aussi passer inaperçu. Les récurrences, plus fréquentes avec HSV-2, sont généralement moins sévères qu'avec HSV-1. HSV-1 est également responsable de la majorité des atteintes oculaires, telles que la kératite herpétique, qui débute généralement par une conjonctivite folliculaire (45). Chez les patients immunodéprimés, les manifestations peuvent être atypiques, étendues ou prolongées. Enfin, des formes neurologiques sévères, telles que l'encéphalite herpétique, notamment dues à HSV-1, constituent des urgences diagnostiques et thérapeutiques. On estime à 300 cas par an le nombre d'encéphalite herpétique, en France avec un pic de fréquence vers 50 ans. HSV-1 est la première cause d'encéphalite virale (39). Sur le plan clinique elle se caractérise par une encéphalite aiguë nécrosante et hémorragique, typiquement unilatérale, à localisation temporale ou temporo-frontale. En l'absence de traitement approprié, le taux de mortalité de l'encéphalite à HSV est de 70% avec des séquelles neurologiques sévères pour la majorité des survivants (46,47).

Contrairement à l'adulte, les atteintes néonatales sont rarement asymptomatiques. Le taux global d'herpès néonatal est estimé à 10 pour 100 000 naissances vivantes au niveau mondial (48). La transmission se fait généralement au cours de l'accouchement par contact direct avec les lésions génitales et/ou les sécrétions vaginales maternelles contaminées et se traduit sur le plan clinique par des formes généralement cutanées, buccales ou oculaires. Des formes plus graves cutanéomuqueuses, une maladie du SNC voire des formes disséminées peuvent survenir dans certains cas, entraînant des séquelles neurologiques avec un taux de mortalité d'environ 30 % malgré l'instauration d'un traitement antiviral précoce (49). Ce taux monte à 60 % en l'absence de traitement antiviral (48). Ainsi, la reconnaissance de la clinique herpétique, souvent polymorphe, est essentielle pour une prise en charge rapide et adaptée, en particulier dans les contextes à risque.

En général, le diagnostic clinique est suffisant devant les lésions herpétiques labiales, dont l'aspect est typique. En revanche, les lésions génitales, souvent récidivantes et parfois atypiques, justifient fréquemment une confirmation par des

examens biologiques. Le recours à un diagnostic biologique est également recommandé dans les formes sévères, en cas de résistance au traitement antiviral, ainsi que chez la femme enceinte. Ce diagnostic repose sur la détection directe du virus HSV dans des prélèvements adaptés au site de l'infection. Selon la localisation, les échantillons peuvent inclure un écouvillonnage des lésions cutanéomuqueuses, mais aussi du liquide céphalo-spinal (LCS), du liquide broncho-alvéolaire (LBA), du sang, des prélèvements oculaires ou encore des biopsies. Par ailleurs, le dépistage sérologique peut être utile pour connaître le statut immunitaire d'un individu *vis-à-vis* des HSV.

Aujourd'hui, la technique de PCR en temps réel constitue l'examen de référence pour la détection du génome viral dans le diagnostic de la méningo-encéphalite herpétique, permettant non seulement d'identifier le virus mais aussi de distinguer HSV-1 de HSV-2, et de quantifier la CV présente dans les échantillons biologiques.

La sérologie reste un outil complémentaire utile pour évaluer une infection herpétique, notamment en dehors des épisodes aigus. La détection des IgG communes aux HSV ou spécifiques de HSV-1 et HSV-2 permet d'établir le statut sérologique d'un individu, ces anticorps persistant généralement à vie après une primo-infection. L'infection par l'un des deux types de HSV induit une immunité partielle croisée, qui n'empêche pas une réinfection ultérieure par l'autre espèce d'HSV, notamment sur un site anatomique différent. La recherche des IgM, autrefois utilisée pour diagnostiquer les primo-infections, a été largement abandonnée. Leur apparition retardée, leur réexpression lors des récurrences, et leur détection possible lors de réponses immunitaires non spécifiques (stimulation polyclonale), ont limité leur intérêt diagnostique. Ces limitations ont conduit à leur remplacement par la PCR, plus spécifique et plus précoce (2,39).

5. Traitement

La prise en charge thérapeutique des infections à virus herpès simplex (HSV) repose principalement sur l'utilisation d'antiviraux ciblant l'ADN polymérase virale (gène UL30). Les analogues nucléosidiques et nucléotidiques, notamment l'aciclovir (ACV) (traitement de référence), ainsi que sa prodrogue, le valaciclovir (VACV), sont les médicaments les plus couramment utilisés. Ces molécules nécessitent une activation par phosphorylation pour devenir actives. La première phosphorylation est assurée par la thymidine kinase virale (gène UL23), présente uniquement dans les

cellules infectées, ce qui confère une certaine spécificité et peu de toxicité à ces molécules. Les deux phosphorylations suivantes sont réalisées par des kinases cellulaires (la guanosine monophosphate kinase et la nucléoside diphosphate kinase). Une fois activés, ces antiviraux agissent comme des terminateurs de chaîne lors de la réplication de l'ADN viral, bloquant ainsi la multiplication du virus (47,50,51).

D'autres analogues nucléosidiques peuvent également être utilisés. Le penciclovir (PCV) et sa prodrogue, le famciclovir (FCV), représentent des alternatives thérapeutiques efficaces. La trifluridine (ou trifluorothymidine, TFT) est un autre antiviral, réservé à un usage local dans les kératites herpétiques en raison de sa toxicité systémique élevée. Enfin, bien que principalement indiqué pour les infections à CMV, le GCV possède également une activité contre HSV et peut être utilisé dans certains cas particuliers (2).

Le FOS et le CDV constituent un recours dans les infections sévères à HSV, notamment en cas de résistance à l'aciclovir.

Compte-tenu de la toxicité des molécules de seconde intention, le développement d'antiviraux dirigés contre d'autres enzymes virales est une réelle nécessité. Le pritélivir et l'amenamévir sont deux antiviraux de nouvelle génération appartenant à la classe des inhibiteurs de l'hélicase-primase. Cette enzyme virale (pUL5-pUL52) joue un rôle essentiel dans la réplication de l'ADN en assurant la séparation de l'ADN double brin en deux brins simples, étape indispensable à l'initiation de la synthèse du génome viral (52).

Ces molécules présentent une activité antivirale ciblée contre les HSV ainsi que le VZV. Contrairement aux analogues nucléosidiques classiques, leur mécanisme d'action est indépendant de la thymidine kinase virale, ce qui leur confère un intérêt particulier dans le traitement des infections à HSV résistantes à l'ACV (52,53).

Le pritélivir, disponible en accès compassionnel, est en cours de développement dans les infections à HSV en situation d'échec, de résistance, d'intolérance ou de contre-indication au VACV/ACV et FOS chez des patients adultes immunodéprimés (54).

Il a initialement, démontré une efficacité dans la suppression de l'herpès génital, y compris dans des cas de virus multirésistants (55,56).

L'amenamévir, disponible en accès compassionnel, est actuellement en cours de développement dans les infections sévères à HSV (dont la kératite herpétique) ou

au VZV (dont le zona ophtalmique) en situation d'échec, de résistance, d'intolérance ou de contre-indication au VACV/ACV, GCV, FCV et FOS (57). Il a récemment prouvé son efficacité dans le traitement des kératites herpétiques à HSV-1 résistantes à l'ACV (58).

Les réactivations sont fréquentes chez les personnes présentant une immunodépression cellulaire, et en particulier après allogreffe de CSH. Dans ce cadre, il est recommandé de prescrire un traitement prophylactique anti-HSV à tous ces patients séropositifs. L'ECIL2 préconise soit le VACV à la dose de 500 mg deux fois par jour, soit de l'ACV IV 250 mg/m² ou 5 mg/kg/12h (59).

Le traitement curatif des infections à HSV dépend de plusieurs facteurs cliniques : la distinction entre primo-infection et réactivation, la sévérité des manifestations cliniques, la localisation de l'atteinte (atteinte cutanéomuqueuse isolée ou forme disséminée), la fréquence des récurrences, ainsi que le statut immunitaire du patient. Un exemple de prise en charge thérapeutique d'infection à HSV est présenté en Annexe B (nouvelles recommandations de l'HAS pour le traitement de l'herpès génital).

C. Virus de la Varicelle et du Zona (VZV)

1. Structure

Le virus de la varicelle et du zona (VZV) appartient à la famille des Herpesviridae, et à la sous-famille des *alphaherpesvirinae*. C'est un virus mesurant 150 à 200 nm de diamètre et est constitué de 4 éléments principaux : un génome, une capside icosaédrique, un tégment (ou matrice) et une enveloppe.

Ce virus possède un génome constitué d'une molécule d'ADN linéaire double brin. Son génome se compose de deux segments uniques : un segment long (UL, *Unique Long*) et un segment court (US, *Unique Short*). Chacun de ces segments est encadré par des séquences répétées et inversées : les répétitions internes (IRL pour *Internal Repeat Long* et IRS pour *Internal Repeat Short*) et les répétitions terminales (TRL pour *Terminal Repeat Long* et TRS pour *Terminal Repeat Short*). Il existe 4 isoformes possibles du génome du VZV, selon l'orientation relative des composants UL et US, avec une prédominance pour 2 d'entre elles. La taille totale du génome est d'environ 125 kbp, il code pour > 70 gènes.

La capside virale, de forme icosaédrique, mesure environ 100nm de diamètre. Elle est composée de 162 capsomères : 150 hexons, répartis sur les faces de l'icosaèdre, et de 12 pentons situés aux sommets. Ensuite, entre la capside et l'enveloppe se trouve le tégument, une matrice fibrillaire amorphe contenant plus d'une dizaine de protéines. L'enveloppe du virus est formée d'une bicouche lipidique, acquise par bourgeonnement à partir des membranes cellulaires internes. Ancrées au niveau de la bicouche lipidique, on retrouve des glycoprotéines virales, qui jouent un rôle primordial dans l'interaction avec les récepteurs cellulaires pour la pénétration du virus dans les cellules de l'hôte (2).

2. Réplication

Le cycle de multiplication du VZV, présente de fortes similitudes avec celui des HSV.

L'infection débute par l'attachement du virion à la surface cellulaire, médié par des interactions entre les glycoprotéines virales majeures (tel que gB, gH et gL) et des récepteurs cellulaires, principalement des molécules de type héparanes sulfates. Cette phase est suivie par l'entrée du virus dans la cellule, qui peut se faire soit par fusion directe de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique, soit par endocytose médiée par les récepteurs. Une fois dans le cytoplasme, la capside virale est transportée jusqu'au noyau où elle se fixe aux pores nucléaires. Elle y subit une décapsidation, libérant l'ADN viral dans le noyau, lequel subit alors une circularisation préalable à la transcription.

L'expression du génome viral se déroule de manière séquentielle en trois phases :

- La 1^{ère} phase immédiate précoce (*Immediate Early*, IE) correspond à la transcription et à la traduction des gènes IE, codés notamment par *ORF4* et *ORF62*. Les protéines issues de cette phase jouent un rôle crucial dans la régulation transcriptionnelle des gènes viraux ainsi que dans la modulation de l'expression génique cellulaire.
- Vient ensuite la phase précoce (*Early*, E), où les gènes précoces codent pour des protéines essentielles à la réplication du génome viral. Parmi elles, figure notamment l'ADN polymérase virale (*ORF28*) ainsi que la thymidine kinase virale (*ORF36*), qui permettent la réplication de l'ADN viral selon un mécanisme de type "cercle roulant" (*rolling circle*), caractéristique des Herpesviridae.

- Une fois la réplication de l'ADN viral amorcée, s'en suit la phase tardive (*Late*, L) avec l'expression des gènes tardifs. Ils codent pour les protéines structurales nécessaires à l'assemblage des nouveaux virions, notamment les composants de la capside et de l'enveloppe virale.

Les nucléocapsides virales sont assemblées dans le noyau. Elles subissent ensuite un processus d'enveloppement transitoire puis de désenveloppement au niveau des membranes nucléaires. Une fois dans le cytoplasme, les nucléocapsides acquièrent les protéines de tégument ainsi que l'enveloppe virale définitive, comprenant les glycoprotéines virales, au niveau du RE et/ou de l'appareil de Golgi. La libération des virions matures se fait par un mécanisme d'exocytose, impliquant la fusion des vésicules intracellulaires contenant les virions avec la membrane plasmique, permettant ainsi leur relargage dans le milieu extracellulaire (2,60).

Le VZV possède la capacité d'établir une latence virale après l'infection primaire. Cette latence s'installe principalement au niveau des ganglions sensitifs crâniens (notamment le ganglion de Gasser) et rachidiens, mais également au sein de certains ganglions du système nerveux autonome. Au cours de cette phase, le génome viral persiste à l'état épisomique dans les neurones, sans production de virions infectieux, tout en conservant la capacité de se réactiver ultérieurement.

3. Physiopathologie

Le VZV se transmet principalement par voie respiratoire, via l'inhalation de gouttelettes contenant des sécrétions oropharyngées émises par un sujet infecté. Une transmission par contact direct avec le contenu des lésions vésiculeuses cutanées est également possible, en particulier chez les sujets immunodéprimés ou non immunisés (60).

Au cours de la primo-infection, le VZV pénètre l'organisme par les muqueuses des voies respiratoires supérieures, où il initie sa réplication locale. Le virus se dissémine ensuite par voie hématogène. Plusieurs phases de virémie peuvent se succéder. Cette virémie, permet la diffusion du virus vers les tissus périphériques, notamment la peau. La dissémination s'effectue à partir des cellules endothéliales capillaires vers les kératinocytes, cellules cibles majeures de la réplication cutanée.

La réplication virale au sein des kératinocytes induit une réaction inflammatoire locale responsable de la formation des vésicules caractéristiques de la varicelle. L'accumulation de liquide intra-épidermique, secondaire à l'effet cytopathogène du virus et à la réponse immunitaire, explique l'aspect typique des lésions cutanées. Le VZV entretient également un tropisme marqué pour les lymphocytes T, qui contribuent à sa dissémination systémique.

À l'issue de l'infection primaire, le virus persiste dans l'organisme à l'état épisomal, en établissant une latence dans certains neurones sensoriels. Cette latence est mise en place par voie neuronale rétrograde centripète, à partir des territoires cutanéomuqueux atteints au cours de la phase éruptive, ou directement durant la virémie.

Une réactivation virale peut survenir lors d'une altération de l'état immunitaire de l'hôte. Cette réactivation, entraîne une propagation du virus à d'autres neurones, accompagnée d'une inflammation ganglionnaire marquée, parfois associée à une nécrose hémorragique (61). Le virus migre ensuite par voie neuronale antérograde centrifuge vers les territoires cutanés périphériques, où il se réplique dans les cellules épithéliales. Ce processus conduit à l'apparition d'une éruption vésiculeuse unilatérale, généralement limitée à un dermatome, correspondant au tableau clinique du zona. Dans certains cas, le virus peut également diffuser par voie neuronale antérograde centripète vers le système nerveux central (2).

L'immunité cellulaire T spécifique anti-VZV joue un rôle fondamental dans le contrôle de la réactivation virale. La diminution de cette réponse, observée lors de l'immunosénescence chez les personnes âgées ou chez les patients immunodéprimés, explique l'augmentation de l'incidence du zona dans ces populations (62). Par ailleurs, des réactivations virales asymptomatiques, survenant de manière périodique, contribueraient au maintien d'une réponse immunitaire cellulaire T efficace *vis-à-vis* du VZV (63).

4. Clinique et diagnostic

a) *Primo-infection = varicelle*

Chez l'enfant, la période d'incubation de la varicelle est en moyenne de 14 jours, avec une variabilité comprise entre 10 et 21 jours. L'apparition de prodromes précède classiquement l'éruption cutanée de 24 à 48 heures. Ces signes annonciateurs incluent une fièvre modérée, des céphalées et des douleurs abdominales.

L'exanthème débute habituellement au niveau du cuir chevelu, du visage ou du tronc. Les lésions cutanées initiales sont des macules érythémateuses qui évoluent rapidement, en quelques heures, en vésicules à contenu clair, typiquement décrites comme des « vésicules en goutte de rosée » entourées d'un halo érythémateux à contours irréguliers. Ces lésions, prurigineuses, se transforment en croûtes dans un délai de 24 à 48 heures. L'éruption évolue par poussées successives, générant des lésions à des stades d'évolution différents. La phase évolutive de la maladie dure classiquement environ 7 jours. Le taux de complications chez l'enfant est estimé à 4 %. Les principaux facteurs de risque identifiés comprennent un âge inférieur à un an ou supérieur à 14 ans, une contamination intrafamiliale, l'existence préalable de dermatoses telles que l'eczéma, ou encore une corticothérapie. Parmi les complications possibles, la plus fréquente est la surinfection bactérienne des lésions cutanées. D'autres complications peuvent survenir : infections des tissus mous, complications neurologiques telles que l'ataxie cérébelleuse, la méningo-encéphalite, le syndrome de Reye ou encore le syndrome de Guillain-Barré. Des atteintes hépatiques, vasculaires, rénales, rhumatologiques, ophtalmologiques ou pulmonaires (notamment la pneumopathie varicelleuse) peuvent également être observées dans une moindre fréquence.

Chez l'adulte IC, la présentation clinique est généralement plus marquée que chez l'enfant, avec un risque accru de complications sévères. La pneumopathie varicelleuse représente la principale cause de mortalité dans cette population, avec un risque 25 fois plus élevé que chez l'enfant.

Les patients ID, en particulier ceux dont l'immunité cellulaire est altérée, sont exposés au risque de formes graves de la maladie, dites « varicelle maligne » ou « varicelle progressive ». L'éruption revêt alors un aspect atypique, rapidement extensif à l'ensemble du corps, sous forme de lésions hémorragiques, pseudo-purpuriques, puis nécrotiques. L'évolution se complique rapidement d'une atteinte multiviscérale, avec un risque élevé de surinfections bactériennes secondaires. La primo-infection est rare chez les receveurs de SOT mais elle peut se manifester par une atteinte viscérale, une maladie cutanée grave ainsi que coagulation intravasculaire disséminée. Cette population court souvent un plus grand risque de complication, telles que la pneumonie (64).

Enfin, la femme enceinte est particulièrement vulnérable face à l'infection varicelleuse, tant pour elle-même que pour le fœtus. En cas d'infection avant la 20^{ème}

semaine d'aménorrhée, un syndrome varicelleux congénitale peut survenir. Ce tableau se caractérise par un retard de croissance intra-utérin, des lésions cutanées cicatricielles hypopigmentées ou hyperpigmentées, une hypoplasie d'un ou plusieurs membres, ainsi que des anomalies oculaires et neurologiques. La varicelle néonatale, quant à elle, survient lorsque la varicelle maternelle se déclare dans les 3 semaines précédant le terme et jusqu'à 7 jours après. Le risque de transmission est maximal lorsque l'infection survient entre 5 jours avant et 2 jours après l'accouchement, période pendant laquelle la transmission transplacentaire des anticorps maternels est insuffisante. L'enfant présente alors, dans les 10 premiers jours de vie, une éruption généralisée intense, associée à des lésions cutanéomuqueuses ulcéro-nécrotiques, et à une atteinte pulmonaire ou viscérale (65).

b) Réactivation du VZV = zona

La réactivation du VZV à partir des ganglions nerveux sensitifs peut entraîner diverses manifestations cliniques. La réplication virale dans les kératinocytes induit une éruption vésiculeuse localisée, unilatérale, précédée typiquement de douleurs neuropathiques dans le territoire correspondant. Cette réactivation peut également être responsable de complications neurologiques. Les principaux facteurs de risque du zona sont l'âge avancé, le sexe féminin, l'immunodépression, les cancers, le stress psychologique, le traitement par des corticoïdes et la présence d'autres maladies chroniques et dans une moindre mesure les traumatismes physiques (66). En 2022, en France métropolitaine, 1 109 cas ont été déclarés. Le taux d'incidence annuel du zona dans la population française vue en médecine générale était de 346 nouveaux cas de zona pour 100 000 habitants. Les taux d'incidence annuels les plus hauts sont observés à partir de 50 ans, avec plus de 500 cas pour 100 000 habitants à partir de 60 ans, l'âge médian de survenue de zona étant de 65 ans (min 18 mois — max 101 ans) avec 69 % des cas âgés de 50 à 89 ans (66).

Chez le patient IC, l'éruption vésiculeuse guérit habituellement en 15 jours. Le zona siège dans 50 % des cas au niveau thoracique, mais selon le dermatome concerné, il peut également apparaître au niveau lombaire, abdominal, sacré, des membres inférieurs, cervical, cervico-brachial, ou encore crânien, avec des formes telles que le zona facial ou le zona ophtalmique. La principale complication est représentée par les algies post-zostériennes, définies comme des douleurs persistantes au-delà de 3 mois après l'éruption cutanée.

Les atteintes neurologiques lors des réactivations du VZV sont fréquentes. Outre les méningites, on peut observer des méningo-encéphalites, des méningoradiculites, des cérébellites ou encore des myélites transverses aiguës. Le VZV est également impliqué dans certaines vasculopathies, et peut provoquer des atteintes oculaires sévères telles que les rétinites nécrosantes aiguës.

Chez les patients ID, le zona peut survenir à tout âge, avec une atteinte souvent plurimétamérique. Les algies post-zostériennes sont plus fréquentes et généralement plus sévères. La réactivation virale peut s'accompagner d'une virémie, responsable d'une éruption cutanée généralisée mimant une varicelle, et exposant au risque d'atteinte multiviscérale (64).

c) Diagnostic

Le diagnostic de la varicelle ou du zona repose classiquement sur l'examen clinique, les lésions étant caractéristiques dans la majorité des cas. Toutefois, en présence de formes atypiques, sévères ou dans le cadre d'un diagnostic anténatal, la confirmation biologique est indispensable. Le type de prélèvement à réaliser dépendra du contexte clinique : écouvillonnage de vésicules, prélèvements oculaires, sanguins, LCS, LBA, biopsies tissulaires ou liquide amniotique. La méthode de choix en biologie moléculaire est la PCR en temps réel, qui permet une détection rapide et sensible du génome viral. Elle permet également une quantification de la CV, utile pour le suivi de l'évolution sous traitement, notamment dans les formes graves de zona.

L'isolement du VZV peut être réalisé par culture cellulaire sur lignées fibroblastiques humaines MRC-5. Cette technique, complexe et peu utilisée en pratique courante, permet d'obtenir un effet cytopathogène visible à partir du 5^{ème} jour, caractérisé par l'apparition de cellules arrondies, réfringentes, et une lyse progressive de la monocouche cellulaire.

La sérologie VZV est utile pour évaluer le statut immunitaire, notamment en amont d'une vaccination, chez les femmes enceintes exposées, ou avant l'instauration d'un traitement immunosuppresseur. Le dosage des IgG anti-VZV est réalisé par technique ELISA. Dans certaines situations, notamment devant une suspicion de méningo-encéphalite ou de rétinite nécrosante aiguë avec PCR négative, le dosage des IgG peut être utilisé pour démontrer une synthèse intrathécale ou intraoculaire. En revanche, la recherche des IgM n'est plus recommandée en pratique courante en raison de sa faible sensibilité et spécificité (2).

5. Traitement et prévention

La prise en charge thérapeutique des infections à VZV repose sur deux axes principaux : le contrôle des douleurs zostériennes et le traitement antiviral spécifique. Ce dernier, cible principalement l'ADN polymérase virale (codée par *ORF28*) à l'aide d'antiviraux appartenant à la classe des analogues nucléosidiques ou nucléotidiques tel que l'ACV, ainsi que sa prodrogue, le VACV qui sont les médicaments les plus couramment utilisés. Ces antiviraux nécessitent une activation intracellulaire pour devenir actifs. La première phosphorylation est assurée par la thymidine kinase virale (codée par *ORF36*), présente exclusivement dans les cellules infectées, conférant ainsi à ces médicaments une certaine spécificité et une toxicité limitée. Les phosphorylations suivantes sont assurées par des kinases cellulaires. Une fois activés sous forme triphosphate, ces composés agissent comme substrats compétitifs de la désoxyguanosine naturelle et inhibent l'ADN polymérase virale, bloquant ainsi l'élongation de l'ADN viral. Il convient de noter que le VZV est globalement moins sensible à l'ACV que les HSV.

D'autres molécules antivirales peuvent être employées en cas de résistance ou d'intolérance. Il s'agit notamment du PCV et de sa prodrogue, le FCV. Mais aussi du FOS ou du CDV, très néphrotoxiques. Des agents antiviraux plus récents sont en cours d'évaluation ou d'utilisation restreinte, tels que le brivudine ou le valnivudine, inhibiteurs de l'ADN polymérase, et l'amenamévir, un inhibiteur de l'hélicase-primase. Ce dernier présente une activité antivirale indépendante de la thymidine kinase virale, ce qui lui confère un intérêt particulier dans les cas d'infections à VZV résistantes à l'ACV (67,68).

Chez les patients ID, en particulier après allogreffe de CSH, les réactivations du VZV sont fréquentes. Une prophylaxie antivirale est recommandée, reposant sur l'administration de VACV à la posologie de 500 mg une à deux fois par jour pendant une durée minimale d'un an, prolongeable en cas de GVHD chronique ou d'immunosuppression prolongée. En l'absence de réactivation clinique, aucune reconstitution de l'immunité T spécifique du VZV n'est observée. Cela justifie la vaccination anti-VZV chez les patients séronégatifs, au moins deux ans après l'allogreffe, et trois mois après l'arrêt de l'immunosuppression, sous réserve d'absence de rechute hématologique et d'administration d'immunoglobulines polyclonales dans

les trois mois précédents. Le schéma vaccinal recommandé contre la varicelle comprend deux doses administrées à deux mois d'intervalle (59).

En cas d'exposition d'un patient allogreffé à un sujet présentant une infection active à VZV, la conduite à tenir varie selon le statut sérologique :

- Chez le patient séropositif pour le VZV, un risque de réinfection persiste. Il est recommandé d'initier un traitement curatif par VACV à la dose de 1g trois fois par jour pendant 21 jours.
- Chez le patient séronégatif pour le VZV, une prophylaxie post-exposition est indiquée, combinant l'administration d'immunoglobulines anti-VZV dans les 96 heures suivant l'exposition, avec un traitement antiviral à dose curative pendant 28 jours (ou 21 jours si les immunoglobulines n'ont pas été administrées). Les immunoglobulines peuvent en effet allonger la période d'incubation (59).

Depuis 2024, la HAS préconise la vaccination contre le zona des adultes immunocompétents de 65 ans et plus, préférentiellement avec le vaccin Shingrix®, ainsi que des personnes de 18 ans et plus, dont le système immunitaire est défaillant, en raison des pathologies innées (par exemple un déficit immunitaire primitif) ou acquises (par exemple immunodépression liée à l'infection par le VIH) ou d'un traitement (par exemple la corticothérapie au long cours ou les traitements immunosuppresseurs). La vaccination des immunodéprimés fera l'objet de recommandations spécifiques (66).

Chez le patient IC, le traitement de la varicelle repose classiquement sur une prise en charge exclusivement symptomatique. Toutefois, en présence de formes graves, compliquées, ou chez les sujets à risque de complications (nouveau-nés, nourrissons, FE, ID...), le recours à un traitement antiviral est justifié. Concernant le zona, la prise en charge repose sur l'initiation précoce d'un traitement antiviral, idéalement dans les 72 premières heures suivant l'apparition de l'éruption cutanée. L'objectif principal est de limiter la réplication virale et l'inflammation locale, afin de favoriser une cicatrisation rapide, de réduire la durée et la sévérité de l'éruption, ainsi que de diminuer la fréquence et l'intensité des douleurs post-zostériennes (61,69).

En Annexe C sont présentés des algorithmes pour la prise en charge des infections à VZV.

II. Génotypage de résistance en pratique au laboratoire

La résistance du CMV, de l'HSV et du VZV aux antiviraux est rare mais constitue pour ces trois virus un challenge diagnostique et thérapeutique. La détection de la résistance aux antiviraux peut être effectuée selon une approche phénotypique ou génotypique. L'approche génotypique permet de s'affranchir de l'isolement viral en culture de cellules, qui peut être délicat, chronophage et donc non compatible avec la nécessité de rendre le résultat rapidement, pour permettre au clinicien d'adapter le traitement antiviral (70).

A. Recherche de mutations de résistance aux antiviraux

1. CMV

a) Définitions

Des définitions consensuelles (i) de l'infection à CMV réfractaire, (ii) du CMV résistant aux médicaments antiviraux ont été émises par différents groupes de travail (71).

(i) L'infection réfractaire à CMV est définie par l'augmentation de la virémie CMV ($>1\log$), mesurée dans le même compartiment par la même technique commerciale ou par la persistance d'une virémie CMV détectable (décroissance $<1\log$ de la CV CMV) après 2 semaines de traitement antiviral approprié.

(ii) L'infection à CMV résistante est définie comme une infection réfractaire avec un argument virologique supplémentaire (présence d'une mutation de résistance entraînant une baisse de la sensibilité à un ou plusieurs antiviraux).

b) Mécanisme de résistance et gènes cibles (Tableau 1)

Deux protéines sont impliquées dans la résistance du CMV au GCV/VGCV : la phosphotransférase (UL97) et l'ADN polymérase (UL54). Dans les cellules infectées par le CMV, le GCV doit être triphosphorylé pour être actif. La conversion du ganciclovir en ganciclovir monophosphate est catalysée par la phosphotransférase virale UL97 puis deux groupes phosphatés supplémentaires sont ensuite ajoutés par des enzymes cellulaires. Les mutations dans le gène *UL97* empêchent la phosphorylation du GCV qui reste alors inactif (72,73). Ces mutations n'impactent pas la sensibilité au FOS ou au CDV. Les résistances décrites dans la figure 4 se localisent principalement aux codons 460, 594, 595 et 603. Sept mutations du gène *UL97*

(M460V/I, H520Q, C592G, A594V, L595S et C603W) sont retrouvées dans plus de 80 % des souches cliniques de CMV résistantes au GCV (74).

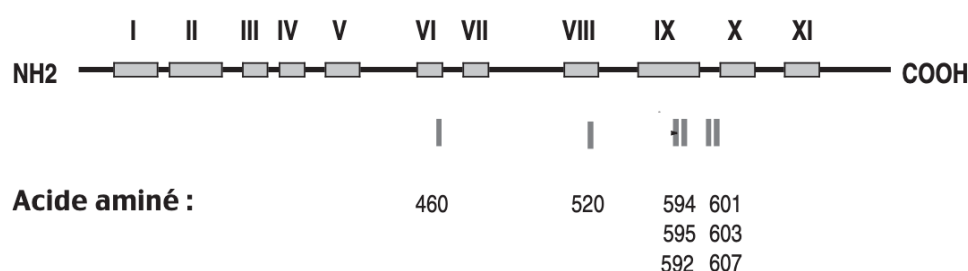


Figure 4 : Représentation schématique des domaines conservés de la phosphotransférase UL97 et localisation des principales substitutions d'acides aminés responsables de la résistance au GCV (28).

En revanche, les mutations du gène *UL54* décrites dans la figure 5 peuvent impacter l'utilisation du GCV, du FOS et du CDV et émergent le plus souvent après une exposition prolongée au GCV, chez des virus ayant déjà une mutation préexistante sur l'*UL97* qui sont les premières à apparaître (74). La résistance au CDV et au FOS implique une mutation sur l'ADN polymérase virale qui altère la liaison du médicament à l'enzyme. Ces mutations peuvent également apparaître après un traitement prolongé par GCV conférant ainsi une résistance croisée au GCV, FOS et CDV (72,75). Elles sont très diversifiées et sont principalement retrouvées entre les codons 400 et 1000. En fonction de la localisation sur le gène, les mutations peuvent donner des résistances croisées entre le GCV et le CDV ou entre le GCV et le FOS ou encore toucher uniquement le FOS (28).

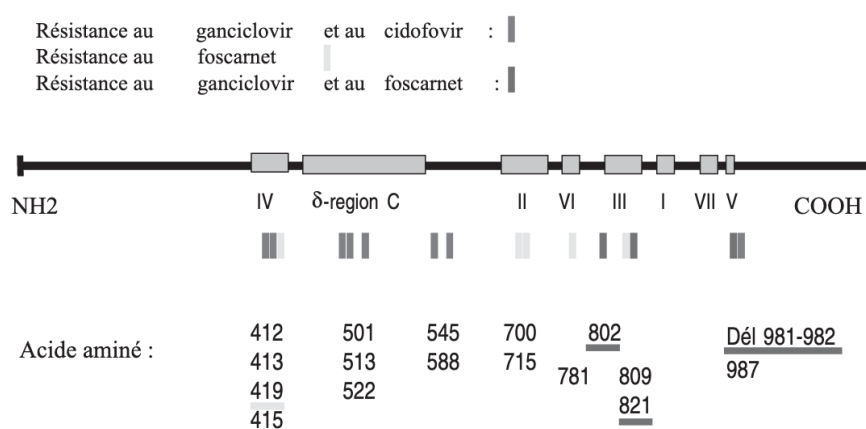
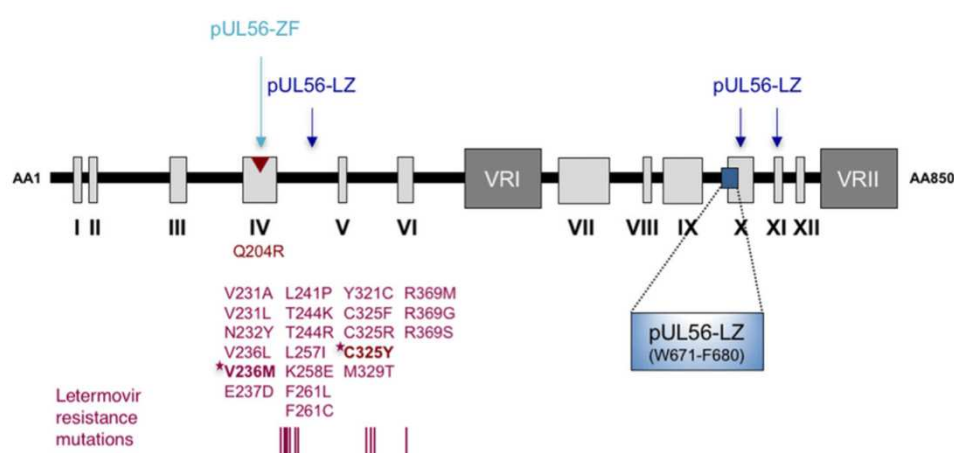


Figure 5 : Représentation schématique des domaines conservés de l'ADN polymérase UL54 du CMV et localisation des principales substitutions d'acide aminé responsables de résistance (28).

Pour le MBV, la majorité des résistances sont des mutations sur le gène *UL27* entraînant une résistance de bas grade. Ces mutations sont généralement des substitutions d'acides aminés uniques, des codons stop ou des frameshifts qui entraînent la formation d'une protéine tronquée (76). Cependant, quelques mutations du gène *UL97* provoquent également une résistance voire une résistance croisée MBV-GCV (73,77).

Les mutations de résistances du LMV sont principalement décrites dans la grande sous-unité terminase pUL56 conférant des niveaux très variables de résistance au LTV, et plus rarement dans pUL89 et pUL51. Il est donc essentiel de rechercher les résistances au niveau du gène *UL56*, tout en considérant également le séquençage de *UL89* et *UL51*, où la présence de mutations reste possible. Ces mutations entraînent une altération de la cible rendant le LMV inefficace. Il n'existe pas de résistances croisées entre le LMV et les autres antiviraux (GCV/FOS/CDV) (78). Les mutations sur *UL56* présentées dans la figure 6 sont concentrées autour des régions conservées IV à VI et sont principalement retrouvées entre les acides aminés 231 et 369 (79) en particulier des mutations sur le locus C325 (80).



Conserved regions localization for HCMV pUL56:

I - M21-P31	IV - C191-I220	VII - E514-R572	X - Y676-F713
II - F41-Q62	V - Q272-W300	VIII - Y590-L600	XI - V732-F744
III - L134-E141	VI - E356-I374	IX - I617-L658	XII - D755-L764

Variable regions localization for HCMV pUL56:

VRI - A425-E485	VRII - V778-R850
-----------------	------------------

Figure 6 : Représentation schématique des domaines conservés de l'*UL56* et localisation des principales substitutions d'acides aminés responsables de la résistance au LTV (79)

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des fréquences de mutations de résistances aux antiviraux CMV sur les gènes UL97/UL54/UL56.

*Études contradictoires sur l'implication de cette mutation sur la résistance aux antiviraux

		Tamzali et al. 2023 (75) n=24	Li et al. 2023 (81) n=27	Santos et al. 2022 (73) n=24	Lopez et al. 2017(82) n=9	Fisher et al. 2017(83) n=38
UL97	L595S	10	5	5	2	11
	A594V	4	9	5	1	8
	C603W	3	1	1		3
	L595F	2				2
	L595W		2			1
	M460V	1		2	3	3
	A594P	1	1	1		
	H469Y*		4			
	M460I		1	2	1	3
	A591V		1			
	C480F			2		
	C592G			1	1	
	Del 598-603 GKLTHC	1				
	M460I + C603W	1				
	Del GKLTH 598-602	1				
	L595W + A594V			1		
	H520Q				1	4
	A594T					1
	Del 600-1					1
	Del 599-603					1
UL54	F412L	1				
	K545S	1				
	K513N	1	1			
	K545S	1				
	A809V		3			
	P522S		1			1
	Q578H		1			
	V781I			1		
	A928T			1		
	L773V + G841T			1		
	D413N			2		
	A543V			1		
	A987G			1		
	T700A			1		
	D413A				1	
	P522A				1	
	F412C					1
UL56	C325F			1		

c) Fréquence et facteur de risque

Les patients qui développent une résistance aux antiviraux sont généralement des patients avec une immunodépression profonde qui sont à haut risque d'infection à CMV et qui vont être traités longtemps. Une exposition prolongée ou inadéquate au traitement avec des changements itératifs de thérapeutiques ou de dose peuvent également favoriser la survenue de résistance (28).

En 2023, le Centre National de Référence des Herpesvirus (Limoges) a retrouvé un taux de mutations de résistance de près de 28 % parmi tous les patients réfractaires au traitement (84).

Le taux de résistance chez les patients SOT traités par GCV est de 2,3 % et de 3,6 % pour les patients traités par VGCV (85). Chez les patients allogreffés de CSH traités par GCV, le taux de résistance était de 1,6 % dans la cohorte de Wolf et al. Les résistances ont été observées uniquement chez le groupe de patients avec une greffe de cellules souches hématopoïétiques haplo-identiques (soit un taux de résistance à 14,5 % dans cette population) (86). Quant au VGCV il oscille entre 2,5 et 2,9 % pour les patients HSCT (36,87)

Concernant le MBV le taux de résistance est plus important, allant de 8,8 % (essai AURORA, étude en double aveugle randomisée contrôlée menée chez les allogreffés de CSH (41)) à 26 % en fonction de la population étudiée (essai SOLSTICE, étude ouverte randomisée contrôlée, souches de CMV réfractaires au traitement de 1^{ère} ligne, population transplantée d'organes solides ou allogreffée de cellules souches hématopoïétique) (36,88). Une étude clinique randomisée récente, comparant l'émergence de la résistance au MBV et au VGCV pour le traitement de l'infection à CMV chez les patients HSCT retrouve un taux de résistance de 2,5 % au VGCV et de 10 % au MBV (87). Ces données suggèrent que la barrière génétique à la résistance du MBV est intermédiaire (89).

Le CNR des Herpesvirus en France, a estimé la prévalence des résistances chez les patients ayant reçu du LTV dans les hôpitaux français en 2020-2021 (source OMEDIT). Parmi 1 694 patients traités par LTV, 27 (1,59 %) génotypages réalisés ont retrouvé une résistance. La prévalence globale des résistances, sur génotype, rapportée aux nombre de patients greffés en 2021 varie de 0,33 % en greffe hépatique à 1,9 % en greffe pulmonaire Elle est de 1,22 % chez les greffés CSH (80). La prévalence de la résistance est plus faible en prophylaxie primaire (0,69 % - 1,22 %) qu'en prophylaxie secondaire / traitement curatif.

Une autre étude française s'est penchée sur les résistances chez les patients HSCT sous prophylaxie secondaire par LTV. Quatre des quatre-vingts patients ont développé une infection à CMV malgré l'initiation d'un traitement par LTV. Un génotypage de résistance a été réalisé chez 3 des patients sur 4, mettant en évidence une mutation sur le gène UL56 (C325Y, n = 2 et C325W, n =1), a été retrouvée chez trois patients sur les quatre, soit un taux de résistance de 3,75 % (90).

À ce jour, toutes les mutations ne sont pas encore identifiées, et certaines, récemment découvertes, font toujours l'objet d'études en raison de leur signification clinique encore incertaine.

Plusieurs études se sont intéressées à l'identification des facteurs de risque associés à l'émergence de résistances antivirales, notamment en contexte de transplantation ou d'immunodépression sévère (75,81,82).

Parmi les facteurs retrouvés de manière significative, l'antécédent de réalisation d'un test de résistance antivirale (AVDR) constitue un marqueur important. En effet, les patients ayant déjà bénéficié d'un test de ce type présentent globalement une probabilité accrue de développer une résistance ultérieure, traduisant probablement un historique d'exposition prolongée ou répétée aux antiviraux. La durée cumulative de traitement antiviral est également un facteur déterminant. Les patients avec AVDR ont reçu un nombre significativement plus élevé de jours de traitement antiviral par rapport à ceux sans résistance, ce qui corrobore l'hypothèse d'une pression de sélection favorisant l'émergence de mutations.

Le type de greffe constitue également un facteur déterminant. La résistance est plus fréquemment observée chez les patients SOT, que chez les patients HSCT. Une tendance particulière est observée pour les greffes pulmonaires, probablement en raison d'une immunosuppression plus intense ou prolongée dans cette population, ainsi que la greffe de rein qui selon le CNR est la plus pourvoyeuse d'infection réfractaire à CMV (84). Le délai écoulé depuis la transplantation apparaît également corrélé au risque de résistance : les patients avec AVDR présentent généralement un intervalle plus long depuis la greffe, traduisant une exposition antivirale prolongée. L'âge du patient influence également le risque de résistance, bien que les données soient parfois contradictoires. Une tendance à un risque accru chez les patients plus jeunes a été rapportée, possiblement liée à un statut sérologique CMV négatif, fréquent dans cette population. Toutefois, l'étude de Li et al. (2023) observe une

tendance inverse, avec un taux de résistance légèrement plus élevé chez les patients plus âgés ($p = 0,06$) (81).

Le statut sérologique du receveur *vis-à-vis* du CMV est un facteur bien établi : un receveur séronégatif greffé à partir d'un donneur séropositif (D+/R-) présente un risque significativement accru de développer une infection à CMV résistante, du fait de l'absence d'immunité préexistante.

Des facteurs pharmacologiques tels que le sous-dosage en VGCV, une faible concentration plasmatique du médicament, ou une prophylaxie antivirale insuffisante au moment de l'infection, ont également été associés à l'émergence de mutations de résistance. Ces éléments suggèrent qu'une pression antivirale prolongée ou suboptimale favorise la sélection de souches résistantes.

Enfin, le type et le degré d'immunodépression constituent des déterminants majeurs dans la survenue des résistances, influençant à la fois la réplication virale et la réponse immunitaire de l'hôte (91).

Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques des échantillons avec et sans résistance aux antiviraux détectée, Li et al 2023 (81).

¹Patients SOT : D+/R- ; Patients HSCT : D-/R+

		Échantillons analysés (n=56)	Résistance non détectée (n=29)	Résistance détectée (n=27) soit 48,2%	p-value
Age moyen		53	49	56	0,06
Sexe	M	50% (28)	55% (16)	44% (12)	0,59
	F	50% (28)	45% (13)	56% (15)	
Type de greffe	SOT	64% (36)	52% (15)	78% (21)	0,05
	HSCT	27% (15)	38% (11)	15% (4)	
	Non transplanté	9% (5)	10% (3)	7% (2)	
Séropositivité CMV à risque élevé (n=37) ¹		57% (21/37)	50% (10/20)	65% (11/17)	0,51
Test de recherche de résistance aux antiviraux antérieur (n=56)		32% (18/56)	3% (1/29)	63% (17/27)	<0,001
Nombre médian de jours de traitement pour la virémie à CMV en cours (n=39)		84	61	112	0,007
Nombre moyen de jours entre la greffe et le 1 ^{er} test AVDR (n=41)		566	442	784	0,46

Tableau 3 : Comparaison des caractéristiques des échantillons avec et sans résistance aux antiviraux détectée, Tamzali et al. 2023, (75).

		Résistance non détectée (n=55)	Résistance détectée (n=26) soit 32,1%	p-value
Age moyen		54,8 ± 10,0	48,7 ± 12,2	0,02
Sexe	M	42 (76,4%)	15 (57,7%)	0,1
	F	13 (23,6%)	11 (42,3%)	
Type d'organe greffé	Rein	32 (58,2%)	16 (61,5%)	0,9
	Cœur	19 (34,5%)	8 (30,8%)	
	Foie	4 (7,3%)	72 (7,7%)	
Séropositivité CMV	D-/R-	2 (3,6%)	1 (3,8%)	0,002
	D+/R-	9 (16,4%)	13 (50%)	
	D+/R+	44 (80%)	12 (46,2%)	
Patient sous prophylaxie par VGCV au moment de l'infection		7 (12,7%)	9 (34%)	0,03
Sous-dosage ou faible concentration plasmatique de la prophylaxie par VGCV		13 (23,6%)	16 (61,5%)	0,002
Durée en jours pour la clairance viral (en jours, médiane [IQR])		50,0 [30,0-97,5]	105 [67,0-240,0]	<0,001

Tableau 4 : Comparaison des caractéristiques des échantillons avec et sans résistance aux antiviraux détectée, Lopez-Aladid et al., 2017 (82).

		Échantillons analysés (n=39)	Résistance non détectée (n=30)	Résistance détectée (n=9) soit 23,1%	p-value
Age moyen		52	54	46	0,0914
Sexe	M	30 (77%)	23 (77%)	7 (78%)	1,00
	F	9 (23%)	7 (23)	2 (22%)	
Type de greffe	Rein	17 (44%)	15 (50%)	2 (22%)	0,2512
	Cœur	6 (15%)	5 (17%)	1 (11%)	1,00
	Poumon	65 (13%)	1 (3%)	4 (44%)	0,0068
	Foie	8 (21%)	6 (20%)	2 (22%)	1,00
	Rein et pancréas	3 (8%)	3 (10%)	0 (0%)	1,00
Séropositivité CMV	D+/R-	24 (62%)	16 (53%)	8 (89%)	0,1152
	D+/R+	14 (36%)	13 (43%)	1 (11%)	0,1189
	D-/R+	1 (3%)	1 (3%)	0 (0%)	1,00
Nombre de jours de prophylaxie CMV	≤ 3 mois	13 (68%)	10 (83%)	3 (43%)	1,00
	≥ 6 mois	6 (32%)	2 (17%)	4 (57%)	0,0180
Nb de jours entre la transplantation et la suspicion de résistance, moyenne (σ)		118 (169)	100 (145)	239 (204)	0,0046
Nombre de jours de thérapie avant la suspicion, moyenne (σ)		17 (23)	16 (8)	45 (58)	0,0081

d) Diagnostic et recommandations

La résistance aux traitements antiviraux est définie comme une altération génétique virale qui diminue la sensibilité à au moins une molécule antivirale, mesurée par la concentration de médicament nécessaire pour réduire la croissance virale de 50 % en culture cellulaire (EC50) (24).

La détection de la résistance aux antiviraux en pratique clinique repose sur des tests génotypiques. Ces tests s'appuient sur le séquençage de l'ADN, que ce soit par la méthode de Sanger ou par le séquençage de nouvelle génération (NGS) (92), afin d'identifier les mutations de résistance les plus fréquentes sur des codons spécifiques. Pour être fiables, ces analyses doivent être réalisées sur des échantillons avec une CV d'au moins 3 log UI/mL ou 1000 UI/mL et couvrir l'ensemble des gènes impliqués dans le mécanisme d'action des antiviraux. Le séquençage complet de ces gènes est essentiel pour détecter à la fois les mutations déjà connues et les éventuelles nouvelles mutations dont la signification clinique n'est à ce jour pas connue. Une base de données internationale régulièrement mise à jour recense ces mutations et précise leur impact. Le degré de résistance induit par une mutation émergente est déterminé par des tests phénotypiques recombinants. Ceux-ci consistent à introduire la mutation dans un virus de type sauvage, puis à mesurer la concentration efficace à 50 % (EC50) de l'antiviral, comparée à celle de la souche virale d'origine. Ce type d'analyse complexe nécessite le recours à des laboratoires spécialisés disposant de l'expertise nécessaire.

Des recommandations concernant les indications de la réalisation des tests de résistance aux antiviraux existent en particulier, chez les patient HSCT (25) et SOT (24). Chez les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques (HSCT) recevant une prophylaxie primaire par LTV, un génotypage peut être envisagé au début du traitement préventif si la CV du CMV augmente, afin de détecter des mutations susceptibles de compromettre une utilisation future du médicament, bien qu'il soit rare de retrouver des résistances (grade BII). Un génotypage doit être systématiquement réalisé devant une infection réfractaire, pour permettre l'ajustement du traitement (grade AII). Dans ces situations, le traitement doit être modifié sans attendre les résultats du test (grade AII). Le séquençage de tous les gènes cibles est recommandé, que ce soit par la méthode de Sanger ou le NGS, bien que la capacité d'émergence des mutations de faible niveau détectées par NGS doive être confirmées

par des analyses répétées (grade BII). En cas de CV persistante, ne diminuant pas dans les deux semaines suivant l'instauration d'un traitement approprié, un nouveau test de génotypage est recommandé (grade BIII). Les résultats du génotypage doivent toujours être évalués dans leur contexte clinique pour orienter les décisions thérapeutiques (grade BII) (25). Enfin, des recommandations particulières concernant le MBV ont été émises par la commission de transparence de la HAS. Il convient de réaliser un génotypage de résistance (gène UL97) avant d'initier un traitement par MBV, en particulier chez des patients prétraités par GVC/VGCV. Ces patients sont susceptibles de présenter une mutation de résistance au MBV (du fait de rares mutations ayant pu être sélectionnées lors du traitement préalable par GCV ou VGCV). La réalisation du génotype n'empêche pas de débiter le traitement (93).

Chez le patient SOT, les recommandations prévoient de réaliser un test génotypique de résistance en cas d'infection à CMV réfractaire au traitement et après avoir reçu un traitement antiviral approprié pendant au moins 2 semaines consécutives, avec une exposition cumulative aux antiviraux de 4 semaines ou plus (24).

e) *Prise en charge thérapeutique*

Des recommandations thérapeutiques bien établies encadrent la prise en charge des infections à CMV résistantes aux antiviraux, tant chez les patients greffés d'organes solides (SOT) que chez ceux ayant bénéficié d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques (HSCT).

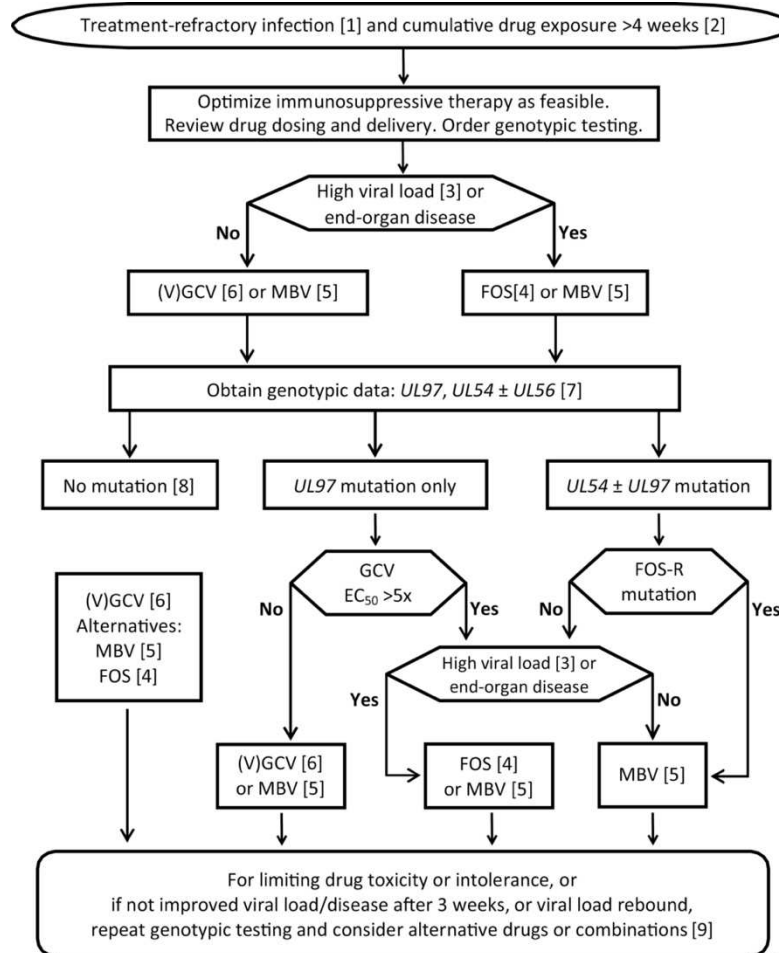


Figure 7 : Algorithme décisionnel pour la prise en charge des infections à CMV suspectées d'être résistante aux antiviraux chez les patients SOT (24).

[1] Réfractaire au traitement : diminution de $\leq 1 \log_{10}$ de la CV plasmatique ou sanguine après ≥ 2 semaines de traitement, apparition ou aggravation de la maladie à CMV. La résistance au GCV est rare lorsque l'exposition au médicament est inférieure à 6 semaines. [3] CV élevée : $\geq 50\,000$ ($4,7 \log_{10}$) UI/mL (plasma). [4] Éviter les FOS en cas de dysfonctionnement rénal ou d'intolérance métabolique. Le FOS est suggéré pour les charges virales élevées chez les patients cliniquement malades. [5] Éviter le MBV en cas de maladie du SNC ou de rétinite. La résistance au MBV apparue au cours du traitement peut limiter l'efficacité. Ne pas utiliser le MBV si des mutations de résistance au MBV sont détectées. Le MBV est plus efficace lorsque la CV est plus faible. M460I/V, en tant que seule mutation UL97, favorise l'utilisation du MBV. [6] Dose de GCV de 5 mg/kg bid IV, éventuellement 10 mg/kg bid (dose élevée), ou dose de VGCV de 900 mg bid, éventuellement 1800 mg bid (dose élevée pour les adultes ; ajustée en fonction de la fonction rénale). [7] Génomé UL56 En cas d'exposition antérieure au LTV. [8] Inclut les variants de séquence conférant une modification de la CE₅₀ < 2 fois. Répéter le génotypage avec des échantillons de tissus spécifiques pour les maladies des organes terminaux, si possible. [9] Envisager une thérapie combinée si elle est tolérée. L'association MBV-GCV est antagoniste, à ne pas utiliser. Le MBV peut convenir comme traitement d'appoint après la réponse initiale au FOS lorsque la CV est < 5000 ($3,7 \log_{10}$) UI/mL. Le CDV a donné de mauvais résultats lors d'un essai clinique. Le LTV n'a pas fait l'objet d'un essai clinique démontrant son efficacité dans le traitement des infections réfractaires/résistantes, voir le texte. La résistance émergente au MBV et au LTV est souvent de haut niveau et nécessite une surveillance génotypique. D'autres thérapies non approuvées (preuves faibles) comprennent les inhibiteurs de mTOR, l'augmentation de l'immunité de l'hôte par transfert adoptif de cellules T et les immunoglobulines CMV. CMV, cytomégalovirus ; SNC, système nerveux central ; FOS, foscarnet ; GCV, ganciclovir ; MBV, maribavir ; mTOR, cible mammalienne de la rapamycine ; (V)GCV, ganciclovir ou valganciclovir.

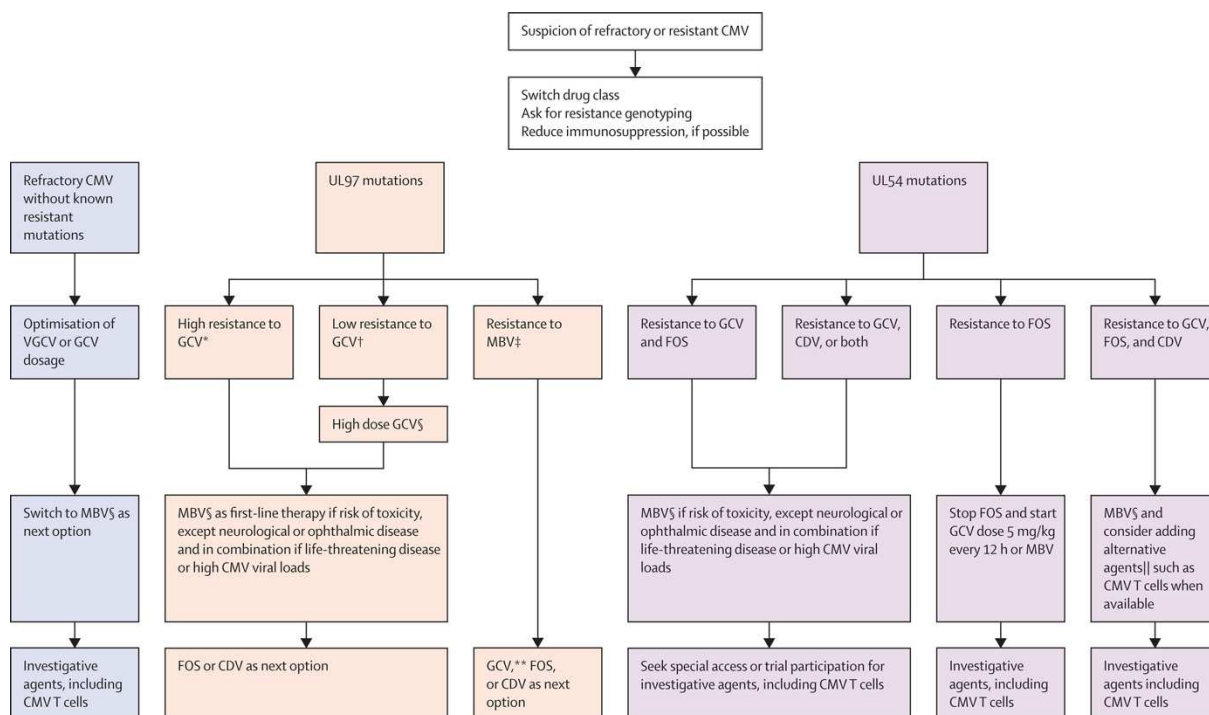


Figure 8 : Algorithme décisionnel pour le traitement des infections et des maladies à CMV résistantes ou réfractaires chez les patients HSCT (25).

CMV = cytomégalovirus. VGCV = valganciclovir. GCV = ganciclovir. MBV = maribavir. FOS=foscarnet. CDV=cidofovir. *Une résistance élevée est définie comme des mutations qui augmentent la CI50 plus de 5 fois. † Une faible résistance est définie comme des mutations qui augmentent la CI50 plus de 2 fois et moins de 5 fois. §La dose élevée de GCV est de 7,5–10,0 mg/kg toutes les 12 heures, selon la tolérance, en l'absence de maladie à CMV. ¶ Vérifier les mutations de résistance préexistantes au MBV par génotypage de résistance. L'association de MBV et de VGCV ou de GCV n'est pas recommandée. ‡ Si le MBV est administré comme traitement de première intention. ||Les agents alternatifs comprennent le léflunomide, l'artésunate, les lymphocytes du donneur (en cours d'évaluation) ou d'autres lymphocytes T activés par le CMV. **Vérifiez s'il n'y a pas de résistance croisée, peu fréquente mais possible.

2. HSV

a) Mécanisme de résistance et gènes cibles (Tableaux 5 et 6)

La résistance aux antiviraux dans les infections à HSV est liée dans 95 % des cas à des mutations affectant le gène *UL23*, codant pour la TK, une enzyme virale impliquée dans l'activation des analogues nucléosidiques tels que l'ACV et sa prodrogue VACV (2,94). Entre 50 et 80 % des résistances à l'ACV sont causées par des insertions ou délétions au niveau des répétitions de séquences homopolymériques de G ou de C du gène *UL23*, conduisant à un décalage du cadre de lecture, entraînant une perte ou une altération de l'activité enzymatique (2,50,84,95). En 2023, le CNR a retrouvé 41,9 % de changement d'acide aminé dans la TK, 26,9 % de frameshift et 25,8 % de codon stop (84).

De manière plus marginale, des mutations du gène *UL30*, codant pour l'ADN polymérase virale, peuvent conférer une résistance à l'ACV, au FOS et au CDV. Cette

rareté s'explique par le rôle essentiel de cette enzyme dans la réplication des HSV, limitant la viabilité des virus mutants (2,50,51).

Trois phénotypes principaux de mutants TK résistants à l'ACV ont été décrits dans la littérature (47,51,96,97) :

- Les mutants TK-négatifs, totalement dépourvus d'activité enzymatique.
- Les mutants TK hypoproduits ou partiel, présentant une réduction significative de l'activité enzymatique.
- Les mutants TK altérés, exprimant une spécificité modifiée du substrat ; ils conservent la capacité à phosphoryler la thymidine endogène mais sont incapables d'activer l'ACV ou le PCV.

Les deux premiers phénotypes, à savoir les formes TK-négatives et hypoproduites, sont les plus fréquemment rencontrés dans les cas de résistance à l'ACV. Dans tous les cas, l'absence ou l'altération de la TK empêche la phosphorylation initiale de l'ACV, le rendant ainsi inactif sur les souches virales mutées. Les résistances associées au gène *UL23*, codant pour la TK, se localisent principalement au niveau du site de liaison à l'ATP et de celui aux nucléosides, bien que des mutations puissent être observées sur la quasi-totalité des 376 codons (Figure 9).

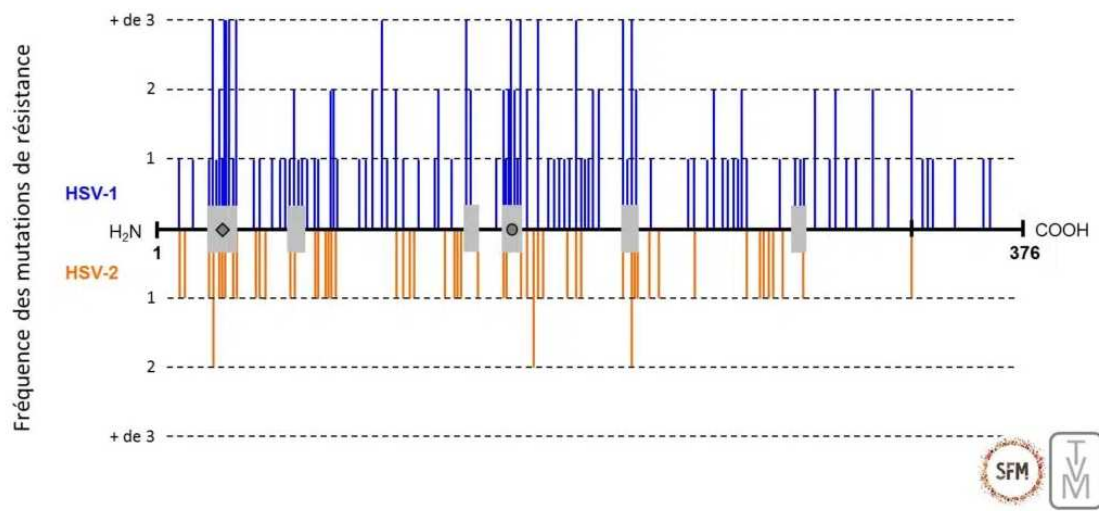


Figure 9 : Représentation schématique des différentes mutations connues et des domaines conservés de la TK des HSV-1 et HSV-2 (2).

Les régions conservées et les domaines fonctionnels de la TK (376 acides aminés) sont indiqués par des rectangles gris. Le site de liaison à l'ATP (codons 51 à 63) et le site de liaison aux nucléosides (codons 168 à 176 pour HSV-1 et 169 à 177 pour HSV-2) sont marqués avec un losange et un cercle, respectivement. Chaque codon impliqué dans la résistance aux antiviraux est représenté par un trait vertical (HSV-1 en bleu et HSV-2 en orange) dont la hauteur est proportionnelle au nombre de mutations différentes décrites à cette position.

Tableau 5 : Tableau récapitulatif des fréquences des mutations de résistances aux antiviraux HSV-1 sur les gènes UL23 et UL30. *Signification clinique incertaine

		Sauerbrei et al., 2011 (98) n=37	Burrel et al., 2013 (50) n=26
UL23	Insertion G nt 429-437	6	
	Deletion G nt 429-437	3	
	Insertion C nt 547-554	3	
	Deletion C nt 547-554	1	
	Y53C	1	
	T245M	2	
	Q104stop	1	
	L208H	1	
	Deletion A nt 1065	1	
	A156V	1	
	Deletion C nt 460-463	2	
	M121R	1	
	G200D	1	
	Q250stop	1	
	T103P	1	
	S74stop	2	
	Deletion G nt 1117-1121	1	
	T287M	1	
	R216C	2	
	V348I*	1	
	A118V*	1	
	L139V*	1	
	Y305F*	1	
	L298R*	1	
	Deletion C nt 553		2
	Deletion G nt 856		1
	C199T (Q67Stop)		1
	Deletion A nt 187 (M85Stop)		2
	Deletion G nt 277 (V120Stop)		1
	C526T (R176Stop)		1
	Deletion G nt 436 (M182Stop)		1
	Insertion G nt 436-437 (T183Stop)		2
	Insertion G nt 436-437 (D228Stop)		1
	C841T (R281Stop)		2
	Deletion CG nt 753-754 (Y305Stop)		1
	Deletion G nt 782 (L263Stop)		1
	P84S		3
	D162N		1
	L170P		2
	R176W		2
	S181N		1
	C336Y		1
UL30	A719V	1	
	G841S	1	
	A657T	1	
	N711T*	1	
	S724N		3
	T821M		1

Tableau 6 : Tableau récapitulatif des fréquences des mutations de résistances aux antiviraux HSV-2 sur les gènes *UL23* et *UL30*. *Signification clinique incertaine

		Sauerbrei et al., 2011 (98) n=6	Burrel et al., 2013 (50) n=48
<i>UL23</i>	G39E	5	
	Insertion G nt 439-440	1	
	Deletion C nt 586-590	1	
	Deletion aa 1-248		1
	C664T (Q222Stop)		1
	Deletion G nt 222 (M86Stop)		1
	Deletion G nt 280 (L98Stop)		4
	Deletion G nt 439 (M183Stop)		1
	Insertion G nt 439 (D229Stop)		1
	Deletion C nt 452 (M183Stop)		1
	Deletion C nt 467 (M183Stop)		10
	Deletion C nt 556 (L263Stop)		8
	Deletion C nt 590 (L263Stop)		1
	Deletion CTG nt 651-654 (L263Stop)		1
	Deletion G nt 782 (L263Stop)		2
	Insertion G nt 440-441 (D229Stop)		7
	Deletion G nt 440 (D229Stop)		2
	Insertion G nt 556-557 (D229Stop)		1
	Deletion 13 nt 814-826 (M348Stop)		1
	Deletion 13 nt 821-833 (M348Stop)		1
<i>UL30</i>	G201D		3
	T288M		1
	F721L*	1	

En ce qui concerne le gène *UL30*, les mutations impliquées dans la résistance aux analogues nucléosidiques concernent le plus souvent des substitutions ponctuelles d'acides aminés localisées dans les régions conservées II, III, VI et VII de l'enzyme. Il existe un phénotype décrit, les mutants ADN polymérase altérés caractérisés par un défaut d'affinité pour le substrat (94). Ces régions sont directement ou indirectement impliquées dans la reconnaissance et la fixation des nucléotides ou des pyrophosphates, ainsi que dans l'activité catalytique de l'ADN polymérase. Les mutations dans ces domaines sont fréquemment associées à une résistance croisée à plusieurs antiviraux, notamment entre l'ACV et le FOS, ce qui complique la prise en charge thérapeutique (51).

a) Fréquence et facteur de risque

La prévalence de la résistance aux antiviraux chez les patients infectés par les HSV est faible chez les personnes immunocompétentes (<1 %) (96,97,99) mais peut atteindre de 3,5 à 15,7 % en cas d'immunodépression profonde et d'une exposition à long terme aux antiviraux (51,95,99), en particulier chez les patients adultes HSCT (greffe allogénique), où l'on retrouve une prévalence allant jusqu'à 46,5 % sur la période 2007-2011 (95) (Tableau 7). Une étude a retrouvé une prévalence de la résistance aux antiviraux plus élevée pour HSV-2 que pour HSV-1 (50). 95 % des résistances décrites sont en lien avec des mutations présentes dans la région UL23, les 5 % restants sont en lien avec des mutations présentes dans la région UL30 (100,101).

En 2023, le CNR a évalué la prévalence de la résistance des HSV aux antiviraux à 13,1 % : 11,8 % pour les HSV-1 et 17,2 % pour les HSV-2. La résistance des HSV à l'ACV était très majoritairement représentée (87,7 %), suivie de la résistance croisée à ACV-FOS (10,8 %) et de la résistance croisée à ACV-FOS-CDV (1,5 %).

Sur la période 2008-2021, le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière a réalisé une étude dans laquelle 1256 prélèvements biologiques provenant de 904 patients distincts ayant une infection à HSV ou VZV ont été étudiés : 453 hommes, 451 femmes, âge médian 52 ans, 68% des patients sont ID. Les prélèvements biologiques étaient principalement des écouvillons anogénitaux (33,7 %), cutanéomuqueux (32,8 %) et cornéens (13,7 %). Les patients étaient principalement traités par (V)ACV seul (66,9 %) ou en association (20,0%). Les prévalences de la résistance aux antiviraux pour HSV-1 et HSV-2 étaient respectivement de 38 % et 44 %. Le principal facteur de risque de survenue d'une résistance aux antiviraux était l'immunodépression ($p < 0,0001$), hormis chez les patients IC souffrant de kératite herpétique ($p = \text{NS}$) (84,102).

Tableau 7 : Fréquence des résistances HSV à l'aciclovir entre 2002-2006 et 2007-2011, Frobert et al, 2014 (95)

	2002-2006			2007-2011			Total			p-value
	Nombre de résistance	Nombre d'éch	% de résistance détectée	Nombre de résistance	Nombre d'éch	% de résistance détectée	Nombre de résistance	Nombre d'éch	% de résistance détectée	
Adulte	9	600	1,4	28	464	6	37	1064	3,5	0,00006
IC	1	417	0,2	0	286	0	1	703	0,14	0,59
ID	7	182	3,8	28	178	15,7	35	360	9,7	0,0001
HSCT	40	280	14,3	260	563	46,5	300	873	34,5	0,005
VIH	3	30	10	0	7	0	3	37	8,1	0,52
Hémopathies	0	32	0	1	36	2,8	1	68	1,5	0,53
Autres tumeurs malignes	0	14	0	0	23	0	0	37	0	
SOT	0	61	0	1	33	3	1	94	1,1	0,35

b) Diagnostic et recommandations

La persistance de lésions actives dues aux HSV pendant plus de 7 à 10 jours après l'instauration d'un traitement oral à forte dose d'ACV de VACV ou de FCV sans diminution apparente de la taille de la lésion, ou d'apparence atypique voire d'émergence de lésions satellites est évocatrice d'un échec thérapeutique et doit faire penser à une potentielle résistance aux antiviraux (94). Le diagnostic des résistances aux antiviraux dans les infections à virus herpès simplex repose sur deux approches complémentaires : les tests phénotypiques et les analyses génotypiques (2,103).

(1) Tests phénotypiques

Les tests phénotypiques évaluent la sensibilité du virus à un antiviral donné en mesurant la concentration inhibitrice 50 (IC_{50}), définie comme la concentration de médicament nécessaire pour réduire de 50 % l'effet cytopathogène ou la production virale. Ces essais sont réalisés à partir de cultures virales en laboratoire, issues soit d'isolats cliniques, soit de souches virales cultivées *in vitro*. Il est important de noter que ces échantillons peuvent être hétérogènes, contenant à la fois des souches sensibles (sauvages) et des souches résistantes. Une proportion minimale d'environ 20 % de virus résistant est généralement requise pour obtenir une IC_{50} dépassant le seuil de résistance cliniquement significatif.

(2) Tests génotypiques

Plus récemment, les méthodes génotypiques se sont largement développées, en raison de leur rapidité, de leur sensibilité accrue et de leur indépendance *vis-à-vis* des cultures cellulaires. Ces analyses peuvent être réalisées directement à partir d'échantillons cliniques, sans nécessité d'isolement viral préalable.

Le diagnostic moléculaire repose sur le séquençage des gènes *UL23* (thymidine kinase) et *UL30* (ADN polymérase virale), principaux sites de mutations impliquées dans la résistance. Les gènes ciblés sont amplifiés par PCR, puis les produits d'amplification sont soumis à un séquençage. Les mutations identifiées sont ensuite comparées à des bases de données ou à des panels de mutations référencées dans la littérature. Toutefois, encore aujourd'hui des mutations observées lors du séquençage ont des conséquences fonctionnelles encore

inconnues. Il est donc essentiel de distinguer les polymorphismes naturels des véritables mutations de résistance, afin d'éviter les surinterprétations.

Parmi les techniques disponibles, le séquençage de Sanger constitue actuellement la méthode de référence pour la détection des mutations associées à la résistance antivirale. Cependant, les technologies de séquençage à haut débit (NGS – *Next-Generation Sequencing*) gagnent en popularité en raison de leur sensibilité supérieure et de leur capacité à détecter des variants minoritaires non détectables par la méthode de Sanger. Toutes les mutations identifiées par Sanger sont également détectées par NGS, mais l'inverse n'est pas toujours vrai : certaines mutations, peuvent être mises en évidence uniquement par NGS. Cette technologie offre donc une meilleure résolution pour l'analyse de populations virales hétérogènes et l'identification précoce de variants émergents (2,51,94,103).

c) Prise en charge thérapeutique

L'AVC et le PCV, deux analogues nucléosidiques largement utilisés dans le traitement des infections à HSV, nécessitent tous deux une activation par la TK virale. En raison de ce mécanisme d'activation commun, des phénomènes de résistance croisée entre ces deux molécules sont fréquemment observés. Il est donc déconseillé de substituer une molécule par l'autre en cas d'échec thérapeutique (51,96,97).

Bien que plus rares, des cas de résistance croisée entre l'ACV et le FOS ont également été rapportés, notamment chez des patients immunodéprimés ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques (104). Ces cas soulignent la complexité de la prise en charge thérapeutique dans des contextes cliniques à haut risque. En revanche, les inhibiteurs de l'hélicase-primase, ciblent une enzyme virale différente et présentent un profil de résistance distinct. À ce jour, aucune résistance croisée n'a été décrite entre ces nouvelles molécules et les antiviraux classiques, ce qui en fait des options thérapeutiques prometteuses, notamment dans les situations d'échec virologique.

La stratégie thérapeutique en cas de résistance documentée à l'ACV repose sur les principes décrits figure 10 :

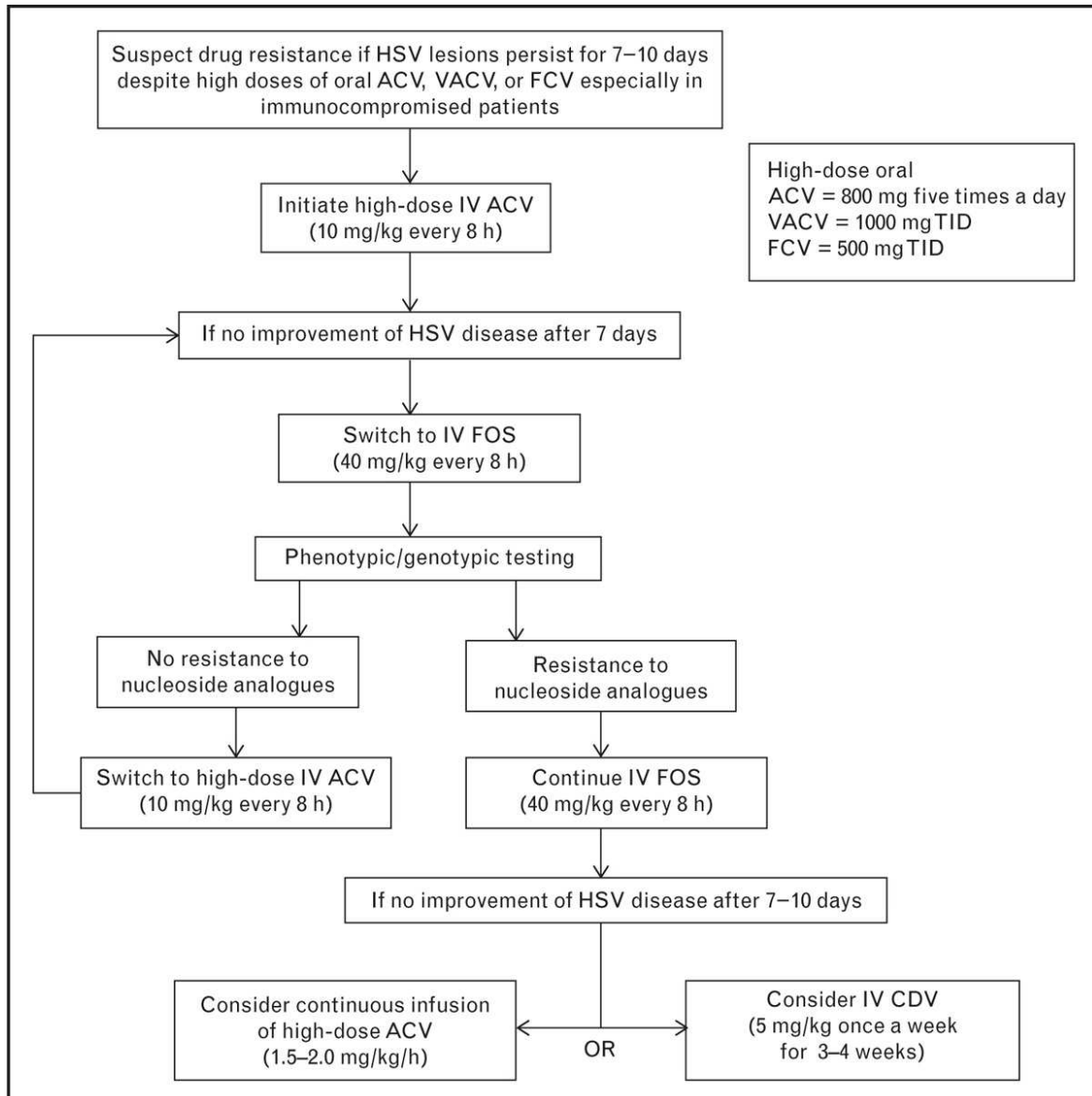


Figure 10 : Algorithme proposé pour la prise en charge des infections à HSV résistantes aux analogues nucléosidiques, Piret et Boivin et al. (94).

3. VZV

a) Mécanisme de résistance et gènes cibles (Tableau 8)

La résistance à l'ACV est principalement conférée par des mutations de la TK (ORF36) et dans une moindre fréquence par des mutations de l'ADN polymérase virale (ORF28) (100). Le génome du VZV a une teneur en GC plus faible (46%) que celui des HSV (68%), et seuls quelques segments d'homopolymères sont présents dans le

gène *ORF36* (105). Les mutations au niveau de la TK virale sont majoritairement dues à des délétions de nucléotides au niveau des domaines hautement conservés qui entraînent un décalage dans le cadre de lecture ou à l'apparition d'un codon stop. En cas de suspicion de résistance au FOS ou au CDV, il est nécessaire de séquencer le gène *ORF28*. On retrouve principalement des substitutions d'acides aminés dans le site catalytique et dans les régions conservées de l'ADN polymérase entraînant des résistances croisées à l'ACV et au FOS (94,100).

Les TK et l'ADN polymérase du VZV sont très conservées par rapport à celles des HSV, et seuls quelques polymorphismes naturels ont été identifiés dans les gènes *ORF36* et *ORF28* (106).

Tableau 8 : Tableau récapitulatif des fréquences des mutations de résistances aux antiviraux VZV sur les gènes ORF36 et ORF28.

		Sauerbrei et al., 2011 (106) n=16
ORF36	W225R	1
	Q303Stop	1
	T256M	1
	N334Stop	1
	L731*	1
	A163Stop	1
	Del19-223	1
ORF28	A955T	1
	T237K	1

b) Fréquence et facteur de risque

L'émergence de souches de VZV résistantes aux antiviraux est un phénomène rare dans la population générale, notamment chez les patients IC (94).

Sur la période 2010-2021, le CNR associé de la Pitié-Salpêtrière a réalisé une étude dans laquelle 183 prélèvements biologiques provenant de 122 patients distincts ayant une infection VZV ont été étudiés : 69 hommes, 53 femmes, âge médian de 51 ans. 75,4% des patients sont ID (HSCT, SOT, maladies auto-immunes, déficits immunitaires...). Une résistance à l'ACV a été identifiée chez 13 (soit 10,7 %) patients (dont 8 hommes, 5 femmes, âge médian 39 ans). 4 patients étaient IC et présentaient une kératite zostérienne et 9 patients ID (5 transplantations et 4 déficit immunitaire primitif) dont 8 présentaient un zona extensif (107).

Parmi l'ensemble des infections dues au VZV réfractaires aux traitements antiviraux (pour lesquelles une recherche de résistance a été demandée au CNR), la

prévalence de la résistance du VZV aux antiviraux en 2023 était de 7,1 % (84). La prévalence de la résistance du VZV aux antiviraux en 2023 était plus faible que celle calculée en 2022 (14,3%) (108). Une étude a rapporté que 27% des patients d'onco-hémato (en particulier les receveurs HSCT) ayant une infection persistante à VZV présentaient des mutations probablement associées à une résistance au VZV (109).

c) Diagnostic et recommandations

La persistance des signes cliniques d'infections par le VZV pendant plus de 10 à 14 jours après le début d'un traitement par ACV est évocatrice d'un échec thérapeutique. La recherche de résistance par génotypage du gène ORF36 et ORF28 doit être effectuée.

En pratique courante, la méthode la plus fréquemment utilisée pour l'évaluation de la résistance aux antiviraux est l'analyse génotypique rapide, reposant sur l'amplification et le séquençage de l'ADN des gènes codant pour la TK et l'ADN polymérase à partir d'échantillons cliniques. Les séquences nucléotidiques obtenues sont alors comparées à une base de données de référence, comprenant la séquence d'une souche de référence sensible de VZV. L'évaluation de la sensibilité du VZV aux antiviraux peut également être réalisée par des méthodes phénotypiques, telles que le test de réduction de plaques, basé sur l'utilisation de cultures de fibroblastes humains. Cette méthode de référence (gold standard), permet d'évaluer l'inhibition de la réplication virale en présence d'antiviraux (mesure de la concentration inhibitrice 50% en présence d'ACV). Elle permet surtout de confirmer la résistance fonctionnelle en déterminant si la souche virale se réplique malgré des concentrations élevées d'antiviraux lorsque l'on découvre une nouvelle mutation avec des méthodes génotypiques.

Toutefois, la faible sensibilité de l'isolement du VZV en culture cellulaire, ainsi que la durée prolongée nécessaire à sa mise en œuvre, limitent considérablement son utilisation en routine et est surtout utilisé dans les laboratoires experts.

Cependant, il est important de souligner que toutes les mutations de résistance et tous les polymorphismes n'ont pas encore été identifiés à ce jour. Ainsi, certaines mutations détectées, dites « de signification inconnue », nécessitent des investigations complémentaires, notamment des tests phénotypiques, afin de déterminer leur impact réel sur la sensibilité aux antiviraux et leur pertinence clinique.

d) Prise en charge thérapeutique

En cas de confirmation d'une mutation de résistance à l'ACV, le FOS peut être utilisé comme alternative, avec des résultats positifs dans plusieurs cas rapportés (110). C'est un antiviral actif directement sur l'ADN polymérase virale, en bloquant le site de liaison du pyrophosphate, il ne nécessite pas de phosphorylation par la TK virale.

Heureusement, les souches de VZV résistantes à la fois à l'ACV et au FOS sont exceptionnelles (111). Elles sont en général dues à des mutations spécifiques de l'ADN polymérase virale pouvant affecter la liaison du FOS (112). Dans ces situations de multirésistance, ou si le patient ne peut tolérer le FOS, le CDV devient le médicament de rattrapage (hors AMM dans l'indication VZV). Le CDV est un analogue nucléotidique qui n'a pas besoin de la première phosphorylation par la TK virale, il est déjà présenté sous forme monophosphorylée et est activé par les kinases cellulaires. Les mutants de l'ADN polymérase du VZV résistants à l'ACV et/ou au FOS restent en général sensibles au CDV. Ainsi, le CVD constitue une option de seconde intention pour traiter les infections à VZV réfractaires aux deux premiers antiviraux (112). Ces antiviraux sont très néphrotoxiques, ce qui limite grandement leur utilisation et peut entraîner un échec thérapeutique.

L'amenamévir, un nouvel agent antiviral, représente une option prometteuse dans le traitement des infections à VZV réfractaires aux thérapies de première et de seconde intention, en raison de son mécanisme d'action différent ciblant le complexe hélicase-primase. En cas d'impasse thérapeutique absolue, la prise en charge devient expérimentale : combinaisons d'antiviraux à différentes cibles, immunothérapie... peuvent être discutées au cas par cas en RCP.

B. Présentation de l'approche génotypique

1. Sanger

La méthode de Sanger, aussi appelée séquençage par terminaison de chaîne, est une technique de référence qui permet de déterminer avec précision l'ordre des nucléotides dans un fragment d'ADN. Cette technique permet de détecter les mutations présentes dans plus de 20 % de la sous-population virale (113). Le principe est décrit dans la figure 11.

Succinctement, la première étape consiste à extraire un fragment d'ADN de l'échantillon. Ce fragment est ensuite chauffé afin de séparer les deux brins de la

double hélice : l'ADN se déroule et les brins deviennent simples. On abaisse alors la température et on ajoute une amorce d'ADN, une courte séquence simple brin, spécifique de la région d'intérêt. Cette amorce se fixe sur l'un des brins d'ADN cible et sert de point de départ au séquençage, un peu comme une ligne de départ. Puis, la température est légèrement augmentée. On introduit alors des nucléotides libres (adénine, thymine, cytosine ou guanine) ainsi qu'une enzyme appelée ADN polymérase. En partant de l'amorce, cette enzyme assemble un brin complémentaire en ajoutant les nucléotides un à un.

Quatre réactions de séquençage distinctes sont nécessaires, chacune correspondant à un type de nucléotide. Pour cela, on ajoute à chaque mélange des désoxynucléotides marqués par un fluorochrome spécifique (vert pour l'adénine, rouge pour la thymidine, jaune pour la guanine et bleu pour la cytidine). Ces derniers agissent comme des terminateurs de chaîne : lorsqu'ils sont incorporés, ils stoppent l'élongation du brin d'ADN. L'ADN polymérase les intègre de façon aléatoire, ce qui produit une multitude de fragments d'ADN de longueurs différentes.

Ces fragments sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel. Le gel, traversé par un courant électrique, trie les fragments selon leur taille : les plus courts migrent plus loin que les plus longs. Une fois la séparation terminée, on visualise les fragments grâce à un appareil de radiographie ou une lumière UV, les colorants permettant d'identifier chaque fragment.

Enfin, on lit le gel en observant les bandes visibles dans chaque colonne, chacune correspondant à un nucléotide (A, T, C ou G). L'ordre des bandes permet de reconstituer la séquence des nucléotides du fragment d'ADN analysé.

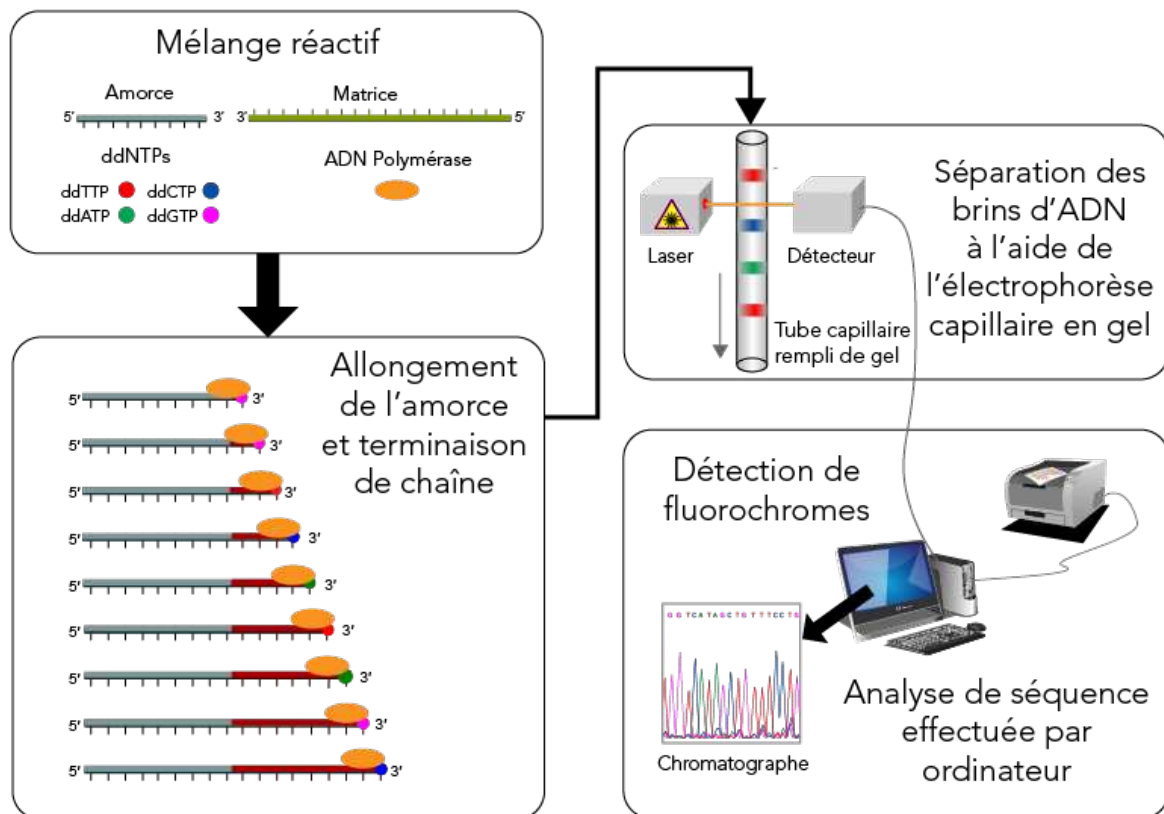


Figure 11 : Schéma explicatif de la méthode de séquençage Sanger (92).

2. NGS

Contrairement au séquençage Sanger, qui ne permet l'analyse que d'un seul fragment d'ADN à la fois, le séquençage de deuxième génération, également appelé Next Generation Sequencing (NGS), permet d'acquérir simultanément des données sur des millions de fragments d'ADN sur plusieurs régions d'intérêt différentes du gène. Ces fragments forment ce que l'on appelle une *bibliothèque*. Cette avancée technologique a considérablement accéléré le séquençage de l'ADN et de l'ARN, surpassant largement les méthodes traditionnelles comme celle de Sanger, et a ainsi révolutionné les domaines de la génomique et de la biologie moléculaire.

Les technologies NGS suivent généralement trois étapes clés (114) :

- Préparation de banques : l'ADN est fragmenté de manière aléatoire, puis des adaptateurs spécifiques sont ligués à ses extrémités pour créer une banque.
- Amplification : la banque est ensuite amplifiée à l'aide de techniques comme la PCR ou l'amplification clonale.
- Séquençage : les fragments sont séquencés selon des méthodes variables, en fonction de la technologie employée.

En tant que technologie hautement évolutive, le NGS peut être appliqué à des régions génomiques ciblées ou à l'ensemble du génome, selon les besoins. Parmi les plateformes les plus couramment utilisées figure la technologie Illumina®. Il s'agit d'une approche de « Short reads sequencing », qui repose sur l'amplification clonale et le séquençage par synthèse (SBS). Ce procédé permet l'identification des bases d'ADN au moment même de leur incorporation dans le brin en cours de synthèse, chaque base émettant un signal de fluorescence distinct utilisé pour déterminer la séquence. D'autres technologies existent de SBS, comme Ion Torrent®, qui proposent des approches alternatives pour répondre à divers besoins en matière de séquençage. Plus récemment des approches dites de « Long read sequencing » sont développées (PacBio®, Nanopore®). Elles offrent l'avantage de s'affranchir de l'étape complexe d'alignement des fragments séquencés par les techniques usuelles de NGS.

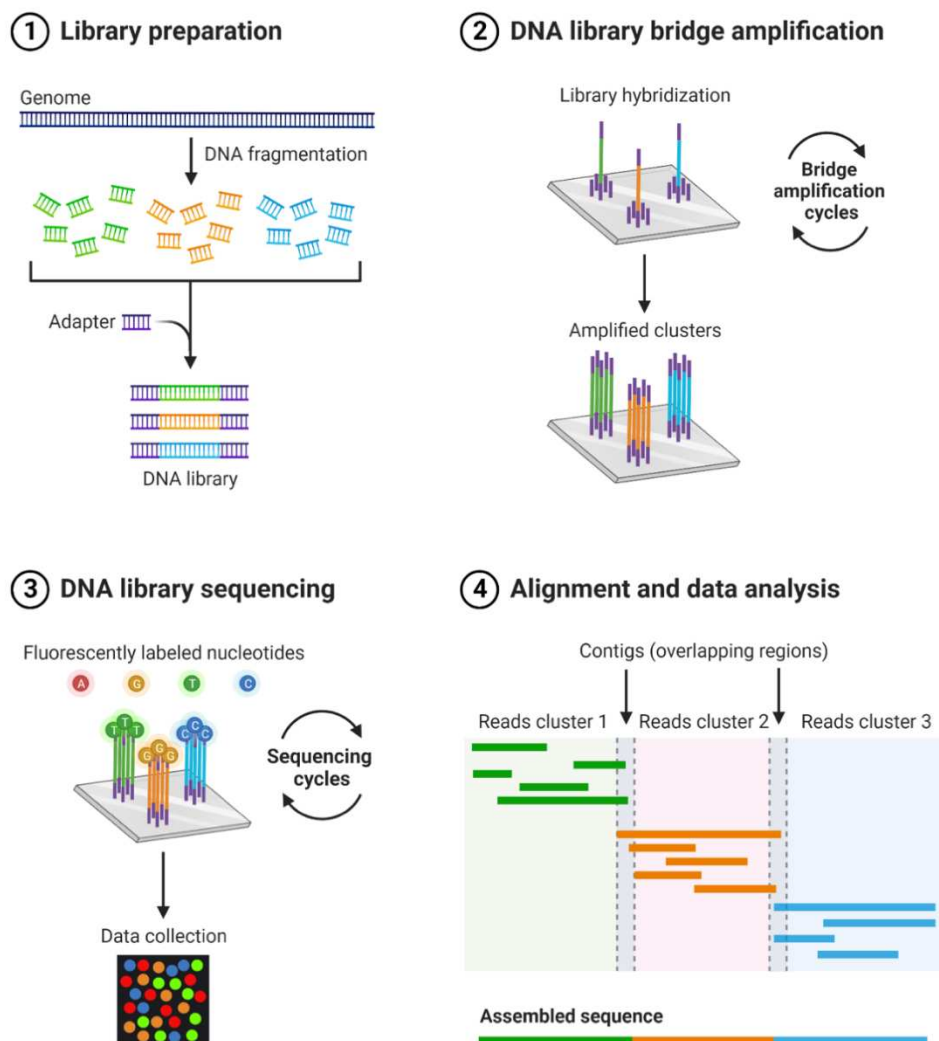


Figure 12 : Schéma descriptif du principe du NGS (Illumina®).

C. Recommandations

1. En termes de couverture et de choix de gènes

a) CMV

Classiquement, la recherche de résistance est effectuée sur le même prélèvement que celui utilisé pour la quantification de la CV CMV. Les résultats sont plus fiables lorsque la CV est > 1000 UI/mL (soit $3 \log_{10}$ /mL). Devant une atteinte d'organe, il est recommandé d'effectuer la recherche génotypique de résistance sur le tissu correspondant au site atteint (écouvillon oculaire, LCS, biopsie de greffon) (115,24).

Les recommandations préconisent que les tests génotypiques doivent systématiquement inclure le séquençage de la région *UL97* (codons 335 à 665) et de la région *UL54* (codons 290 à 1000) chez les patients traités par GCV ou VGCV. En cas de traitement par LTV la région principale à séquencer est *UL56* (codons 229 à 369), bien que certaines mutations de bas grade aient été identifiées à d'autres endroits dans le gène *UL56* ainsi que sur *UL51* et *UL89* (24). Le séquençage de la région *UL27* est recommandé chez les patients traités par MBV.

Les principaux génomes de référence utilisés pour l'étude de la résistance du CMV sont :

- Souche AD169 (GenBank X17403.1). Il s'agit du génome de la première séquence nucléotidique publiée du CMV (1990) (116,117).

- En 2004, Dolan *et al.* ont séquencé (Sanger) la souche Merlin (GenBank AY446894), qui est maintenue reconnue comme la souche sauvage de référence pour l'étude du CMV. Il s'agit d'une souche isolée d'une urine d'un enfant atteint de CMV congénital (118).

(1) *UL54* (Alain et al. 2004) (119)

Les amorces utilisées pour le séquençage du gène *UL54* sont :

- Outer primers :

5'-CGG CAA CAA CCT ATA CGA GG-3'

5'-CTC CGA CGA AGA AGA GAA-3'

- Inner primers :

5'-GTC TCA GCA GCA TCA TCA CC-3'

5'-TTG CTT CGT AAG CTG TCA GC-3'

- Sequencing primers

UL54.1, 5'-TTG CTT CGT AAGCTG TCA GC-3';
 UL54.2, 5'-TCG TAA CGA TTC ACG GAG C-3';
 UL54.3, 5'-CCG ATT TGC AGT GTG TGT CT-3';
 UL54.4, 5'-ATG TCG ATA ACC ACCGAA CC-3';
 UL54.5, 5'-CGC TTC TGC AAG TTG CCT A-3';
 UL54.6, 5'-TGGAGT AGC AGA GGT TGT GG-3';
 UL54.7, 5'-CGT TGC TGT GTC ACC TAACG-3';
 UL54.8, 5'-CAC GGC TCT GAA AAG TTG TC-3';
 UL54.9, 5'-CCA CAACCT CTG CTA CTC CA-3';
 UL54.10, 5'-CGC CGT ACT TCT TGA CTT CA-3';
 UL54.11, 5'-CCT CTC GCT GCT CTT TGA GG-3';
 UL54.12, 5'-GTC TCAGCA GCA TCA TCA CC-3

(2) UL97 (Hantz et al. 2010) (120)

TABLE I. Primers Used for Amplification and Sequencing of the 2,372 Base Pair Fragment Including the Full-Length Sequence of *UL97* Gene

Primers used for amplification	
External PCR primers	
UL97 EX 1:	5'-CCG ATA CAG TCA GCG AAC G-3'
UL97 EX 2:	5'-TAA GAC AGA CGC AGC ACC G-3'
Internal PCR primers	
UL97 INT1:	5'-ATA GCA ATC TCC GTC ACG CC-3'
UL97 INT 2:	5'-TCC TCA TCG TCG TCG TAG TCC-3'
Primers used for sequencing	
Forward primers	
UL97.1:	5'-CCA ACG ACC AGA TCA TCA CC-3'
UL97.3:	5'-GCA CAA CGT CAC GGT ACA TC-3'
UL97.5:	5'-CCT ATC CGG ATT ACA ACG AGC-3'
Reverse primers	
VS UL2:	5'-TGT GCT GAC GGA ACT CAG-3'
UL97 1 Rev:	5'-GGT GAT GAT CTG GTC GTT GG-3'
UL97.2:	5'-GAT GTA CCG TGA CGT TGT GC-3'
UL97.4:	5'-AGA TGA GCA GCT TCT GCA GC-3'
UL97.6:	5'-TTC TGA CGT ATT CGT GCA GC-3'

(3) UL56 (Champier et al. 2008) (121)

Outer primers & Inner primers :

UL56-Ext1 5'-CGT GTC GCT GAT GGA CAA GT-3'
 UL56-Ext2 5'-GTT GGA ATA ATC GTC GGG A-3'
 UL56-Int1 5'-GCG AGT TAT TTG TGC ACC G-3'
 UL56-Int2 5'-ATA GGC TTC ATC GAG GTG CA-3'

Sequencing primers

UL56-1 5'-GCG AGT TAT TTG TGC ACC G-3'
 UL56-2 5'-ATA GGC TTT TGA GGG CCG A-3'
 UL56-3 5'-CCG TCA AGC CAG TCC GAT-3'
 UL56-4 5'-CCT CTG ACT GTG AGT ACT GCT GT-3'
 UL56-5 5'-GCA TAT TCT CGA GGA GAT TCG-3'
 UL56-6 5'-TTC TGC AGC ACG TTT AGG TC-3'
 UL56-7 5'-CTG CAC CGA TCG TTA TCC CCT-3'
 UL56-8 5'-ACG TCG TAC GAG AAG TAT GGC-3'

(4) UL27 (Hantz et al. 2009) (122)

Table 1. Oligonucleotides for external and internal amplification and sequencing of HCMV *UL27* gene

Oligonucleotide	Sequence	Expected size, bp
Amplification		
UL27-Ext1 (forward)	5'-TTCACGTA CTGCTG TACGGTACG-3'	2,518
UL27-Ext2 (reverse)	5'-AGTTCTCACC GGCTGA TCTCG-3'	
UL27-Int1 (forward)	5'-CGTGAAGGAGGAGACTGTGA-3'	2,155
UL27-Int2 (reverse)	5'-CCACCAGCAGCTTCCAGTAT-3'	
Sequencing		
UL27-1 (forward)	5'-GCACGACTGATCTCTGGCA-3'	-
UL27-2 (reverse)	5'-AGCTGTCTGGTCCATTACAGC-3'	-
UL27-3 (forward)	5'-GCAACAAAGAGGAGTGGTCA-3'	-
UL27-4 (reverse)	5'-TGACCACTCTCTTTGTCGC-3'	-
UL27-5 (forward)	5'-CGCCAGTATTACGTCACGACGAGT-3'	-
UL27-6 (reverse)	5'-CCACCAGCAGCTTCCAGTAT-3'	-

bp, base pair; HCMV, human cytomegalovirus.

bp, base pair; HCMV, human cytomegalovirus.

(5) UL89 (Champier et al. 2007) (123)

Table 1. Primers used for amplification and sequencing of UL89 gene

Oligonucleotide	Direction	Sequence	Expected size
Amplification			
UL89-A-Ext1	Forward	5'-AGCGATCGTAAGGTGACACG-3'	1,690 bp
UL89-A-Ext2	Reverse	5'-CCATGACGCAGTCGCTCAT-3'	
UL89-B-Ext1	Forward	5'-GGATGTCGTTAACGCACTCC-3'	1,847 bp
UL89-B-Ext2	Reverse	5'-TTTGTGTTCAAITCGCTGCA-3'	
UL89-A-Int1	Forward	5'-ACGAAGACGAACGAGTGACG-3'	1,185 bp
UL89-A-Int2	Reverse	5'-CTGTCCGGTGCTTAAGAACC-3'	
UL89-B-Int1	Forward	5'-TAGGCTTCCAGTCGAGCGT-3'	1,480 bp
UL89-B-Int2	Reverse	5'-TTTGTGTTCAAITCGCTGCA-3'	
Sequencing			
UL89-1	Forward	5'-ACGAAGACGAACGAGTGACG-3'	—
UL89-2	Reverse	5'-GGATGATGAACCAAGTCTTGC-3'	—
UL89-3	Forward	5'-GATCCGCAGTTTCAGCAGAT-3'	—
UL89-4	Reverse	5'-CTGTCCGGTGCTTAAGAACC-3'	—
UL89-5	Forward	5'-TAGGCTTCCAGTCGAGCGT-3'	—
UL89-6	Reverse	5'-CCTCAGAACTCTCGGAGAGGT-3'	—
UL89-7	Forward	5'-ACAGCAGCTCAACACCAAC-3'	—
UL89-8	Reverse	5'-GGAGAACGACCTTGTCAACG-3'	—

b) HSV

Au vue de la diversité des mutations de résistance identifiées, et en l'absence de recommandations pratiques, il est conseillé que les tests génotypiques couvrent l'intégralité des séquences des gènes *UL23* et *UL30*. Le génome de référence utilisé pour l'étude de la résistance d'HSV-1 est le génome de la souche HSV-1 17 (GenBank NC_001806) (124) et pour HSV-2 celui de la souche HG52 (GenBank Z86099.2) (125).

(1) UL23 (Burrel et al. 2010) (126)

TABLE 1. Primers used for amplification and sequencing of HSV-1 *UL23* and *UL30* genes

Target gene	Function	Name	Sequence (5'→3') ^a
UL23	First-round PCR (outer primers)	TK1-F1	F: TAACCCCAACGAACCATATAA
		TK1-R1	R: CGAATTCGAACACGCAGAT
	Second-round PCR (inner primers)	TK1-F2	F: GGTGGGGTATCGACAGAGTG
		TK1-R2	R: GATCTTGGTGGCGTGAAGT
	Sequence reaction	TK1-A	R: TATGGGCTGCTTGCCAATAC
		TK1-B	F: GTTATACAGGTCGCCGTTGG
		TK1-C	R: CCTCGACCAGGGTGAGATA
		TK1-D	F: GGTCAAGATGAGGGTGAGG
		+ TK1-F2 and TK1-R2	

(2) UL30 (Burrel et al. 2010) (126)

UL30	First-round PCR (outer primers)	POL1-F1	F: CGGCTACGTCACTCTCCTGT
		POL1-R1	R: CGGAGATTCCGACCGTGT
	Second-round PCR (inner primers)	POL1-F2	F: GCCGACGCGAATAAACC
		POL1-R2	R: GGCCGCAGACATTTATTGTAA
	Sequence reaction	POL1-A	R: GCTTGAGGTGACCGTCGT
		POL1-B	F: CGTACTATAGCGAATGCGATGA
		POL1-C	R: GAAGTGGTCCGCGGAGAT
		POL1-D	F: GGTGACAGGCACCTACAAT
		POL1-E	R: ACCGAAAAGGCCAGCTC
		POL1-F	F: AGGACGAGCTGGCCTTTC
		POL1-G	R: CACGGCGTTGAGCTTGTAG
		POL1-H	F: GTGTGGGACATAGGCCAGAG
		POL1-I	R: GTCCTCCCCTCCTCCTC
		POL1-J	F: CCGACCAGAAGGGCTTTATT
		POL1-K	R: GCTGCTTGTCAGGAGCAC
		POL1-L	F: CCATGCGAAAAGCAGATCC
		POL1-M	R: TCTTACCCCGTAGATGACG
		POL1-N	F: ATCAAACTCGAGTGCAGAAA
		POL1-O	R: GCGACCGTCTCCTCTACCTC
	POL1-P	F: CAGGTCCCGTCCATCAAG	
	+ POL1-F2 and POL1-R2		

^a F, forward; R, reverse.

c) VZV

Au vue de la diversité des mutations de résistance identifiées, du manque de données et en l'absence de recommandations, il est conseillé que les tests génotypiques couvrent l'intégralité des séquences des gènes *ORF36* et *ORF28*. Le génome de référence utilisé pour l'étude de la résistance du VZV était initialement celui de la souche de référence historique Dumas (GenBank NC_001348) (127).

(1) ORF36 (Perrier et al. 2016) (128)

Table 1
Primers used for amplification and sequence analysis of VZV full-length ORF36 TK and ORF28 DNA polymerase.

Gene	Function	Name	Sequence (5' → 3')
ORF36	First-round PCR (outer primers)	VZV.TK-F1	F: ACAGCCCTTTGAACATCCAC
		VZV.TK-R1	R: CGCTGTACTTGGCGTACAA
	Second-round PCR (inner primers)	VZV.TK-F2	F: GATAACGGCGACAGGAGTTT
		VZV.TK-R2	R: AAGCGGGATTAAAGGATGT
	Sequence reaction	VZV.TK-A	R: TAGTTGAGGCGATTG GGTGT
		VZV.TK-B	F: CACCAACCGGATCTTACTCA
		VZV.TK-C	R: CGCGTGCCAGTTGTAGTT
		VZV.TK-D	F: CGGTTAATCTGCCGTTTGT
		+ VZV.TK-F2/R2	

(2) ORF28 (Perrier et al. 2016) (128)

ORF28	First-round PCR (outer primers)	VZV.POL-F1	F: GGGAAATCTGTTCACCTCCA
		VZV.POL-R1	R: CCAAAACCCAGTCTGTCGAT
	Second-round PCR (inner primers)	VZV.POL-F2	F: GCGTGTCGGGGTATAAAAT
		VZV.POL-R2	R: TATGCGGAACCAACAACAA
	Sequence reaction	VZV.POL-A	R: AGACAGGGTCAAATCCCAAA
		VZV.POL-B	F: GGATCTCCACGTAGCAAAAGC
		VZV.POL-C	R: CCAAAAAAGCGTACGAGGTA
		VZV.POL-D	F: AGGACAAAACAGACCGTTG
		VZV.POL-E	R: TATATCGATCCGGTGGTCGT
		VZV.POL-F	F: CGTTTTCTCCAACTGTAAGG
		VZV.POL-G	R: TCAACGGTCTCATATCTGGA
		VZV.POL-H	F: TCCCGGAATGCTTTGTAGG
		VZV.POL-I	R: AGCGACGTTGAAATTGACTG
		VZV.POL-J	F: GATGTGTTGCATCGGGAAC
		VZV.POL-K	R: GACCGCTTGGTACCGTTATT
		VZV.POL-L	F: ACTCGTACCGGAACGTATG
		+ VZV.POL-F2/R2	

2. En termes de profondeur

La mise en place en routine au laboratoire d'une technique génotypique appliquée à la recherche de résistance du CMV, des HSV et du VZV par NGS

nécessite l'identification et la définition de certains prérequis en termes de validation de méthode (Cofrac 2019). A notre connaissance, il n'existe pas de recommandations spécifiques relatives à l'un de ces virus. Nous nous appuyerons donc sur des directives internationales plus larges, destinées à la validation des approches de NGS appliquées à l'identification et/ou la caractérisation des agents infectieux (129).

L'établissement de critères qualité (QC) pour le rendu des séquences est un préalable indispensable au développement de la technique. Il convient de vérifier la couverture de l'ensemble des régions d'intérêt (pour les approches Sanger ou NGS). D'autres critères doivent être établis au préalable concernant le NGS :

- La validité du run (nombre total de reads générés, nombre de reads mappés à la séquence de référence) ;
- L'absence de contamination inter-prélèvement (adéquation avec le traitement, adéquation avec d'éventuelles antécédents, mutations récurrentes si multisite, conformité du contrôle négatif...) ;
- Les critères d'analyse des variants et notamment le nombre minimal de reads par position nucléotidique. En l'absence de recommandations spécifiques, nous présentons ici les grandes lignes pouvant aider à la mise en place de tels critères.

(i) Une règle consensuelle admise dans la communauté scientifique dicte la recommandation suivante :

Couverture minimale par position nucléotidique = $10 \times \text{l'inverse du seuil}$

Exemple pour un seuil à 20% : $10 \times (1/0,20) = 50X$

Exemple pour un seuil à 5% : $10 \times (1/0,05) = 200X$

(ii) Bien que souvent imprécis ou incomplets, certains articles de la littérature précisent les critères qualités retenus pour l'analyse des séquences et l'interprétation des résultats (Tableau 9).

Tableau 9 : Critères retenus pour l'analyse des séquences et l'interprétation des résultats de NGS appliqués à la résistance au CMV, HSV et VZV.

Technologie de séquençage	Population	Virus et régions cibles	Critères qualité définis	Référence
MiSeq (2x151 pdb paired-end)	Transplantés	CMV UL54 et UL97	- Profondeur minimale moyenne : 40X - Profondeur minimale moyenne par position d'intérêt : 20X - Seuil choisi : 15%	Streck et al. 2023 (92)
Miseq (2x300 pdb paired-end)	Adultes et enfants immunodéprimés (68 échantillons, 20 patients)	CMV Sonde de capture génome entier	- Profondeur minimale moyenne : 50X - Profondeur minimale moyenne par position d'intérêt : 20X - Seuil choisi : 2%	Hage et al. 2017 (130)
Miseq (2x250 pdb)	Non caractérisée	CMV UL54, UL56 et UL97	- Profondeur minimale moyenne de 10X sur 95% de la région d'intérêt - Profondeur minimale moyenne : 30X - Profondeur minimale moyenne par position d'intérêt : 5X - Seuil choisi : 5 et 20%	Von Bredow et al. 2023 (131)
MiSeq (v3, 2 × 300 bp)	59 échantillons (31 HSV-1 et 28 HSV-2), patients immunodéprimés	HSV UL23 et UL30	- Qualité des séquences nucléotidiques : Phred Score minimal Q30 - Qualité des séquences en acide-aminés : Phred Score minimal Q20 - Profondeur minimale moyenne par position d'intérêt : 10X	Mercier-Darty et al. 2019 (132)
MiSeq	Case-report Infection à VZV chez un transplanté cardiaque	VZV ORF36 et ORF28	- Qualité des séquences nucléotidiques : Phred Score minimal Q30 - Qualité des séquences en acide-aminés : Phred Score minimal Q20 - Profondeur minimale moyenne par position d'intérêt : 10X	Mercier-Darty et al. 2018 (133)

Un écueil à ne pas méconnaître lors de l'étude génotypique de la résistance des alphaherpesvirus et du CMV est la possibilité de compartimentalisation temporelle et spatiale de la résistance. A titre d'illustration, citons par exemple la compartimentalisation d'une souche de CMV résistante aux antiviraux dans le système nerveux central, alors que seule une population sensible sauvage a été mise en évidence dans le compartiment sanguin. Parmi les hypothèses évoquées, l'exposition préalable du patient aux antiviraux durant une longue période pourrait avoir contribué à la sélection de la souche résistante. Celle-ci aurait ensuite ensemencé le compartiment méningé, tandis que la population sauvage, de par son meilleure fitness, aurait réémergé au niveau sanguin (134). De telles discordances sont rapportées pour le VZV, avec des souches résistantes dans le SNC ou les prélèvements vésiculaires, tandis que la population sauvage circule de manière concomitante dans le plasma (135). La compartimentalisation spatiale de populations avec des profils de sensibilité différents est également décrite avec HSV-1 (47) et HSV-2 (136).

En pratique, ces différents éléments confirment (i) que le génotypage de résistance sur le compartiment plasmatique n'est pas prédictif de la sensibilité aux antiviraux dans les autres compartiments où a lieu la réplication virale ; (ii) que la détermination de la sensibilité aux antiviraux doit être préférentiellement effectuée dans l'ensemble des compartiments où la réplication virale est présente ou suspectée.

La non-sélection de souches résistantes aux antiviraux peut-être en partie évitée par le juste dosage des antiviraux (137), travail d'équilibriste chez des patients polymédicamentés fragiles sous immunosuppresseurs. Le suivi régulier des charges virales CMV est d'importance cruciale, pour objectiver au plus vite une infection à CMV réfractaire. Le phénomène de compartimentalisation temporelle de la résistance désigne la sélection de sous-population résistante (le plus souvent, cette sous-population circule de façon minoritaire) au décours de la prise en charge du patient. Ces sous-populations peuvent être mises en évidence par la technique Sanger lorsque la population virale minoritaire représente au moins 20% des virions. Le NGS, en fournissant une vision plus détaillée des sous-populations virales permet une détection plus rapide des souches virales minoritaires potentiellement résistantes. Quelques cas cliniques d'infections à CMV (115) ou HSV (138) rapportent la mise en évidence de sous-populations virales minoritaires et l'apport du NGS. Cependant, à l'heure actuelle, ces analyses sont souvent réalisées à titre rétrospectif pour documenter des

cas d'infections réfractaires. En effet, malgré l'automatisation et la vulgarisation du NGS, il est rarement possible de lancer une telle technique pour un patient à la fois.

D. Revue des techniques actuelles de NGS

1. CMV

Plusieurs études ont utilisé le séquençage NGS pour rechercher les mutations de résistances aux antiviraux du CMV notamment la technique de séquençage de Roche 454 (139), Illumina® MiSeq platform (140,141), le séquençage Oxford Nanopore Technologies (142) et Ion Torrent (143).

a) Techniques utilisées par le CNR en France (CHU de Limoges)

Séquençage Sanger sur 3500xII Dx genetic analyzer (CEIVD)

Séquençage NGS sur Proton S5 (Life technologies)

b) Techniques utilisées par les laboratoires associées (Pitié-Salpêtrière)

Séquençage Sanger sur ABI PRISM 3730 Genetic Analyzer

Séquençage NGS sur GridION (Oxford Nanopore Technologies)

2. HSV

Techniques utilisées par le CNR en France (CHU de Limoges) :

Séquençage Sanger sur 3500xII Dx genetic analyzer (CEIVD)

Séquençage NGS : Proton system (Ion Torrent)

Techniques utilisées par les laboratoires associées (Pitié-Salpêtrière) :

Séquençage Sanger sur ABI PRISM 3730 Genetic Analyzer

Séquençage NGS sur GridION (Oxford Nanopore Technologies)

3. VZV

Techniques utilisées par le CNR en France (CHU de Limoges) :

Séquençage Sanger sur 3500xII Dx genetic analyzer (CEIVD)

Techniques utilisées par les laboratoires associées (Pitié-Salpêtrière) :
Séquençage Sanger sur ABI PRISM 3730 Genetic Analyzer
Séquençage NGS sur GridION (Oxford Nanopore Technologies)

E. Bases de données

L'essor du NGS a favorisé la description de nouvelles mutations. Il convient de faire la distinction entre les simples mutations de polymorphisme naturel (sans impact sur la sensibilité aux antiviraux) et les véritables mutations de résistance. Le recensement de toutes ces mutations (polymorphismes *versus* mutations de résistance) est nécessaire pour pouvoir les étudier via des analyses phénotypiques. Cependant, à la différence du VIH ou des hépatites, pour lesquels de très nombreux outils existent, les ressources pour le CMV (et d'autant plus pour HSV et VZV) sont limitées. Ainsi, le premier outil disponible est récent et a été mis à disposition par l'Institut de Virologie d'Ulm dans les années 2010. Il s'agit de l'outil MRA (Mutation Resistance Analyser Tool) (144), qui permet l'étude du CMV (*UL54*, *UL56*, *UL89* et *UL97*), de l'HSV-1 (*UL23* et *UL30*) et de l'hépatite C (NS3). Lors de la création de la base de données, 50 mutations de résistance sur le gène *UL97* et presque 150 pour le gène *UL54* étaient déjà décrites (145). La base mise en ligne permet de comparer la séquence obtenue avec celle d'une souche de référence (TB40-BAC4 pour le CMV), et d'obtenir une interprétation du profil de sensibilité de la souche. La base de données fournit également le ratio de la valeur de l' EC_{50} comparée à la souche sauvage médicament par médicament, des données concernant le fitness viral résiduel et les références bibliographiques associées. Si une mutation non connue est mise en évidence, elle sera implémentée dans la base en ligne.

Plus récemment, une base de données pour les virus CMV, HSV-1, HSV-2, VZV et HHV-6 a été développée par le département Infection, Immunité et Inflammation du Great Ormond Street Institute of Child Health (Londres). La base s'appelle HerpesDRG pour Herpesvirus Drug Resistance Genotyping. Une première particularité de cette base est une actualisation plus régulière en lien avec les données de la littérature (la dernière mise à jour de la base MRA remonte, par exemple, à l'automne 2022, *versus* automne 2024 pour la base HerpesDRG). Elle est également beaucoup plus exhaustive que la base MRA, puisqu'elle comporte les données relatives (i) aux gènes *UL97* - *UL54* (GCV, CDV, FOS), au gène *UL27* (MBV), et aux gènes *UL56* – *UL89* – *UL51* (LTV) pour le CMV ; (ii) aux gènes *UL23* – *UL30* (ACV, FOS, CDV) ainsi qu'aux gènes *UL5* et *UL52* pour l'aménamévir et le pritélivil et (iii)

aux gènes *ORF28* et *ORF36* pour le VZV. Les mutations en lien avec *ORF55* et *ORF6* (recherche de résistance à l'aménamévir et au pritélivir) du VZV ne sont toutefois pas rapportées. Le fonctionnement de la base est identique à celui de l'outil MRA, avec téléchargement de la séquence nucléotidique directement en ligne. La base de données fournit un rapport de résistance comportant une interprétation de la sensibilité aux antiviraux associée à un degré de preuve (146).

Enfin, la base de données développée par le CNR des Herpesvirus (Limoges) propose une banque de données impliquant une revue des nouvelles mutations par un comité d'experts internationaux. Elle permet de proposer aux scientifiques et aux cliniciens la réalisation des tests phénotypiques dans des laboratoires de référence lors de la soumission de mutations non décrites à ce jour. Cette base dénommée CHARMD (Comprehensive Herpesviruses Antiviral (Drug) Resistance Mutation Database) est évolutive, revue et mise à jour régulièrement par le comité international (dernière mise à jour en avril 2025) (147). La base est dédiée au CMV (gènes à disposition *UL27* – *UL51* – *UL54* – *UL56* – *UL89* et *UL97*). Adossée à cette base de données, a été développé l'outil HSA (Herpesvirus Sequence Analysis) permettant la soumission de la séquence générée et l'obtention d'un rapport de sensibilité aux antiviraux (148).

III. Données épidémiologiques : présentation des données locales

A. Matériels et méthodes

1. Conception de l'étude

Nous avons réalisé une étude monocentrique rétrospective, en incluant tous les patients du CHU de Lille chez lesquels une recherche de résistance génotypique aux antiviraux, pour le CMV, les HSV ou pour le VZV a été réalisée entre le 1^{er} janvier 2014 et le 31 décembre 2024. Les patients ont été divisés en deux groupes en fonction des résultats des tests de résistance : sensible (S) en cas d'absence de mutations de résistance et résistant (R) en cas de présence d'au moins une mutation de résistance à un antiviral. L'ensemble des analyses a été réalisée par le CNR des Herpesvirus (Limoges).

Les données biologiques ont été recueillies à partir d'une extraction de la base de données du logiciel de validation du laboratoire du CHU de Lille, Molis®. Concernant les données cliniques et thérapeutiques, les résultats ont été recueillis à

partir des dossiers médicaux informatisés, stockés sur le logiciel Sillage® utilisé au CHU de Lille.

La révision des indications de génotypage de résistance du CMV implique :

- Qu'avant 2018 : Les patients inclus ont une persistance de la réplication virale depuis plus de 3 semaines (CNR recommandations, Hantz et al. 2010 and ORPhaViC cohort).
- Depuis 2018 : Les patients ont une persistance de la CV depuis plus de 2 semaines sous traitement approprié ou une introduction de MBV (après 2023) (International consensus 2017 and révisions CID 2024) (149).

Une revue de prescription a été réalisée en amont, pour exclure d'éventuelles erreurs de prescription. L'indication des génotypes a été considérée comme justifiée, même si les CV sont < 1000 copies par mL.

2. Analyses statistiques

L'âge en années (variable quantitative discrète) a été décrit en termes de moyenne \pm écart-type. La CV (variable quantitative continue) a été décrite avec la médiane.

La comparaison des deux groupes a été étudiée à l'aide d'un test du Chi deux pour les variables qualitatives ou de Fisher exact (lorsque les conditions de validité du test du Chi-deux ne sont pas vérifiées), et à l'aide d'un test de Mann-Whitney-Wilcoxon pour les variables continues.

Les statistiques ont été réalisées avec le logiciel GraphPad Prism 8.0.2.

B. Résultats CMV

89 patients sur la période 2014-2024 ont été inclus dans l'étude. L'incidence de la résistance aux antiviraux dans notre cohorte est de 15,7% (groupe résistant R (n=14) *versus* groupe sensible S (n=75)).

Les caractéristiques cliniques des patients ainsi que la description de l'infection à CMV sont présentées dans le Tableau 10.

1. Données démographiques

L'âge moyen des patients était comparable entre les deux groupes ($51,2 \pm 17,7$ ans pour le groupe R contre $47,8 \pm 19,5$ ans pour le groupe S ; $p=0,63$). La répartition par sexe ne montrait pas de différence significative ($p=0,386$), avec une prédominance

masculine dans les deux groupes (71,4 % dans le groupe R, *versus* 57,3 % dans le groupe S).

2. Pathologies sous-jacentes

La majorité des patients chez lesquels une recherche de résistance génotypique du CMV a été réalisée étaient transplantés d'organes solides (60.7%) et allogreffés de CSH (28,1%). Sur les 11 patients transplantés d'organes solides du groupe R, 54,5% étaient transplantés rénaux ; 27,3% transplantés cardiaques et 18,2% transplantés hépatiques. Aucune mutation de résistance n'a été mise en évidence chez les patients allogreffés de CSH.

3. Statut sérologique CMV (donneur/receveur)

Le statut sérologique à haut-risque est défini comme (i) CMV D+/R- pour les patients transplantés d'organes solides et (ii) CMV D-/R+ pour les patients allogreffés de CSH. Il n'a pas été constaté de surrisque lié au statut sérologique quant à la sélection de mutations de résistance ($p=0,312$).

4. Caractéristiques de l'infection à CMV

La proportion de patients présentant une infection à CMV était similaire (64,3 % dans le groupe R contre 57,3 % dans le groupe S ; $p=1$). De même, la survenue d'une maladie à CMV était équivalente entre les groupes (35,7 % vs 40,0 % ; $p=1$). L'atteinte la plus fréquente était celle du tube digestif dans les deux groupes (60 % dans le groupe R *versus* 51,4 % dans le groupe S ; $p=1$). Une atteinte pulmonaire était plus fréquente dans le groupe R (40 %) que dans le groupe S (8,6 %), bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative ($p=0,109$). Les autres atteintes (moelle osseuse, œil, rein, cœur, multiviscérale) étaient rares et uniquement observées dans le groupe S.

5. Charge virale au moment du diagnostic

La médiane de la CV au moment où le génotypage de résistance a été réalisée, était comparable entre les deux groupes (4,19 \log_{10} dans le groupe R et 3,98 \log_{10} dans le groupe S ($p=0,332$)).

Tableau 10 : Comparaison des patients entre le groupe résistant et le groupe sensible des patients ayant eu une recherche de mutations de résistance CMV aux antiviraux entre 2014 et 2024 au CHU de Lille.

* Pour les SOT : CMV D+/R-, pour les HSCT CMV D-/R+

2014-2024			
	Groupe R (n=14)	Groupe S (n=75)	p-value
Caractéristiques cliniques			
Age (années, moyenne \pm écart-type)	51,2 \pm 17,7	47,8 \pm 19,5	0,63
Homme (n (%))	10 (71,4%)	43 (57,3%)	0,386
Immunocompétent	0 (0%)	1 (1,3%)	1
Immunodéprimé			
SOT	11 (78,6%)	43 (57,3%)	0,232
Foie	2/11 (18,2%)	17/43 (39,5%)	0,292
Rein	6/11 (54,5%)	18/43 (41,9%)	0,51
Cœur	3/11 (27,3%)	7/43 (16,3%)	0,408
Poumons	0/11 (0,0%)	1/43 (2,3%)	NA
HSCT	0 (0,0%)	25 (33,3%)	0,009
Hémopathies	2 (14,3%)	3 (4,0%)	0,174
Autre	1 (7,1%)	3 (4,0%)	NA
Statut sérologique à risque*	9/11 (81,8%)	41/68 (60,3%)	0,312
Caractéristiques de l'infection à CMV			
Infection à CMV	9 (64,3%)	43 (57,3%)	1
Maladie à CMV	5 (35,7%)	30 (40,0%)	1
Organes atteints :			
Moelle osseuse	0/5 (0%)	9/35 (25,7%)	0,570
Tube digestif	3/5 (60%)	18/35 (51,4%)	1
Poumon	2/5 (40%)	3/35 (8,6%)	0,109
Système nerveux central	0/5 (0%)	0/35 (0%)	1
Œil	0/5 (0%)	2/35 (5,7%)	1
Rein	0/5 (0%)	1/35 (2,9%)	1
Cœur	0/5 (0%)	1/35 (2,9%)	1
Atteinte multiviscérale	0/5 (0%)	1/35 (2,9%)	1
CV médiane au moment où le génotypage de résistance a été réalisé (en log ₁₀)	4,19	3,98	0,332

6. Analyse génotypique

Les résultats de l'analyse génotypique de la résistance aux antiviraux sont présentés dans le Tableau 11. Les mutations présentées sont celles recherchées au niveau des trois principaux gènes impliqués dans la résistance aux traitements : *UL97* (phosphotransférase), *UL54* (ADN polymérase) et *UL56*.

La majorité des mutations identifiées concernait le gène *UL97* (12/14, 85,7%), responsable de la résistance au GCV, mais des mutations affectant *UL54* et *UL56* ont également été observées, conférant une résistance à d'autres antiviraux tels que le LTV, CDV, BCV, FOS et MBV.

En ce qui concerne les mutations *UL97*, les plus fréquemment identifiées étaient situées en position :

- 595 : L595S (n=1), L595F (n=2), L595W (n=2)
- 409 : T409M (n=2) : Cette mutation confère une résistance spécifique au MBV
- 603 : C603W (n=2)

Les mutations suivantes ont été identifiées de façon isolée (M460V, H520Q, et C592G).

Le gène *UL54* présente notamment les mutations P522S (n=2), V715M (n=1), K513N (n=1), et A636T (n=1). P522S est détectée chez deux patients, en association avec une mutation *UL97*, et confère une résistance combinée au GCV et au CDV. La mutation K513N était associée à la L595S, la souche virale était alors résistante au GCV, CDV et au BCV. V715M est responsable d'une résistance au FOS. A636T isolée donne une sensibilité légèrement diminuée au GCV. Combinée avec L595W (*UL97*), elle renforce la résistance au GCV à un haut niveau.

Les mutations C325Y et C325F sur le gène *UL56*, retrouvées chez deux patients, conféraient une résistance au LTV. L'une d'elles (C325Y) était associée à une mutation *UL97* (L595F), suggérant un profil de résistance croisée.

Dans notre cohorte de 89 patients, 10 patients présentaient une résistance au GCV/VGCV, soit un taux de résistance de 11,2 %. Les taux de résistance observés pour les autres antiviraux étaient plus faibles : 1,1 % pour le FOS, 3,4 % pour le CDV, 2,2% pour le MBV et 11,1% (2/18 patients) pour le LTV.

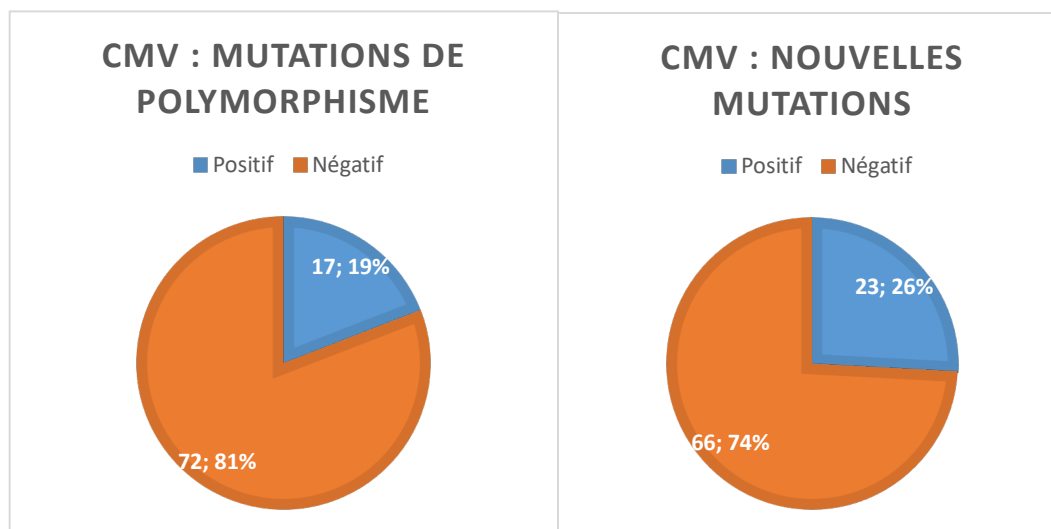
Tableau 11 : Détails des mutations pour chaque patient avec une recherche de mutations de résistance CMV aux antiviraux positive pour le gène UL97/UL54/UL56 au CHU de Lille entre 2014 et 2024.

NR = non réalisée ou non renseigné

Patient	Mutations de résistance UL97	Mutations de résistance UL54	Mutations de résistance UL56	Interprétations	Switch thérapeutique
1	C592G	Aucune	NR	R Ganciclovir	Foscarnet
2	Aucune	V715M	NR	R Foscarnet	Maribavir puis Ganciclovir
3	<u>L595S</u>	<u>K513N</u>	NR	<u>R Ganciclovir</u> <u>R Cidofovir</u>	Foscarnet
4	H520Q	Aucune	NR	R Ganciclovir	Brincidofovir
5	<u>L595F</u>	<u>P522S</u>	NR	<u>R Ganciclovir</u> <u>R Cidofovir</u>	Foscarnet
6	<u>C603W</u>	<u>P522S</u>	NR	<u>R Ganciclovir</u> <u>R Cidofovir</u>	Foscarnet
7	<u>L595F</u>	Aucune	C325Y	<u>R Ganciclovir</u> <u>R Letermovir</u>	NR
8	T409M	Aucune	NR	R Maribavir	Ganciclovir
9	L595W/L	Aucune	Aucune	R Ganciclovir	Maribavir
10	Aucune	Aucune	C325F	R Letermovir	Ganciclovir
11	C603W/C	Aucune	NR	R Ganciclovir	NR
12	T409M	Aucune	NR	R Maribavir	Foscarnet
13	M460V	Aucune	NR	R Ganciclovir	NR
14	L595W	A636T	NR	R Ganciclovir (haut niveau)	Maribavir

Dans notre cohorte, 17 patients sur 89 (19,1 %) présentaient une mutation de polymorphisme. De nouvelles mutations, c'est-à-dire, des mutations pour lesquelles on ne connaît pas la signification clinique au moment du diagnostic, ont été découvertes chez 23 des 89 patients (25,8 %). L'ensemble de ces mutations a été réanalysé dans la base de données du CNR sur les résistances aux antiviraux afin d'en évaluer l'impact. Aucune n'a été reconnue à ce jour comme mutation de résistance. Toutefois, la signification clinique de certaines mutations récemment

découvertes demeure inconnue, ce qui justifie une surveillance attentive chez ces patients.



C. Résultats HSV

Parmi les 20 patients atteints d'herpès simplex virus (HSV) inclus entre 2014 et 2024 au CHU de Lille (Tableau 12), 13 cas de résistance aux antiviraux ont été identifiés, soit une prévalence globale de 65 %. L'analyse des caractéristiques cliniques et virologiques a permis de dégager plusieurs tendances, bien qu'une majorité des comparaisons n'atteignent pas de seuil de significativité statistique, en raison de la taille limitée de l'échantillon.

Concernant les caractéristiques de la population étudiée, les deux groupes sont similaires en termes d'âge, de sexe-ratio et de pathologies sous-jacentes. Il convient de noter que la majorité des souches d'HSV résistantes ont été isolées chez des patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques (61,5%).

L'analyse par type de virus montre que l'ensemble des cas résistants étaient dus à HSV-1. Aucun cas de résistance n'a été observé parmi les 3 échantillons d'HSV-2 ($p = 0,031$).

Concernant la localisation des lésions, les souches résistantes étaient prélevées majoritairement au niveau buccal (53,8%), puis oculaire (38,5%). Cependant, il n'a pas été mis en évidence d'association entre le siège de la lésion et la sélection d'une mutation de résistance. Dans notre cohorte, les 3 seuls patients immunocompétents ayant une mutation de résistance ont tous une atteinte oculaire (kératite herpétique).

Tableau 12 : Données des patients ayant une résistance aux antiviraux contre les HSV chez les patients ayant eu une recherche de mutations de résistance HSV aux antiviraux entre 2014 et 2024 au CHU de Lille.

2014-2024			
	Groupe R (n=13)	Groupe S (n=7)	p-value
Caractéristiques cliniques des patients			
Age (années, moyenne ± écart-type)	53,9 ±15,3	49 ±18,1	0,552
Homme (n (%))	11 (84,6%)	4 (57,1%)	0,29
Immunocompétent	3 (23,1%)	4 (57,1%)	0,174
Immunodéprimé	10 (76,9%)	3 (42,9%)	
SOT	1 (7,7%)	1 (14,3%)	1
HSCT	8 (61,5%)	2 (28,6%)	0,35
Hémopathies	1 (7,7%)	0	NA
HSV-1 (n (%))	13 (100%)	4 (57,1%)	0,031
Caractéristiques de l'infection à HSV			
Type d'atteinte			
Génitale	0		NA
Anale	0	2 (28,6%)	NA
Buccale	7 (53,8%)	1 (14,3%)	0,374
Oculaire	5 (38,5%)	2 (28,6%)	1
Disséminée	1 (7,7%)	2 (28,6%)	NA
		0	

Les gènes *UL23* et *UL30* ont tous deux été testés, mais des mutations de résistances n'ont été trouvées qu'au niveau du gène *UL23* codant pour la thymidine kinase. Le Tableau 13 présente les détails des mutations identifiées pour chaque patient, ainsi que leur interprétation et le type de HSV concerné.

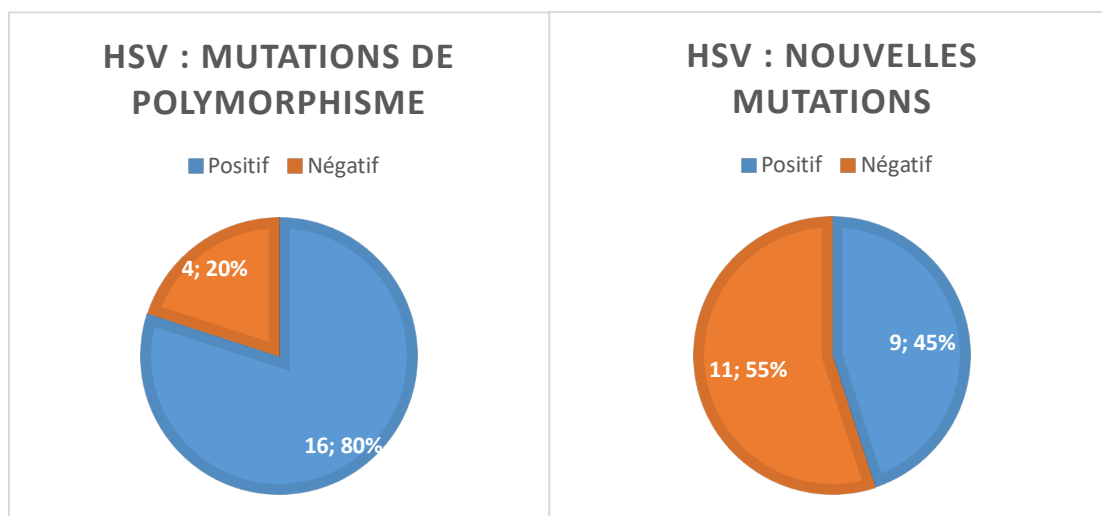
Les mutations observées incluent des substitutions ponctuelles, des codons stop prématurés, des délétions et des insertions. On retrouve par exemple, les mutations Q250Stop, L291P, A207T, C336Y, M182Stop, P173L, M132Stop, R163H, Y239[H;Y], et R176W. Ces mutations sont principalement interprétées comme conférant une résistance à l'ACV. De plus, un codon stop en position 306 et un *frameshift* causé par des insertions et délétions de nucléotides ont également été observés, tous deux associés à une résistance à l'ACV et au HSV-1.

Tableau 13 : Détails des mutations pour chaque patient avec une recherche de mutations de résistance HSV aux antiviraux positive pour le gène UL23 au CHU de Lille entre 2014 et 2024.

Patient	Mutations de résistance UL23 (Thymidine Kinase)	Interprétation	Type d'HSV	Switch thérapeutique
1	Q250Stop	R ACV	HSV-1	FOS
2	L291P	R ACV	HSV-1	GCV
3	A207T	Probable R à l'ACV	HSV-1	NR
4	306Stop	R ACV	HSV1	FOS
5	S181R	Probable R ACV	HSV-1	NR
6	C336Y	R ACV	HSV-1	FOS
7	M182Stop	R ACV	HSV-1	GCV
8	P173L	R ACV	HSV-1	FOS
9	M132Stop	R ACV	HSV-1	GCV
10	Frameshift (nuc : ins G430-436 et del C548-553)	R ACV	HSV-1	GCV
11	R163H	R ACV	HSV-1	GCV
12	Y239[H,Y]	R ACV	HSV-1	Amenamevir
13	R176W	R ACV	HSV-1	Amenamevir

Au final, dans notre cohorte, les mutations de résistance des HSV à l'ACV sont majoritairement des changements d'acides aminés (8/13 patients : 61,5 %), suivis des codons stop (4/13 patients : 30,7 %) et des *frameshifts* (1/13 patients : 7,7 %).

Dans notre cohorte, 16 patients sur 20 (80 %) présentaient une mutation de polymorphisme. De nouvelles mutations, ont été découvertes chez 9 des 20 patients (45 %). Ces mutations ont été réanalysées dans la base de données HerpesDRG, seules 2 mutations ont été reclassées en polymorphisme. Pour les autres, aucune information n'est encore disponible.



D. Résultats VZV

L'effectif réduit (n=7) sur la période de l'étude 2014-2024 au CHU de Lille permettra seulement une approche descriptive des données, sans comparaison entre le groupe de patients avec une souche résistance aux antiviraux et le groupe de patients avec une souche sensible aux antiviraux. Les résultats présentés dans le Tableau 14, montrent seulement 2 cas de résistances aux antiviraux soit 28,6 %. Il sera détaillé le nombre d'échantillons, le nombre de résistances, le pourcentage de résistances, ainsi que les mutations de résistance et de polymorphisme observées dans les gènes *ORF36* et *ORF28*.

Les patients immunocompétents ne montrent aucune résistance (0%), tandis que les patients immunodéprimés présentent deux cas de résistance sur six échantillons (33,3 %). Les lésions à VZV retrouvées dans notre cohorte sont principalement des lésions de zona thoracique (n=3), et des lésions génitales (n=2). Sur l'ensemble de nos 7 échantillons, 5 patients ont une réactivation VZV (zona). Pour 2 patients, les données sont manquantes, il est donc impossible de caractériser l'infection.

Tableau 14 : Données des patients ayant une résistance aux antiviraux contre le VZV chez les patients ayant reçus une recherche de mutations de résistance aux antiviraux entre 2014 et 2024 au CHU de Lille.

2014-2024		
	Groupe R (n=2)	Groupe S (n=5)
Caractéristiques cliniques des patients		
Age (années, moyenne \pm écart-type)	16 \pm 4,2	33,6 \pm 24,2
Homme (n (%))	1 (50%)	4 (80%)
Immunocompétent	0	1 (20%)
Immunodéprimé	2 (100%)	4 (80%)
SOT	0	1 (20%)
HSCT ou greffé de cordon	1 (50%)	2 (40%)
Autre immunodépression	1* (50%)	1** (20%)
* Syndrome de Chiedak Higashi		
** Splénectomie		
Caractéristiques de l'infection à VZV		
Type d'atteinte		
Génitale	1 (50%)	1 (20%)
Thoracique	1 (50%)	2 (40%)
Encéphalite ou méningo-encéphalite	0	0
Oculaire (nécrose rétienne)	0	1 (20%)
Disséminé	0	1 (20%)
Stade clinique de l'infection		
Primo-infection VZV = Varicelle	0	0
Zona	2 (100%)	3 (60%)
Inconnu	0	2 (40%)

Les gènes *ORF36* et *ORF28* ont été analysés, mais seules des mutations de résistance au niveau du gène *ORF36* ont été identifiées. Le Tableau 15 détaille les mutations de résistance spécifiques observées chez chaque patient, ainsi que leur interprétation respective. Chez le patient 1, deux mutations ont été détectées sous forme de doubles populations sur le gène *ORF36* : R143[R,G] et W225 [Stop,W]. Ces mutations sont associées à une résistance à l'ACV, ce qui a entraîné un switch thérapeutique vers le FOS. Concernant le patient 2, une mutation A163Stop a été identifiée sur le gène *ORF36*, conférant également une résistance à l'ACV et entraînant un changement de la thérapeutique vers l'amenamévir.

Tableau 15 : Détails des mutations pour chaque patient avec une recherche de mutations de résistance VZV aux antiviraux positive pour le gène ORF36 au CHU de Lille entre 2014 et 2024.

Patients	Mutations de résistance sur gène ORF36	Interprétations	Switch thérapeutique
1	R143[R,G] W225 [Stop,W]	Résistance ACV	FOS
2	A163Stop	Résistance ACV	Amenamévir

Dans notre cohorte, l'ensemble des 7 patients présentait au moins une mutation de polymorphisme (100 %).

IV. Discussion et conclusion

Notre travail nous a permis, d'une part, d'approfondir nos connaissances sur les différentes mutations de résistance des Herpesvirus et leur impact clinique, et, d'autre part, de nous familiariser avec les outils disponibles pour l'analyse des données liées à ces mutations. Nous avons ainsi pu inventorier les bases de données existantes (en complément de celle proposée par le CNR) et les tester. Enfin, nous avons pu appréhender les défis techniques (choix des amorces, couverture minimale requise) et les défis d'interprétation liés à la réalisation des génotypages de résistance (cut-off en termes de profondeur ; significativité des mutations (mutations de résistance ? simple polymorphisme ? mutation de significativité non connue à ce jour ?) ; notion de compartimentalisation...). Il s'agit d'éléments-clés dans l'éventualité de réinternaliser le séquençage des Herpesvirus dans notre centre.

L'étude menée a également permis de dresser un état des lieux de l'épidémiologie des mutations de résistance aux antiviraux au CHU de Lille. Toutefois, plusieurs limites doivent être soulignées concernant la réalisation de notre étude.

(i) Tout d'abord, son caractère monocentrique et rétrospectif ne permet pas un recueil exhaustif et standardisé des données, celles-ci dépendant exclusivement de la qualité et de la complétude des dossiers médicaux.

(ii) Par ailleurs, le choix d'un centre unique implique un effectif restreint, ce qui réduit la puissance statistique et limite la généralisation des résultats à d'autres contextes cliniques ou géographiques. Concernant le caractère monocentrique de notre étude, il convient également de souligner certaines spécificités locales de prise en charge des infections à CMV, HSV et VZV. Tout d'abord, le CHU de Lille ne fait pas partie des centres de transplantation pulmonaire en France (la greffe pulmonaire étant la plus pourvoyeuse d'infection à CMV) (150). Ensuite, certains protocoles locaux diffèrent des usages des autres centres. Il convient notamment de citer l'utilisation très limitée du maribavir devant une suspicion d'infection réfractaire, avec en premier lieu une optimisation maximale de la prise en charge antivirale (par une adaptation posologique des antiviraux classiques, une vérification de la faisabilité de la baisse éventuelle de l'immunosuppression, un suivi pharmacologique des antiviraux, etc). Enfin, un nombre limité de malades allogreffés est sous létermovir puisque la prophylaxie par LTV est dépendante d'un score local (prescription du LTV en cas de risque haut, intermédiaire, greffe haplo-identique ou seconde allogreffe) (151,152).

(iii) De plus, l'inclusion exclusive de patients pour lesquels un génotypage de résistance a été réalisé, et non de l'ensemble des patients présentant une infection réfractaire au CMV, aux HSV ou au VZV, diffère de la méthodologie adoptée dans la majorité des études publiées. Ce choix méthodologique introduit un biais de sélection et restreint la comparabilité avec les données de la littérature. Enfin, comme dans toute étude rétrospective, certains facteurs confondants n'ont pu être pris en compte, ce qui peut influencer l'interprétation des résultats.

A. CMV

Le taux global de résistance, tous antiviraux confondus, observé dans notre cohorte est de 15,7 %, soit un chiffre inférieur aux données nationales rapportées par le CNR en 2023, où il atteignait près de 28 % (84).

En comparaison avec d'autres études mondiales, le taux de résistance spécifique au GCV/VGCV est généralement rapporté entre 2,3 % et 3,6 % (36,87,88), alors qu'au CHU de Lille il s'élève à 11,2 %. Cela s'explique probablement par une différence dans le choix du dénominateur entre notre étude (pourcentage de souches résistantes rapporté à l'ensemble des génotypages réalisés) et celles de la littérature (pourcentage de souches résistantes rapporté à l'ensemble des patients réfractaires). Les données présentées de la littérature sont des conclusions d'essais cliniques prospectifs, menés à large échelle, avec une durée connue de traitement par VGCV ou GCV par exemple.

Concernant le MBV, les études disponibles rapportent des taux de résistance compris entre 8,8 % et 26 % (36,87,88). Dans notre cohorte, le taux observé est nettement plus faible, à 2,2 %. Cette particularité pourrait être liée au faible nombre de patients sous MBV au moment de la recherche de mutations : seuls 8 patients ont bénéficié d'un séquençage du gène *UL27*. À Lille, il est intéressant de noter que toutes les mutations responsables de la résistance au MBV identifiées concernent le gène *UL97*.

En ce qui concerne le LTV, la littérature rapporte des taux de résistance variant entre 1,59 % et 3,75 % (80,90,153). Au CHU de Lille, 18 patients ont bénéficié d'un séquençage du gène *UL56* ou *UL89*, avec la mise en évidence d'une mutation de résistance chez 2 patients, soit un taux de 11,1 %. Là encore, cette différence par rapport aux données publiées peut être attribuée à un ciblage plus spécifique des recherches de mutations dans notre centre.

En termes de caractéristiques cliniques, notre cohorte est comparable à celle des autres études. On observe une légère prédominance masculine dans le groupe R, toutefois non significative sur le plan statistique. Les patients ayant bénéficié d'une transplantation d'organe solide constituent la majorité de notre cohorte (54 / 89 patients). En particulier les transplantés rénaux correspondant à 44,5 % de nos patients transplantés. Ce type de greffe reste, selon le CNR (84), la situation la plus fréquemment associée aux infections à CMV réfractaires nécessitant une recherche de mutations de résistance, et ce, indépendamment du centre. Le statut sérologique représente également un facteur déterminant : les mutations de résistance antivirale sont retrouvées plus souvent chez les patients présentant un statut à risque, soit D+/R- dans le cadre des SOT et D-/R+ pour les HSCT, sans différence significative observée dans notre étude (75,81,82).

Le type de mutations retrouvé au CHU de Lille est similaire à l'épidémiologie retrouvée dans la bibliographie. Les mutations les plus fréquemment retrouvées dans la littérature sur le gène *UL97* (M460V/I, H520Q, C592G, A594V, L595S et C603W) (74) ont toutes été identifiées dans notre cohorte à l'exception de la mutation A594V.

B. HSV

Dans notre cohorte, la prévalence globale des infections à HSV associées à une mutation de résistance atteint 65 %, un taux nettement supérieur à celui généralement rapporté dans la littérature, pour exemple, le taux de résistance publié par le CNR en 2023 est de 13,1 %. En revanche, ce pourcentage se rapproche de ceux publiés en 2022 par le CNR (faisant état d'un taux de résistance de 59,5 %), soulignant la pertinence du recours à l'analyse de résistance au CHU de Lille. Une telle différence entre 2022 et 2023 s'explique par l'intégration par le CNR des données de résistance HSV produites par le CH de Lyon. Dans ce centre, les recherches de résistance des HSV aux antiviraux ne sont pas effectuées pour les mêmes indications que dans les 3 autres centres. Pour les centres Pitié-Salpêtrière, Limoges et Saint-Louis, la recherche de résistance est effectuée en cas d'infection HSV réfractaire, c'est-à-dire d'absence de réponse au traitement antiviral après 7 à 10 jours d'instauration du traitement antiviral. À Lyon, la recherche de résistance des HSV aux antiviraux est non seulement effectuée en cas d'infection réfractaire, mais aussi pour tous les HSV isolés chez les patients greffés de CSH.

Contrairement aux données publiées, les mutations ont été exclusivement observées dans des infections à HSV-1, tandis que les trois recherches de mutations menées pour HSV-2 se sont révélées négatives. Les anomalies identifiées concernaient uniquement le gène *UL23*, en accord avec les données du CNR (84) et les études antérieures, qui rapportent une nette prédominance de résistances à l'ACV (50,51,98,100).

Les patients porteurs de mutations étaient majoritairement des hommes immunodéprimés HSCT, sans différence statistiquement significative en raison du faible effectif inclus. Parmi les dix patients HSCT de notre cohorte, huit présentaient une mutation de résistance, soit un taux de résistance de 80 %. À titre comparatif, les données issues de la littérature rapportent une prévalence pouvant atteindre 46,5 % (95).

Dans l'ensemble, les caractéristiques de notre cohorte demeurent comparables à celles décrites dans les principales études publiées (50,95).

Concernant la nature des mutations identifiées, les résistances des HSV à l'ACV étaient majoritairement liées à des substitutions d'acides aminés (61,5 %), suivies par l'apparition de codons stop (30,7 %) et, plus rarement, de *frameshifts* (7,7 %). En comparaison, les données publiées en 2023 par le CNR rapportaient respectivement 41,9 % de substitutions d'acides aminés dans la TK, 26,9 % de *frameshifts* et 25,8 % de codons stop (84). Les résultats apparaissent globalement concordants, malgré une plus faible proportion de *frameshifts* dans notre étude. À noter que, selon la littérature, le pourcentage de résistances attribué à des insertions ou délétions varie entre 50 et 80 % en fonction des études (2,50,84,95).

C. VZV

La prévalence globale de la résistance au VZV observée dans notre cohorte est de 28,6 %. Ce taux apparaît sensiblement plus élevé que celui rapporté dans la littérature (10,7 %) (107) ainsi que dans les données récentes du CNR, estimées à 7,1 % en 2023 (84) et à 14,3 % en 2022 (108). Toutefois, compte tenu de la taille réduite de notre cohorte, la comparaison avec ces données doit être effectuée avec prudence.

Concernant les patients ayant bénéficié d'une HSCT, un cas de mutation de résistance a été identifié parmi les trois inclus dans la cohorte, correspondant à une prévalence de 33,3 %. Ce taux est proche de celui rapporté dans une étude ayant évalué les patients atteints d'hémopathies malignes, et plus particulièrement les transplantés de CSH, où une prévalence de résistance de 27 % avait été décrite (109).

En ce qui concerne la population de patients, nous avons identifié une mutation de résistance chez deux individus : un homme de 19 ans et une femme de 13 ans, tous deux immunodéprimés. Sur le plan clinique, l'un présentait un zona thoracique et l'autre un zona génital. Le faible effectif de notre cohorte ne permet toutefois pas d'établir de comparaison robuste avec l'étude conduite à l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière. Dans cette dernière, une résistance à l'ACV avait été rapportée chez 13 patients (10,7 %), comprenant 8 hommes et 5 femmes, d'âge médian 39 ans. Parmi eux, quatre étaient immunocompétents et présentaient une kératite zostérienne, tandis que neuf étaient immunodéprimés (cinq transplantés et quatre porteurs d'un déficit immunitaire primitif), dont huit développaient un zona extensif (107).

D. Conclusion générale

Notre étude a permis de circonscrire l'épidémiologie lilloise des mutations de résistance aux antiviraux chez les patients ayant une infection à CMV, HSV et VZV.

Dans notre cohorte, les taux de résistance observés pour le CMV, l'HSV et le VZV apparaissent globalement supérieurs à ceux rapportés dans la littérature et/ou par le CNR des Herpesvirus, ce qui s'explique principalement par le choix du dénominateur (nombre rapporté de souches résistantes / au nombre de génotypage de résistance réalisé). Les profils de mutations identifiés restent néanmoins concordants avec ceux décrits dans les études nationales et internationales. Ces résultats soulignent l'intérêt d'une surveillance locale des résistances antivirales. Une synthèse des mécanismes de résistance et des indications d'un test génotypique est présentée Tableau 16.

Ce travail s'inscrit dans une réflexion visant à développer, au sein du laboratoire de virologie du CHU de Lille, la réalisation des analyses dédiées à la recherche de résistances des Herpesvirus. Ce projet s'inscrit dans une démarche institutionnelle de développement des projets de NGS (métagénomique, séquençage ciblé visant à identifier un microorganisme ou des mutations de résistance).

Virus	Antiviraux	Gènes impliqués dans la résistance	Mutations de résistances les plus fréquentes	Indications de la recherche de résistance
CMV	Ganciclovir et Valganciclovir	<i>UL97</i> (TK)	Les mutations canoniques M460V, H520Q, C592G, A594V, L595S et C603W dans <i>UL97</i> représentent ~80 % de la résistance au GCV. Les mutations <i>UL54</i> sont plus rares et généralement observées après l'apparition des mutations <i>UL97</i> .	<ul style="list-style-type: none"> - Échec du traitement (>1 log₁₀ augmentation de la CV ou aggravation de l'infection ou de la maladie à CMV après 2 semaines de traitement approprié). - Initiation du MBV.
	Foscarnet et Cidofovir	<i>UL54</i> (ADN polymérase)	Mutations <i>UL54</i> dans les domaines conservés de l'exonucléase, ainsi que dans les domaines terminaux aminés. De nombreuses mutations du domaine de l'exonucléase confèrent une résistance croisée au GCV-CDV.	
	Maribavir	<i>UL97</i> (TK) <i>UL27</i>	Mutations : T409M, H411Y, C480F et F342Y dans <i>UL97</i> .	
	Letermovir	<i>UL56</i> , <i>UL89</i> et <i>UL51</i> (Terminase)	Mutations dans <i>UL56</i> au locus C325.	
HSV	Aciclovir et Valaciclovir	<i>UL23</i> (TK) <i>UL30</i> (ADN polymérase)	Les mutations dans <i>UL23</i> représentent ~95 % de la résistance à l'ACV. Ils comprennent les substitutions d'AA le plus souvent dans les sites de liaison ATP et nucléosides et les insertions/délétions dans les régions d'homopolymère G/C conduisant à des décalages du cadre de lecture introduisant des codons stop prématurés. Les mutations dans <i>UL30</i> sont rares (~5 % de résistance à l'ACV) et sont composées de substitutions d'AA principalement dans les régions de gènes conservées.	Échec du traitement, patient immunodéprimé, kératite à HSV.
	Foscarnet	<i>UL30</i> (ADN polymérase)	Environ la moitié des mutations <i>UL30</i> conférant une résistance à l'ACV peuvent conférer une résistance croisée au FOS, situé dans les régions conservées I, II, III et VI.	
VZV	Aciclovir et Valaciclovir	<i>ORF36</i> (TK) <i>ORF28</i> (ADN polymérase)	Les mutations dans <i>ORF36</i> sont plus fréquentes que les mutations dans <i>ORF28</i> . Ces mutations sont majoritairement dues à des délétions d'AA entraînant un décalage dans le cadre de lecture menant à l'apparition d'un codon stop.	Échec du traitement, patient immunodéprimé.
	Foscarnet	<i>ORF28</i> (ADN polymérase)	Ces mutations dans <i>ORF28</i> sont principalement des substitutions d'AA dans le site catalytique et dans les régions conservées de l'enzyme entraînant des résistances croisées ACV-FOS.	

Tableau 16 : Tableau récapitulatif des mécanismes de résistance aux antiviraux (154).

V. Annexe

A. Outils de diagnostic complémentaires CMV

Le test de la DNase utilise l'activité de digestion de l'enzyme DNase I ajoutée à l'échantillon avant l'extraction, qui permet de lyser l'ADN libre circulant. Cela permet de différencier l'ADN nu libre dans la circulation, du génome encapsidé en virions (31,155).

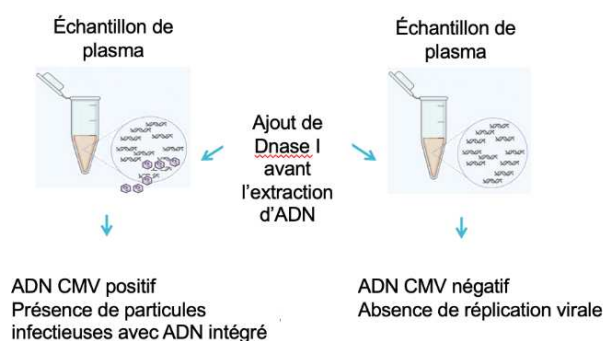


Figure 13 : Schéma explicatif du test de la DNase.

Il a longtemps été admis que l'intégralité de l'ARN du CMV présent dans les cellules infectées était produit suite à la traduction de l'ADN du CMV. Bresnahan et Shenk ont démontré dans les années 2000 qu'une minorité de transcrits du CMV était d'emblée présente dans les virions, et ainsi délivrée dans les cellules infectées (156). Cette particularité permet ainsi aux cellules infectées d'initier la traduction protéique directement, en l'absence de transcription. 4 ARNm ont ainsi été identifiés correspondants aux ORFs *UL21.5*, *UL106-109*, *TRL/IRL 7* et *TRL/IRL 13* (157). En pratique, un kit commercial permet ce jour la recherche de l'ARNm viral correspond à l'ORF *UL21.5* par RT-PCR en temps réel. Cette technique cible l'ARNm épissé du CMV *UL21.5* encapsidé dans le virion. Ce test permet de différencier une réplication virale active, d'une persistance de la CV ADN CMV en cas d'ARN négatif notamment en cas de traitement par des inhibiteurs tardifs tel que le LTV (31,155).

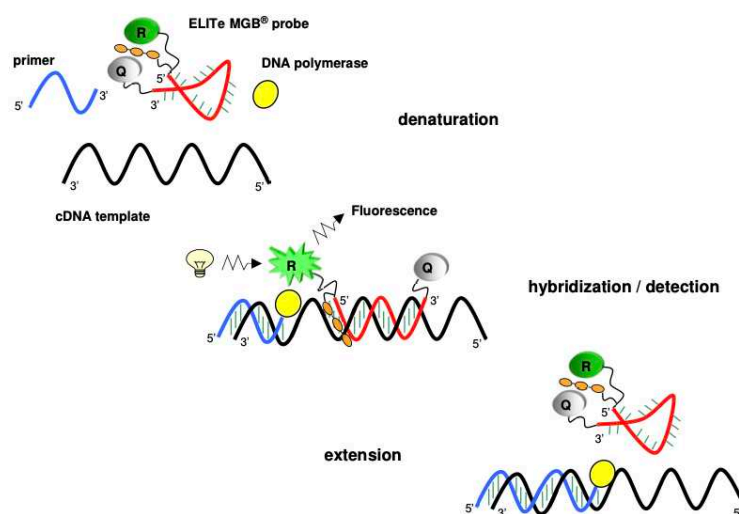


Figure 14 : Schéma explicatif de la recherche de l'ARNm viral

B. Traitement de l'herpès génital – Recommandations HAS 2024

Les recommandations actuelles présentées dans la figure 15 et 16 pour le traitement de l'herpès génital en cas de primo-infection (PI) préconisent chez l'IC et la femme enceinte, le VACV 500 mg 2x/j, per os, en 1^{ère} intention pour une durée de 5 jours afin de favoriser l'observance, et en 2nd intention, l'ACV 200 mg x5/j, per os, pendant 5 jours. En cas de forme sévère, un traitement par ACV IV 5 mg/kg/8h pendant 5 jours est recommandé. Lorsqu'il existe des signes neurologiques, la dose recommandée est de 10 mg/kg/8h et le traitement peut être prolongé jusqu'à 10 jours. Chez l'ID, il est préconisé d'utiliser le VACV per os en 1^{ère} intention, 1000 mg x 2/j pendant 10 jours per os, ou en 2^{ème} intention, l'ACV 400 mg x 5/j pendant 10 jours. Lors d'une PI sévère, il est suggéré d'utiliser l'ACV 10 mg/kg/8h. La durée de traitement est de 7 à 14 jours, et est d'au moins 14 jours en cas de signes neurologiques évocateurs d'une méningo-encéphalite herpétique. Chez le patient vivant avec le VIH (PVVIH), en cas d'ID non sévère, les doses et la durée du traitement peuvent globalement être réduite de moitié (158).

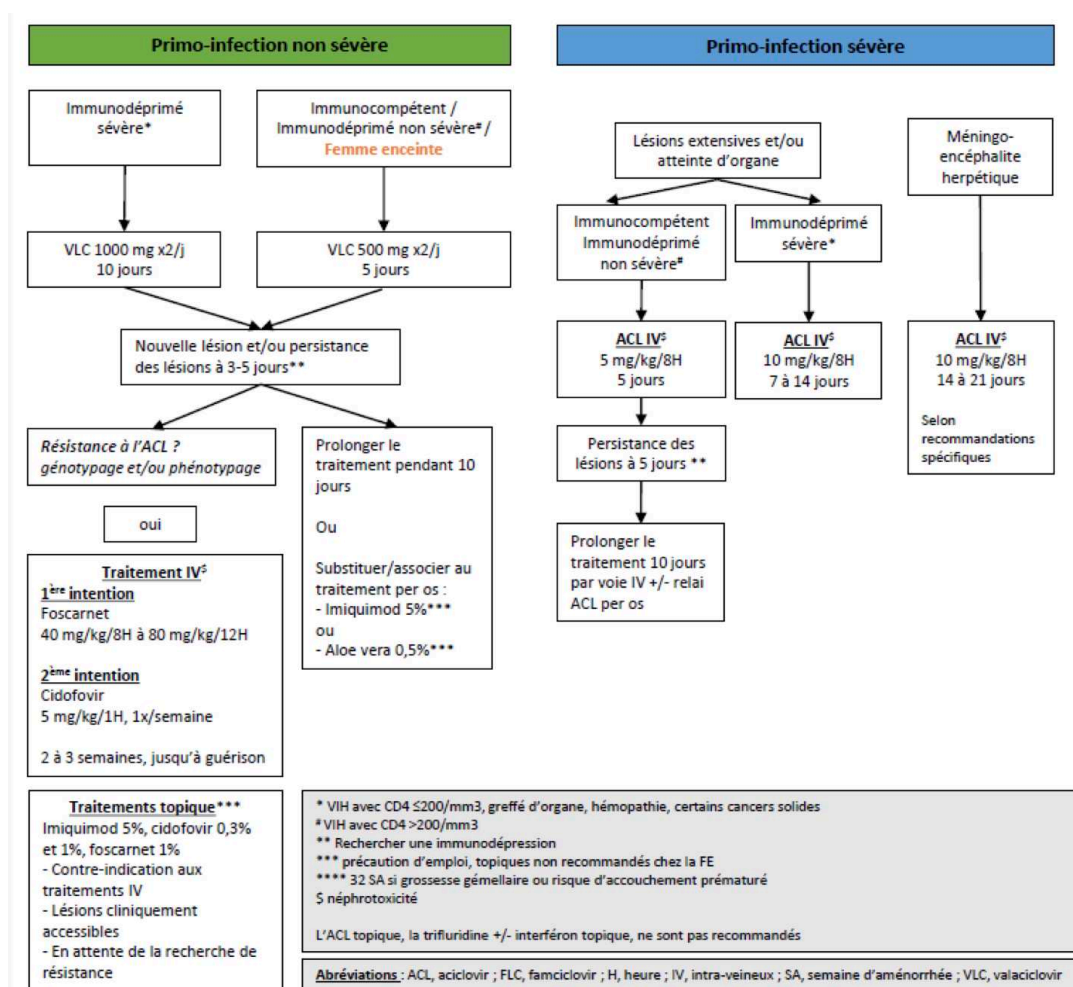


Figure 15 : Algorithme proposé pour le traitement des primo-infections d'herpès génital à HSV, HAS 2024 (158).

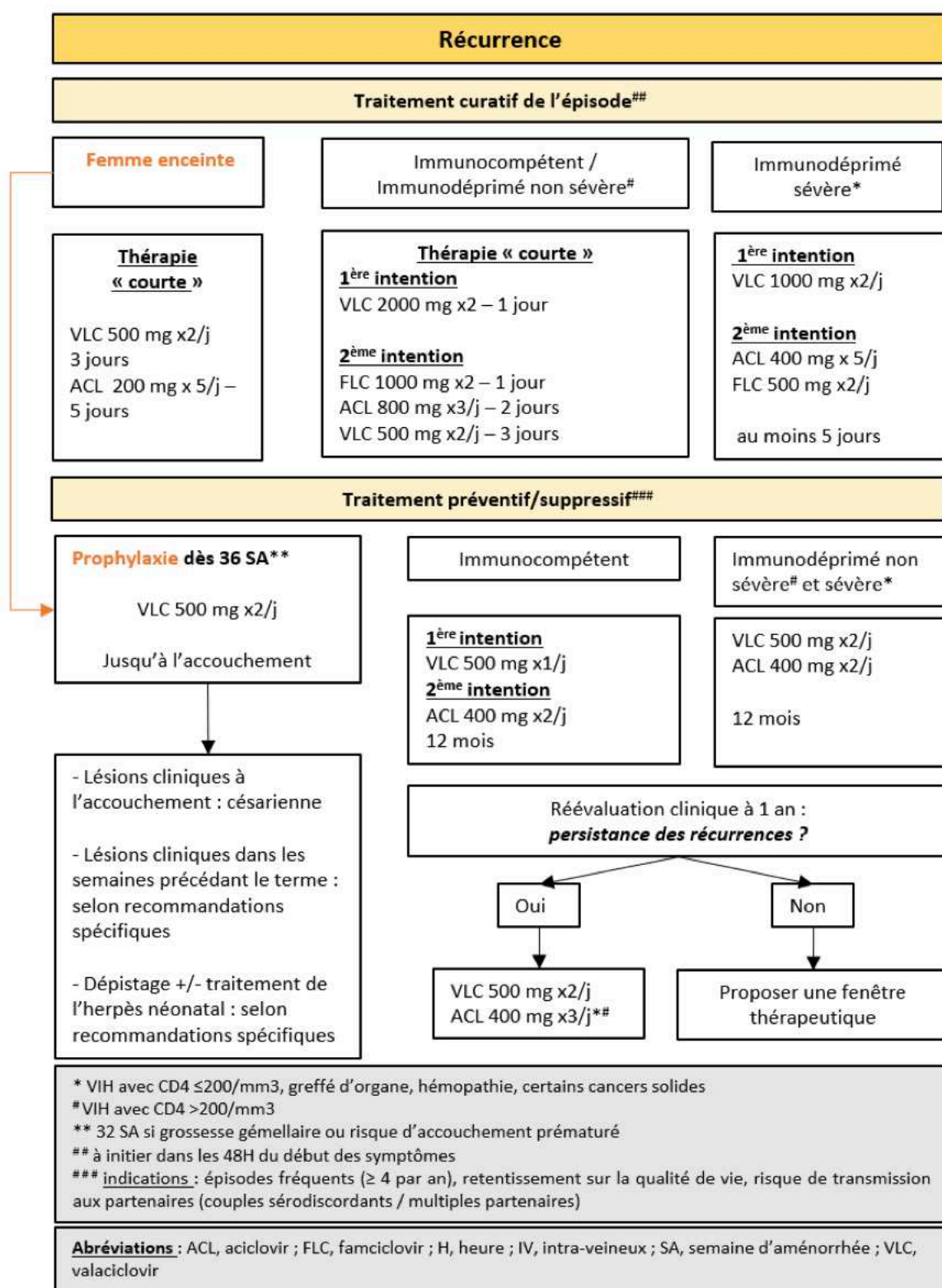


Figure 16 : Algorithme proposé pour le traitement des récurrences d'herpès génital à HSV, HAS 2024 (158).

Bibliographie

1. Cranage MP, Kouzarides T, Bankier AT, Satchwell S, Weston K, Tomlinson P, et al. Identification of the human cytomegalovirus glycoprotein B gene and induction of neutralizing antibodies via its expression in recombinant vaccinia virus. *EMBO J.* nov 1986;5(11):3057-63.
2. Mourez T, Burrel S, Boutolleau D, Pillet S. *Traité de virologie médicale*. 2ème édition. 2019. 793 p.
3. Ye L, Qian Y, Yu W, Guo G, Wang H, Xue X. Functional Profile of Human Cytomegalovirus Genes and Their Associated Diseases: A Review. *Front Microbiol.* 4 sept 2020;11:2104.
4. Li G, Kamil JP. Viral Regulation of Cell Tropism in Human Cytomegalovirus. *J Virol.* 30 déc 2015;90(2):626-9.
5. Hwang J, Kalejta RF. Human Cytomegalovirus Protein pp71 Induces Daxx SUMOylation. *J Virol.* juill 2009;83(13):6591-8.
6. Adamson CS, Nevels MM. Bright and Early: Inhibiting Human Cytomegalovirus by Targeting Major Immediate-Early Gene Expression or Protein Function. *Viruses.* 16 janv 2020;12(1):110.
7. Bigley TM, Reitsma JM, Mirza SP, Terhune SS. Human Cytomegalovirus pUL97 Regulates the Viral Major Immediate Early Promoter by Phosphorylation-Mediated Disruption of Histone Deacetylase 1 Binding. *J Virol.* juill 2013;87(13):7393-408.
8. Ligat G, Muller C, Alain S, Hantz S. Le complexe terminase, une cible de choix dans le traitement de l'infection à cytomégalo­virus humain. *médecine/sciences.* 1 avr 2020;36(4):367-75.
9. McCluskey R, Sandin R, Greene J. Detection of airborne cytomegalovirus in hospital rooms of immunocompromised patients. *J Virol Methods.* janv 1996;56(1):115-8.
10. Hantz S, Moret L, Alain S. Prise en charge de l'infection à cytomégalo­virus en transplantation. *Rev Francoph Lab.* 1 sept 2019;2019(515):36-43.
11. Dioverti MV, Razonable RR. Cytomegalovirus. *Microbiol Spectr.* août 2016;4(4).
12. Kekre N, Tokessy M, Mallick R, McDiarmid S, Huebsch L, Bredeson C, et al. Is Cytomegalovirus Testing of Blood Products Still Needed for Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients in the Era of Universal Leukoreduction? *Biol Blood Marrow Transplant.* 1 déc 2013;19(12):1719-24.

13. Ljungman P, Hakki M, Boeckh M. Cytomegalovirus in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Hematol Oncol Clin North Am.* févr 2011;25(1):151-69.
14. Mabilangan C, Burton C, Nahirniak S, O'Brien S, Preiksaitis J. Transfusion-transmitted and community-acquired cytomegalovirus infection in seronegative solid organ transplant recipients receiving seronegative donor organs. *Am J Transplant.* 1 déc 2020;20(12):3509-19.
15. Staber PB, Herling M, Bellido M, Jacobsen ED, Davids MS, Kadia TM, et al. Consensus criteria for diagnosis, staging, and treatment response assessment of T-cell prolymphocytic leukemia. *Blood.* 3 oct 2019;134(14):1132-43.
16. Ljungman P, Boeckh M, Hirsch HH, Josephson F, Lundgren J, Nichols G, et al. Definitions of Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Patients for Use in Clinical Trials. *Clin Infect Dis.* 1 janv 2017;64(1):87-91.
17. AHOUAH Mathieu, DELAVEYNE Roselyne, HACHICHA Nadia, LAFARGE Jean-Charles. Évaluation de la pertinence d'un dépistage systématique de l'infection à cytomégalovirus (CMV) au cours de la grossesse. HAS. juin 2025;
18. Egloff C, Vauloup-Fellous C, Picone O. La prévention de l'infection congénitale à cytomégalovirus. *J Pédiatrie Puériculture.* 1 août 2024;37(4):233-9.
19. Leruez-Ville M, Chatzakis C, Lilleri D, Blazquez-Gamero D, Alarcon A, Bourgon N, et al. Consensus recommendation for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus infection from the European congenital infection initiative (ECCI). *Lancet Reg Health – Eur* [Internet]. 1 mai 2024 [cité 1 juill 2025];40. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/lanep/article/PIIS2666-7762\(24\)00058-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanep/article/PIIS2666-7762(24)00058-9/fulltext)
20. Alain S, de Limoges C. Virémie CMV conduite à tenir. 2022;
21. Alain S. Nouveaux antiviraux en prévention et en traitement. 2024;
22. Razonable RR, Humar A. Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant.* 1 mars 2013;13:93-106.
23. Boutolleau D, Burrel S. Infections à cytomégalovirus en transplantation : manifestations cliniques, diagnostic virologique et prise en charge thérapeutique. *J Anti-Infect.* 1 juin 2016;18(2):70-8.
24. Kotton CN, Kumar D, Manuel O, Chou S, Hayden RT, Danziger-Isakov L, et al. The Fourth International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. *Transplantation.* :10.1097/TP.0000000000005374.
25. Ljungman P, Alain S, Chemaly RF, Einsele H, Galaverna F, Hirsch HH, et al. Recommendations from the 10th European Conference on Infections in Leukaemia for

- the management of cytomegalovirus in patients after allogeneic haematopoietic cell transplantation and other T-cell-engaging therapies. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 3 avr 2025 [cité 14 avr 2025];0(0). Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(25\)00069-6/abstract?rss=yes](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(25)00069-6/abstract?rss=yes)
26. Lisboa LF, Åsberg A, Kumar D, Pang X, Hartmann A, Preiksaitis JK, et al. The Clinical Utility of Whole Blood Versus Plasma Cytomegalovirus Viral Load Assays for Monitoring Therapeutic Response. *Transplantation*. 27 janv 2011;91(2):231.
 27. International Multicenter Performance Analysis of Cytomegalovirus Load Tests | Clinical Infectious Diseases | Oxford Academic [Internet]. [cité 1 mai 2025]. Disponible sur: <https://academic.oup.com/cid/article/56/3/367/429148?login=false>
 28. Alain S, Mazeron MC, Denis F. Résistance du cytomégalovirus au ganciclovir. *Antibiotiques*. mai 2004;6(2):113-9.
 29. Gourin C, Alain S, Hantz S. Anti-CMV therapy, what next? A systematic review. *Front Microbiol* [Internet]. 20 nov 2023 [cité 29 nov 2024];14. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2023.1321116/full>
 30. Piret J, Boivin G. Clinical development of letermovir and maribavir: Overview of human cytomegalovirus drug resistance. *Antiviral Res*. 1 mars 2019;163:91-105.
 31. Alain S. Insights into CMV RNA. Diapo SIV congrès présenté à; 2024 juill 8.
 32. Emery VC, Cope AV, Bowen EF, Gor D, Griffiths PD. The Dynamics of Human Cytomegalovirus Replication in Vivo. *J Exp Med*. 19 juill 1999;190(2):177-82.
 33. Rose J, Emery VC, Kumar D, Asberg A, Hartmann A, Jardine AG, et al. Novel decay dynamics revealed for virus-mediated drug activation in cytomegalovirus infection. Coen DM, éditeur. *PLOS Pathog*. 13 avr 2017;13(4):e1006299.
 34. Manuel O, Laager M, Hirzel C, Neofytos D, Walti LN, Hoenger G, et al. Immune Monitoring-Guided Versus Fixed Duration of Antiviral Prophylaxis Against Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplant Recipients: A Multicenter, Randomized Clinical Trial. *Clin Infect Dis*. 15 févr 2024;78(2):312-23.
 35. Pang I, Chen P, Trinh GV, Remberger M, Novitzky-Basso I, Gerbitz A, et al. Letermovir prophylaxis for cytomegalovirus reactivation in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients: Single center Canadian data. *Eur J Haematol*. 2024;112(2):301-9.

36. Papanicolaou GA, Avery RK, Cordonnier C, Duarte RF, Haider S, Maertens J, et al. Treatment for First Cytomegalovirus Infection Post–Hematopoietic Cell Transplant in the AURORA Trial: A Multicenter, Double-Blind, Randomized, Phase 3 Trial Comparing Maribavir With Valganciclovir. *Clin Infect Dis*. 15 mars 2024;78(3):562-72.
37. Szpara ML, Gatherer D, Ochoa A, Greenbaum B, Dolan A, Bowden RJ, et al. Evolution and Diversity in Human Herpes Simplex Virus Genomes. *J Virol*. 15 janv 2014;88(2):1209-27.
38. Chang JY, Balch C, Puccio J, Oh HS. A Narrative Review of Alternative Symptomatic Treatments for Herpes Simplex Virus. *Viruses*. juin 2023;15(6):1314.
39. Jean-Charles L. Détection du génome des virus HSV et VZV dans le liquide cérébro-spinal par amplification génique en cas d'encéphalite - Haute Autorité de santé. juin 2015;
40. Flint J, Racaniello VR, Rall GF, Skalka AM. *Principles of Virology - Volume 1 Molecular biology*. 4ème. 2015.
41. Lee DH, Zuckerman RA, AST Infectious Diseases Community of Practice. Herpes simplex virus infections in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. sept 2019;33(9):e13526.
42. Obisesan OS, Sithebe NP, Mufhandu HT. Seroprevalence and characterisation of herpes simplex virus from human immunodeficiency virus in samples collected from two provinces in South Africa: a retrospective study [Internet]. F1000Research; 2021 [cité 17 juin 2025]. Disponible sur: <https://f1000research.com/articles/10-105>
43. Looker KJ, Magaret AS, May MT, Turner KME, Vickerman P, Gottlieb SL, et al. Global and Regional Estimates of Prevalent and Incident Herpes Simplex Virus Type 1 Infections in 2012. *PLOS ONE*. 28 oct 2015;10(10):e0140765.
44. Looker KJ, Magaret AS, Turner KME, Vickerman P, Gottlieb SL, Newman LM. Global Estimates of Prevalent and Incident Herpes Simplex Virus Type 2 Infections in 2012. *PLOS ONE*. 21 janv 2015;10(1):e114989.
45. Labib BA, Chigbu DI. Clinical Management of Herpes Simplex Virus Keratitis. *Diagnostics*. oct 2022;12(10):2368.
46. Whitley RJ, Roizman B. Herpes simplex virus infections. *The Lancet*. 12 mai 2001;357(9267):1513-8.
47. Schalkwijk HH, Snoeck R, Andrei G. Acyclovir resistance in herpes simplex viruses: Prevalence and therapeutic alternatives. *Biochem Pharmacol*. 1 déc 2022;206:115322.

48. Looker KJ, Magaret AS, May MT, Turner KME, Vickerman P, Newman LM, et al. First estimates of the global and regional incidence of neonatal herpes infection. *Lancet Glob Health*. 1 mars 2017;5(3):e300-9.
49. Prise en charge de l'herpes cutanéomuqueux chez le sujet immunocompétent. *Arch Pédiatrie*. juill 2002;9(7):744-54.
50. Burrel S, Aïme C, Hermet L, Aït-Arkoub Z, Agut H, Boutolleau D. Surveillance of herpes simplex virus resistance to antivirals: a 4-year survey. *Antiviral Res*. nov 2013;100(2):365-72.
51. Piret J, Boivin G. Resistance of Herpes Simplex Viruses to Nucleoside Analogues: Mechanisms, Prevalence, and Management. *Antimicrob Agents Chemother*. 20 janv 2011;55(2):459-72.
52. Shiraki K. Antiviral Drugs Against Alphaherpesvirus. In: Kawaguchi Y, Mori Y, Kimura H, éditeurs. *Human Herpesviruses* [Internet]. Singapore: Springer; 2018 [cité 24 juin 2025]. p. 103-22. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-981-10-7230-7_6
53. Pritelivir – Application in Therapy and Current Clinical Research [Internet]. European Clinical Trials Information Network. [cité 24 juin 2025]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.eu/inn/pritelivir/>
54. Birkmann A, Saunders R. Overview on the management of herpes simplex virus infections: Current therapies and future directions. *Antiviral Res*. 1 mai 2025;237:106152.
55. Wald A, Corey L, Timmler B, Magaret A, Warren T, Tyring S, et al. Helicase–Primase Inhibitor Pritelivir for HSV-2 Infection. *N Engl J Med*. 16 janv 2014;370(3):201-10.
56. Wald A, Timmler B, Magaret A, Warren T, Tyring S, Johnston C, et al. Effect of Pritelivir Compared With Valacyclovir on Genital HSV-2 Shedding in Patients With Frequent Recurrences: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 20 déc 2016;316(23):2495-503.
57. ANSM [Internet]. [cité 9 août 2025]. Liste des spécialités en accès dérogatoire - Aménalief. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/tableau-acces-derogatoire/amenalief>
58. Boucher R, Boutolleau D, Burrel S, Haigh O, Fernandez J, Vauloup-Fellous C, et al. Efficacy and Safety of Amenamevir, a Helicase-Primase Inhibitor for the Treatment of Acyclovir-Resistant Herpes Simplex Virus 1 Keratitis. *Cornea*. janv 2025;44(1):48.

59. Brissot E, Alsuliman T, Beauvais D, Bonnin A, Mear JB, Souchet L, et al. Prophylaxie antivirale pour le CMV, l'HSV/VZV et le VHB après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques chez l'adulte : recommandations de la Société francophone de greffe de moëlle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). Bull Cancer (Paris). 1 janv 2020;107(1, Supplement):S1-6.
60. Arvin AM. Varicella-zoster virus. Clin Microbiol Rev. juill 1996;9(3):361-81.
61. Lang PO, Ferahta N. Recommandations pour le traitement et la prévention du zona et des douleurs associées chez la personne âgée. Rev Médecine Interne. 1 janv 2016;37(1):35-42.
62. Yoshikawa TT, Schmader K. Herpes Zoster in Older Adults. Clin Infect Dis. 15 mai 2001;32(10):1481-6.
63. Arvin AM, Koropchak CM, Wittek AE. Immunologic Evidence of Reinfection with Varicella-Zoster Virus. J Infect Dis. 1 août 1983;148(2):200-5.
64. Pergam SA, Limaye AP, Practice the AIDC of. Varicella zoster virus in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. Clin Transplant. 2019;33(9):e13622.
65. Charlier C, Anselem O, Caseris M, Lachâtre M, Tazi A, Driessen M, et al. Prevention and management of VZV infection during pregnancy and the perinatal period. Infect Dis Now. 1 juin 2024;54(4):104857.
66. Rios S. Recommandations vaccinales contre le zona. Place du vaccin Shingrix. HAS. 7 mars 2024;
67. Shiraki K, Yasumoto S, Toyama N, Fukuda H. Amenamevir, a Helicase-Primase Inhibitor, for the Optimal Treatment of Herpes Zoster. Viruses. août 2021;13(8):1547.
68. Kawashima M, Nemoto O, Honda M, Watanabe D, Nakayama J, Imafuku S, et al. Amenamevir, a novel helicase-primase inhibitor, for treatment of herpes zoster: A randomized, double-blind, valaciclovir-controlled phase 3 study. J Dermatol. nov 2017;44(11):1219-27.
69. VIDAL [Internet]. 2024 [cité 15 juill 2025]. Recommandations Zona. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/recommandations/zona-1473.html>
70. Burrel S, Topalis D, Boutolleau D. Herpes simplex virus resistance to antivirals. Virologie. oct 2020;24(5):325-42.
71. Ljungman P, Chemaly RF, Khawaya F, Alain S, Avery R, Badshah C, et al. Consensus Definitions of Cytomegalovirus (CMV) Infection and Disease in Transplant

Patients Including Resistant and Refractory CMV for Use in Clinical Trials: 2024 Update From the Transplant Associated Virus Infections Forum. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 26 sept 2024;79(3):787-94.

72. Lurain NS, Chou S. Antiviral Drug Resistance of Human Cytomegalovirus. *Clin Microbiol Rev.* oct 2010;23(4):689-712.

73. Santos Bravo M, Plault N, Sánchez-Palomino S, Rodríguez C, Navarro Gabriel M, Mosquera MM, et al. Genotypic and Phenotypic Study of Antiviral Resistance Mutations in Refractory Cytomegalovirus Infection. *J Infect Dis.* 1 nov 2022;226(9):1528-36.

74. Hakki M, Chou S. The biology of cytomegalovirus drug resistance. *Curr Opin Infect Dis.* déc 2011;24(6):605-11.

75. Tamzali Y, Pourcher V, Azoyan L, Ouali N, Barrou B, Conti F, et al. Factors Associated With Genotypic Resistance and Outcome Among Solid Organ Transplant Recipients With Refractory Cytomegalovirus Infection. *Transpl Int.* 15 juin 2023;36:11295.

76. Hakki M, Drummond C, Houser B, Marousek G, Chou S. Resistance to maribavir is associated with the exclusion of pUL27 from nucleoli during human cytomegalovirus infection. *Antiviral Res.* 1 nov 2011;92(2):313-8.

77. Chou S, Marousek GI, Senters AE, Davis MG, Biron KK. Mutations in the Human Cytomegalovirus UL27 Gene That Confer Resistance to Maribavir. *J Virol.* juill 2004;78(13):7124-30.

78. Hofmann E, Sidler D, Dahdal S, Bittel P, Suter-Riniker F, Manuel O, et al. Emergence of letermovir resistance in solid organ transplant recipients with ganciclovir resistant cytomegalovirus infection: A case series and review of the literature. *Transpl Infect Dis.* 2021;23(3):e13515.

79. Ligat G, Cazal R, Hantz S, Alain S. The human cytomegalovirus terminase complex as an antiviral target: a close-up view. *FEMS Microbiol Rev.* 1 mars 2018;42(2):137-45.

80. Alain S, Gomez-Mayeras M, Garnier F, Quinio PL, Cournede A, Andouard D, et al. Résistance du cytomegalovirus au letermovir en France, bilan 2018-2022. [Internet]. 2023 mai [cité 8 déc 2024]. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2772743223000545>

81. Li L, Lowe CF, McLachlan E, Romney MG, Wright A, Matic N. Epidemiology of cytomegalovirus antiviral resistance testing for solid organ and bone marrow transplant patients from 2011 – 2019. *J Clin Virol.* 1 sept 2023;166:105549.

82. López-Aladid R, Guiu A, Sanclemente G, López-Medrano F, Cofán F, Mosquera MM, et al. Detection of cytomegalovirus drug resistance mutations in solid organ transplant recipients with suspected resistance. *J Clin Virol.* 1 mai 2017;90:57-63.
83. Fisher CE, Knudsen JL, Lease ED, Jerome KR, Rakita RM, Boeckh M, et al. Risk Factors and Outcomes of Ganciclovir-Resistant Cytomegalovirus Infection in Solid Organ Transplant Recipients. *Clin Infect Dis.* 1 juill 2017;65(1):57-63.
84. CNR H. Bilan annuel CNR Herpesvirus 2023 [Internet]. [cité 20 août 2025]. Disponible sur: <https://www.unilim.fr/cnr-herpesvirus/bilans-publications/bilans-annuels/>
85. Boivin G, Goyette N, Rollag H, Jardine AG, Pescovitz MD, Asberg A, et al. Cytomegalovirus resistance in solid organ transplant recipients treated with intravenous ganciclovir or oral valganciclovir. *Antivir Ther.* 2009;14(5):697-704.
86. Shmueli E, Or R, Shapira MY, Resnick IB, Caplan O, Bdolah-Abram T, et al. High Rate of Cytomegalovirus Drug Resistance Among Patients Receiving Preemptive Antiviral Treatment After Haploidentical Stem Cell Transplantation. *J Infect Dis.* 15 févr 2014;209(4):557-61.
87. Chou S, Winston DJ, Avery RK, Cordonnier C, Duarte RF, Haider S, et al. Comparative Emergence of Maribavir and Ganciclovir Resistance in a Randomized Phase 3 Clinical Trial for Treatment of Cytomegalovirus Infection. *J Infect Dis.* 15 mars 2025;231(3):e470-7.
88. Chou S, Alain S, Cervera C, Chemaly RF, Kotton CN, Lundgren J, et al. Drug Resistance Assessed in a Phase 3 Clinical Trial of Maribavir Therapy for Refractory or Resistant Cytomegalovirus Infection in Transplant Recipients. *J Infect Dis.* 15 févr 2024;229(2):413-21.
89. Piret J, Boivin G. Management of Cytomegalovirus Infections in the Era of the Novel Antiviral Players, Letermovir and Maribavir. *Infect Dis Rep.* févr 2024;16(1):65-82.
90. Robin C, Thiebaut A, Alain S, Fontbrune FS de, Berceanu A, D'Aveni M, et al. Letermovir for Secondary Prophylaxis of Cytomegalovirus Infection and Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Results from the French Compassionate Program. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1 mai 2020;26(5):978-84.
91. Chavarot N, Divard G, Scemla A, Amrouche L, Aubert O, Leruez-Ville M, et al. Increased incidence and unusual presentations of CMV disease in kidney transplant recipients after conversion to belatacept. *Am J Transplant.* 1 juill 2021;21(7):2448-58.
92. Streck NT, Espy MJ, Ferber MJ, Klee EW, Razonable RR, Gonzalez D, et al. Use of next-generation sequencing to detect mutations associated with antiviral drug

- resistance in cytomegalovirus. Tang YW, éditeur. J Clin Microbiol. 24 oct 2023;61(10):e00429-23.
93. HAS. Avis sur les médicaments - LIVTENCITY 200mg [Internet]. 2023. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-20116_LIVTENCITY_PIC_INS_AvisDef_CT20116.pdf
 94. Piret J, Boivin G. Antiviral resistance in herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections: diagnosis and management. Curr Opin Infect Dis. déc 2016;29(6):654.
 95. Frobert E, Burrel S, Ducastelle-Lepretre S, Billaud G, Ader F, Casalegno JS, et al. Resistance of herpes simplex viruses to acyclovir: An update from a ten-year survey in France. Antiviral Res. 1 nov 2014;111:36-41.
 96. Bradshaw MJ, Venkatesan A. Herpes Simplex Virus-1 Encephalitis in Adults: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. Neurotherapeutics. 1 juin 2016;13(3):493-508.
 97. Bacon TH, Levin MJ, Leary JJ, Sarisky RT, Sutton D. Herpes Simplex Virus Resistance to Acyclovir and Penciclovir after Two Decades of Antiviral Therapy. Clin Microbiol Rev. janv 2003;16(1):114-28.
 98. Sauerbrei A, Bohn K, Heim A, Hofmann J, Weißbrich B, Schnitzler P, et al. Novel Resistance-Associated Mutations of Thymidine Kinase and Dna Polymerase Genes of Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2. Antivir Ther. 1 nov 2011;16(8):1297-308.
 99. Danve-Szatanek C, Aymard M, Thouvenot D, Morfin F, Agius G, Bertin I, et al. Surveillance Network for Herpes Simplex Virus Resistance to Antiviral Drugs: 3-Year Follow-Up. J Clin Microbiol. janv 2004;42(1):242-9.
 100. Piret J, Boivin G. Antiviral drug resistance in herpesviruses other than cytomegalovirus. Rev Med Virol. 2014;24(3):186-218.
 101. Piret J, Boivin G. Resistance of Herpes Simplex Viruses to Nucleoside Analogues: Mechanisms, Prevalence, and Management. Antimicrob Agents Chemother. 20 janv 2011;55(2):459-72.
 102. Boutolleau D, Bomme O, Pertrizeard O, Mousnier F, Charpiot M, Conan F, et al. Surveillance de la résistance des virus herpes simplex et du virus de la varicelle et du zona aux antiviraux en France. Médecine Mal Infect Form. 1 juin 2022;1(2, Supplément):S29-30.
 103. Glasgow HL, Zhu H, Xie H, Kenkel EJ, Lee C, Huang ML, et al. Genotypic testing improves detection of antiviral resistance in human herpes simplex virus. J Clin Virol. 1 oct 2023;167:105554.

104. Blot N, Schneider P, Young P, Janvresse C, Dehesdin D, Tron P, et al. Treatment of an acyclovir and foscarnet-resistant herpes simplex virus infection with cidofovir in a child after an unrelated bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant.* oct 2000;26(8):903-5.
105. Andrei G, Topalis D, Fiten P, McGuigan C, Balzarini J, Opdenakker G, et al. In Vitro-Selected Drug-Resistant Varicella-Zoster Virus Mutants in the Thymidine Kinase and DNA Polymerase Genes Yield Novel Phenotype-Genotype Associations and Highlight Differences between Antiherpesvirus Drugs. *J Virol.* mars 2012;86(5):2641-52.
106. Sauerbrei A, Taut J, Zell R, Wutzler P. Resistance testing of clinical varicella-zoster virus strains. *Antiviral Res.* 1 juin 2011;90(3):242-7.
107. Boutolleau D, Bomme O, Pertrizeard O, Mousnier F, Charpiot M, Conan F, et al. Bilan de la surveillance de la résistance du virus de la varicelle et du zona aux antiviraux en France. *Médecine Mal Infect Form.* 1 juin 2022;1(2, Supplement):S138.
108. CNR H. Bilan annuel CNR Herpesvirus 2022.
109. van der Beek MT, Vermont CL, Bredius RGM, Marijt EWA, van der Blij-de Brouwer CS, Kroes ACM, et al. Persistence and Antiviral Resistance of Varicella Zoster Virus in Hematological Patients. *Clin Infect Dis.* 1 févr 2013;56(3):335-43.
110. Andrei G, Topalis D, Fiten P, McGuigan C, Balzarini J, Opdenakker G, et al. In Vitro-Selected Drug-Resistant Varicella-Zoster Virus Mutants in the Thymidine Kinase and DNA Polymerase Genes Yield Novel Phenotype-Genotype Associations and Highlight Differences between Antiherpesvirus Drugs. *J Virol.* mars 2012;86(5):2641-52.
111. Gnann Jr. JW. Antiviral therapy of varicella-zoster virus infections. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, Roizman B, Whitley R, et al., éditeurs. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis* [Internet]. Cambridge: Cambridge University Press; 2007 [cité 29 juill 2025]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK47401/>
112. Andrei G, Snoeck R. Advances and Perspectives in the Management of Varicella-Zoster Virus Infections. *Molecules.* janv 2021;26(4):1132.
113. Mostafa HH. Next-generation sequencing for cytomegalovirus genotypic antiviral resistance testing. *J Clin Microbiol.* 22 nov 2023;61(12):e01302-23.
114. Metzker ML. Sequencing technologies — the next generation. *Nat Rev Genet.* janv 2010;11(1):31-46.

115. Andrei G, Van Loon E, Lerut E, Victoor J, Meijers B, Bammens B, et al. Persistent primary cytomegalovirus infection in a kidney transplant recipient: Multi-drug resistant and compartmentalized infection leading to graft loss. *Antiviral Res.* août 2019;168:203-9.
116. Chee MS, Bankier AT, Beck S, Bohni R, Brown CM, Cerny R, et al. Analysis of the Protein-Coding Content of the Sequence of Human Cytomegalovirus Strain AD169. In: McDougall JK, éditeur. *Cytomegaloviruses*. Berlin, Heidelberg: Springer; 1990. p. 125-69.
117. Cunningham C, Gatherer D, Hilfrich B, Baluchova K, Dargan DJ, Thomson M, et al. Sequences of complete human cytomegalovirus genomes from infected cell cultures and clinical specimens. *J Gen Virol.* mars 2010;91(Pt 3):605-15.
118. Dolan A, Cunningham C, Hector RD, Hassan-Walker AF, Lee L, Addison C, et al. Genetic content of wild-type human cytomegalovirus. *J Gen Virol.* mai 2004;85(Pt 5):1301-12.
119. Alain S, Hantz S, Scieux C, Karras A, Mazon MC, Szélag JC, et al. Detection of ganciclovir resistance after valganciclovir-prophylaxis in renal transplant recipients with active cytomegalovirus infection. *J Med Virol.* août 2004;73(4):566-73.
120. Hantz S, Garnier-Geoffroy F, Mazon MC, Garrigue I, Merville P, Mengelle C, et al. Drug-resistant cytomegalovirus in transplant recipients: a French cohort study. *J Antimicrob Chemother.* déc 2010;65(12):2628-40.
121. Champier G, Couvreur A, Hantz S, Rametti A, Mazon MC, Bouaziz S, et al. Putative functional domains of human cytomegalovirus pUL56 involved in dimerization and benzimidazole D-ribonucleoside activity. *Antivir Ther.* 2008;13(5):643-54.
122. Hantz S, Couvreur A, Champier G, Trape L, Cotin S, Denis F, et al. Conserved domains and structure prediction of human cytomegalovirus UL27 protein. *Antivir Ther.* 2009;14(5):663-72.
123. Champier G, Hantz S, Couvreur A, Stuppfler S, Mazon MC, Bouaziz S, et al. New functional domains of human cytomegalovirus pUL89 predicted by sequence analysis and three-dimensional modelling of the catalytic site DEXDc. *Antivir Ther.* 2007;12(2):217-32.
124. McGeoch DJ, Dalrymple MA, Davison AJ, Dolan A, Frame MC, McNab D, et al. The Complete DNA Sequence of the Long Unique Region in the Genome of Herpes Simplex Virus Type 1. *J Gen Virol.* 1988;69(7):1531-74.
125. Dolan A, Jamieson FE, Cunningham C, Barnett BC, McGeoch DJ. The Genome Sequence of Herpes Simplex Virus Type 2. *J Virol.* mars 1998;72(3):2010-21.

126. Burrel S, Deback C, Agut H, Boutolleau D. Genotypic characterization of UL23 thymidine kinase and UL30 DNA polymerase of clinical isolates of herpes simplex virus: natural polymorphism and mutations associated with resistance to antivirals. *Antimicrob Agents Chemother.* nov 2010;54(11):4833-42.
127. Davison AJ, Scott JE. The Complete DNA Sequence of Varicella-Zoster Virus. *J Gen Virol.* 1986;67(9):1759-816.
128. Perrier M, Désiré N, Deback C, Agut H, Boutolleau D, Burrel S. Complementary assays for monitoring susceptibility of varicella-zoster virus resistance to antivirals. *J Virol Methods.* juill 2016;233:10-4.
129. Hochul K, Mc Donald JV, Baldwin ME. Validation of Next Generation Sequencing (NGS) Methods for Identification and/or Characterization of Infectious Agents [Internet]. 2023 [cité 24 août 2025]. Disponible sur: https://www.wadsworth.org/sites/default/files/WebDoc/ID_WGS_NGS_Molecular_Guidance_update_032223.pdf
130. Hage E, Wilkie GS, Linnenweber-Held S, Dhingra A, Suárez NM, Schmidt JJ, et al. Characterization of Human Cytomegalovirus Genome Diversity in Immunocompromised Hosts by Whole-Genome Sequencing Directly From Clinical Specimens. *J Infect Dis.* 1 juin 2017;215(11):1673-83.
131. von Bredow B, Caldera JR, Cerón S, Chan JL, Gray HK, Garner OB, et al. Clinical next-generation sequencing assay combining full-length gene amplification and shotgun sequencing for the detection of CMV drug resistance mutations. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* août 2023;165:105520.
132. Mercier-Darty M, Boutolleau D, Rodriguez C, Burrel S. Added value of ultra-deep sequencing (UDS) approach for detection of genotypic antiviral resistance of herpes simplex virus (HSV). *Antiviral Res.* 1 août 2019;168:128-33.
133. Mercier-Darty M, Boutolleau D, Lepeule R, Rodriguez C, Burrel S. Utility of ultra-deep sequencing for detection of varicella-zoster virus antiviral resistance mutations. *Antiviral Res.* mars 2018;151:20-3.
134. Frange P, Boutolleau D, Leruez-Ville M, Touzot F, Cros G, Heritier S, et al. Temporal and spatial compartmentalization of drug-resistant cytomegalovirus (CMV) in a child with CMV meningoencephalitis: implications for sampling in molecular diagnosis. *J Clin Microbiol.* déc 2013;51(12):4266-9.
135. Brink AATP, van Gelder M, Wolffs PF, Bruggeman CA, van Loo IHM. Compartmentalization of acyclovir-resistant varicella zoster virus: implications for sampling in molecular diagnostics. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 avr 2011;52(8):982-7.

136. Bache M, Andrei G, Bindl L, Bofferding L, Bottu J, Geron C, et al. Antiviral Drug-Resistance Typing Reveals Compartmentalization and Dynamics of Acyclovir-Resistant Herpes Simplex Virus Type-2 (HSV-2) in a Case of Neonatal Herpes. *J Pediatr Infect Dis Soc.* juin 2014;3(2):e24-27.
137. Lynch K, Märtson AG. The importance of drug exposure in the development of cytomegalovirus resistance. *Int J Antimicrob Agents.* 1 sept 2025;66(3):107537.
138. Schalkwijk HH, Gillemot S, Frobert E, Morfin F, Ducastelle S, Conrad A, et al. Primary HSV-2 Infection in an Immunocompromised Patient Reveals High Diversity of Drug-Resistance Mutations in the Viral DNA Polymerase. *Viruses.* 9 juill 2025;17(7):962.
139. Garrigue I, Moulinas R, Recordon-Pinson P, Delacour ML, Essig M, Kaminski H, et al. Contribution of next generation sequencing to early detection of cytomegalovirus *UL97* emerging mutants and viral subpopulations analysis in kidney transplant recipients. *J Clin Virol.* 1 juill 2016;80:74-81.
140. Douglas CM, Barnard R, Holder D, Leavitt R, Levitan D, Maguire M, et al. Letermovir Resistance Analysis in a Clinical Trial of Cytomegalovirus Prophylaxis for Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *J Infect Dis.* 16 mars 2020;221(7):1117-26.
141. Lodding IP, Jørgensen M, Bennedbæk M, Kirkby N, Naegele K, Gustafsson F, et al. Development and Dynamics of Cytomegalovirus *UL97* Ganciclovir Resistance Mutations in Transplant Recipients Detected by Next-Generation Sequencing. *Open Forum Infect Dis.* 1 oct 2021;8(10):ofab462.
142. Chorlton SD, Ritchie G, Lawson T, McLachlan E, Romney MG, Matic N, et al. Next-generation sequencing for cytomegalovirus antiviral resistance genotyping in a clinical virology laboratory. *Antiviral Res.* 1 août 2021;192:105123.
143. Alain S, Feghoul L, Girault S, Lepiller Q, Frobert E, Michonneau D, et al. Letermovir breakthroughs during the French Named Patient Programme: interest of monitoring blood concentration in clinical practice. *J Antimicrob Chemother.* 1 août 2020;75(8):2253-7.
144. Mutation Analyzer [Internet]. [cité 2 sept 2025]. Disponible sur: <https://dna.informatik.uni-ulm.de/software/mra/app/index.php?plugin=form>
145. Chevillotte M, von Einem J, Meier BM, Lin FM, Kestler HA, Mertens T. A new tool linking human cytomegalovirus drug resistance mutations to resistance phenotypes. *Antiviral Res.* 1 févr 2010;85(2):318-27.

146. Charles OJ, Venturini C, Goldstein RA, Breuer J. HerpesDRG: a comprehensive resource for human herpesvirus antiviral drug resistance genotyping. *BMC Bioinformatics*. 27 août 2024;25(1):279.
147. Comprehensive Herpesviruses Antiviral drug Resistance Mutation Database [Internet]. [cité 25 août 2025]. Base de données mutations de résistance CMV. Disponible sur: <https://www.unilim.fr/cnr-herpesvirus/outils/codexmv/>
148. Tilloy V, Díaz-González D, Laplace L, Bissierier E, Chou S, Rawlinson WD, et al. Comprehensive Herpesviruses Antiviral drug Resistance Mutation Database (CHARMD). *Antiviral Res*. 1 nov 2024;231:106016.
149. Alain S. Nouveaux antiviraux en prévention et en traitement.
150. Cytomegalovirus. *Am J Transplant*. oct 2004;4:51-8.
151. Sourisseau M, Faure E, Béhal H, Chauvet P, Srour M, Capes A, et al. The promising efficacy of a risk-based letermovir use strategy in CMV-positive allogeneic hematopoietic cell recipients. *Blood Adv*. 6 mars 2023;7(5):856-65.
152. Beauvais D, Drumez E, Blaise D, Peffault de Latour R, Forcade E, Ceballos P, et al. Scoring system for clinically significant CMV infection in seropositive recipients following allogeneic hematopoietic cell transplant: an SFGM-TC study. *Bone Marrow Transplant*. juin 2021;56(6):1305-15.
153. Alain S, Gomez-Mayeras M, Garnier F, Quinio PL, Cournede A, Andouard D, et al. Résistance du cytomegalovirus au letermovir en France, bilan 2018-2022. *Médecine Mal Infect Form*. 1 mai 2023;2(2, Supplement):S9.
154. Wang H. Practical updates in clinical antiviral resistance testing. *J Clin Microbiol*. 25 juill 2024;62(8):e00728-23.
155. Piccirilli G, Lanna F, Gabrielli L, Motta V, Franceschiello M, Cantiani A, et al. CMV-RNAemia as new marker of active viral replication in transplant recipients. *J Clin Microbiol*. 27 mars 2024;62(5):e01630-23.
156. Bresnahan WA, Shenk T. A Subset of Viral Transcripts Packaged Within Human Cytomegalovirus Particles. *Science*. 30 juin 2000;288(5475):2373-6.
157. Huang ES, Johnson RA. Human cytomegalovirus – no longer just a DNA virus. *Nat Med*. août 2000;6(8):863-4.
158. Haute Autorité de Santé [Internet]. 2024 [cité 28 juin 2025]. Prise en charge thérapeutique du patient atteint d’herpès génital. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3562501/fr/prise-en-charge-therapeutique-du-patient-atteint-d-herpes-genital

Université de Lille
UFR3S-Pharmacie
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2024/2025

Nom : MOLLET
Prénom : Julien

Titre de la thèse : Résistance des herpesvirus (HSV, VZV et CMV) : état des lieux de la résistance au niveau local et apport des approches génotypiques de recherche de résistance aux antiviraux

Mots-clés : virus, herpesvirus, mutations, séquençage, épidémiologie

Résumé :

La résistance des herpesvirus (HSV, VZV et CMV) représente un problème majeur dans la prise en charge thérapeutique, en particulier chez les patients immunodéprimés. Elle constitue une cause importante d'échec virologique, limitant l'efficacité thérapeutique et compliquant la gestion clinique de ces infections.

Ce travail dresse un état des lieux des défis techniques et des spécificités propres aux herpesvirus quant à la réalisation des tests génotypiques de résistance. Il inventorie les principales bases de données référencées à ce jour et propose une revue de la littérature décrivant l'épidémiologie de la résistance aux antiviraux.

Une étude monocentrique rétrospective sur l'épidémiologie de la résistance aux antiviraux au CHU de Lille sur la période 2014 – 2024 est proposée. Les résultats mettent en évidence un taux élevé de résistance aux antiviraux de 15,7 % (14/89) pour le CMV, avec une prédominance de mutations sur *UL97*, touchant principalement des patients greffés d'organes solides. Ce taux - supérieur à celui rapporté dans la littérature - peut s'expliquer par les limites de notre étude (biais de sélection en lien avec le caractère monocentrique rétrospectif). Pour les HSV, le taux de résistance atteint 65 % (13/20), touchant majoritairement des patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques. Le taux de résistance est de 28,6 % (2/7) pour le VZV.

Membres du jury :

Président : Pr GOFFARD Anne, PU-PH, Université de Lille, CHU de Lille

Assesseur(s) : Dr LAZREK Mouna, PH, CHU de Lille

Dr VUOTTO Fanny, PH, CHU de Lille

Directeur : Dr COULON Pauline, PH, CHU de Lille