



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ARGUMENTAIRE

Examens biologiques de recherche du virus Epstein-Barr dans le cadre d'un Syndrome Lymphoprolifératif Post Transplantation

Novembre 2015

Cet argumentaire est téléchargeable sur
www.has-sante.fr

Haute Autorité de santé

Service communication - information

2, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine Cedex

Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

Sommaire

Abréviations et acronymes	4
Résumé	5
Introduction	6
1. Contexte	7
1.1 Source d'information.....	7
1.2 Le Syndrome Lymphoprolifératif Post-Transplantation (SLPT)	7
1.3 Stratégie diagnostique et thérapeutique d'un SLPT	9
1.4 Tests de détection et de quantification de l'EBV chez les patients immunodéprimés	10
1.5 Conditions actuelles de la prise en charge par l'assurance maladie	11
1.6 Identification dans les nomenclatures étrangères.....	12
2. Méthode d'évaluation	13
2.1 Champ de l'évaluation	13
2.2 Recherche documentaire, sélection et analyse	13
2.3 Recueil de la position des professionnels	15
3. Résultats de l'évaluation	16
3.1 Analyse de la littérature	16
3.2 Synthèse de la position des parties prenantes	30
Conclusion	36
Annexe 1. Recherche documentaire.....	38
Annexe 2. Liste des tableaux.....	41
Annexe 3. Comptes rendus des auditions de parties prenantes	42
Références	57
Fiche descriptive	59

Abréviations et acronymes

cf......confer

CNAMTS.....La Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés

CSHCellules souches hématopoïétiques

EBV.....*Epstein-Barr virus* (le virus d'Epstein-Barr)

GVHD.....*Graft versus host disease* (maladie du greffon contre l'hôte)

HASHaute Autorité de Santé

NABM..... Nomenclature des actes de biologie médicale

OMS..... Organisation mondiale de la Santé

PCR. *Polymerase Chain Reaction* (amplification génique par polymérisation en chaîne)

SLPT.....Syndrome Lymphoprolifératif Post-Transplantation

Résumé

Objectif

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'utilité clinique de la mesure de la charge virale du virus d'Epstein-Barr (EBV) par amplification génique (PCR) en temps réel et de la recherche des anticorps sériques anti-EBV dans le cadre d'un syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (SLPT), en vue de leur inscription à la liste des actes de biologie médicale pris en charge par le système national d'Assurance maladie en France.

Méthode

La méthode d'évaluation utilisée consiste en une analyse de cohérence entre d'une part le contenu de la demande de l'Assurance maladie et d'autre part les données issues de l'analyse critique de la littérature synthétique identifiées par une recherche documentaire exhaustive puis sélectionnées sur des critères explicites, et de la position argumentée des organismes professionnels.

Conclusion

Les données ainsi recueillies (12 recommandations de bonne pratique et position de cinq organismes professionnels) permettent de conclure que la PCR EBV trouve sa place dans le cadre du suivi des patients transplantés à haut risque de développement d'un SLPT¹. Cet examen est réalisé en pratique clinique dans le but de prévenir le développement d'un SLPT et de suivre le traitement préemptif mis en place le cas échéant.

En ce qui concerne les conditions de réalisation de la PCR, cette évaluation permet de donner des informations sur le prélèvement à utiliser (sang total), la formulation du résultat (UI/ml) ou la fréquence de réalisation (hebdomadaire à bimensuelle pendant au moins les trois premiers mois suivant la greffe chez les sujets à haut risque). Dans l'attente de standardisation de cette mesure, le suivi devrait être réalisé avec la même technique et dans un même laboratoire.

Quant aux tests sérologiques EBV, ces mêmes données soutiennent leur utilisation avant la transplantation chez le donneur et le receveur, afin de déterminer le statut vis-à-vis de l'EBV et le risque de SLPT qui en découle.

Les données recueillies ne permettent cependant pas de préciser la valeur seuil de la charge virale ou sa cinétique déclenchant l'introduction du traitement préemptif, l'intérêt du suivi du traitement curatif par la PCR EBV et le type d'anticorps (isotypes et antigènes cibles) à rechercher lors du bilan sérologique pré-greffe.

Il est à noter que la PCR EBV ne se substitue pas aux examens histopathologiques permettant de poser le diagnostic d'un SLPT et que l'initiation du traitement préemptif, son arrêt ou son adaptation ne se décident pas sur la seule charge virale EBV.

Etant donné le faible niveau de preuve sur lesquelles s'appuient les préconisations énoncées dans ce rapport, il conviendrait de poursuivre ou mettre en place des études pour acquérir de nouvelles données confirmant ou infirmant l'intérêt de la PCR EBV dans les différentes situations évoquées (en particulier dans le suivi des différents types de traitement).

¹ Le risque de SLPT dépend notamment du type de greffes, du fait d'être pour le greffé un adulte ou un enfant, du mismatch EBV entre le receveur et le greffon, et de certains traitements pré-greffe.

Introduction

La Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) a saisi la HAS en vue d'évaluer le service médical rendu d'actes de biologie médicale relatifs aux diagnostics biologiques des infections à Epstein Barr virus, dans le cadre de l'actualisation de la liste des actes et prestations prévue à l'article L 162-1-7 du Code de la sécurité sociale. La CNAMTS s'est appuyée sur un groupe de biologistes médicaux pour réaliser cette demande.

Le demandeur proposait principalement l'inscription à la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) de la mesure de la charge virale EBV dans le sang par PCR EBV en temps réel chez les patients receveurs d'organes ou de cellules souches, traités par des immunosuppresseurs, dans le cadre de la prédiction, de la prévention, du diagnostic et du suivi thérapeutique d'un syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (SLPT)².

Selon le demandeur, la mesure de la charge virale de l'EBV représente un élément capital pour le suivi des lymphoproliférations chez les patients transplantés. Cette complication de transplantation est rare, mais peut aboutir à des lymphomes malins très difficiles à traiter, avec une mortalité de 50 %. Pour cette raison, un diagnostic précoce s'avère important, et l'intervention préemptive est préférable au curatif. L'augmentation de la charge virale EBV, évaluée par la quantification de l'ADN viral, pourrait jouer un rôle de marqueur précoce précédant la survenue d'un SLPT.

La demande contenait également une proposition de révision des actes de sérologie liés à la recherche du virus Epstein Barr dans la prise en charge des patients greffés, avec l'inscription d'un acte de recherche de statut immunitaire EBV avant la transplantation comprenant la recherche des anticorps anti-VCA IgG (ou anti-EBV IgG) et anti-EBNA-1 IgG³.

La méthode d'évaluation choisie est la réalisation d'une analyse de cohérence entre d'une part la demande, et d'autre part la littérature synthétique disponible et la position des professionnels sur le sujet.

² La demande portait également sur quatre autres indications, en dehors du contexte de transplantation : chez les patients candidats à un traitement fortement immunosuppresseur ; dans le cadre d'une suspicion de syndrome lymphoprolifératif au cours d'une immunodépression primitive ou héréditaire ; dans le cadre d'une suspicion de syndrome lymphoprolifératif chez les patients atteints du VIH ; dans le bilan initial et suivi du carcinome indifférencié du rhinopharynx. Après une première recherche bibliographique et après consultation des parties prenantes, la HAS a décidé de centrer cette évaluation sur le SLPT.

³ La demande contenait également une proposition d'inscription d'actes sérologiques liés à deux autres indications : diagnostic de formes sévères ou atypiques de primo-infection EBV ; diagnostic et suivi du carcinome du rhinopharynx. Comme indiqué ci-dessus, cette évaluation est centrée uniquement sur le SLPT.

1. Contexte

1.1 Source d'information

Ce chapitre de contexte a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus des revues générales, des recommandations de bonne pratique et des prises de position de sociétés savantes ou d'organismes de santé nationaux et étrangers, des articles d'épidémiologie, des fiches d'information, des ouvrages et des articles spécialisés.

1.2 Le Syndrome Lymphoprolifératif Post-Transplantation (SLPT)

Le Syndrome Lymphoprolifératif Post-Transplantation (SLPT) regroupe différents types de prolifération des lymphocytes (B et moins souvent T), allant de simples proliférations aux proliférations mortelles très proches de lymphomes classiques.

En effet, le SLPT est le deuxième néoplasme le plus fréquent chez les patients transplantés et représente une cause de mortalité significative dans cette population (1). La survie à long terme est estimée à 40 % (2).

La physiopathologie des SLPT est complexe et multifactorielle. Elle est, dans la plupart des cas, induite par le virus Epstein Barr (EBV) et associée à un défaut de réaction immunitaire suite à l'immunosuppression thérapeutique post-greffe.

L'EBV est un virus à ADN qui cible les cellules épithéliales de l'oropharynx et les lymphocytes B. Il est estimé qu'à l'âge adulte plus de 90 % de la population est infectée par ce virus. Après la primo-infection, le virus persiste dans les lymphocytes. En présence d'un système immunitaire intact, l'activation et la prolifération des lymphocytes, dues à l'EBV, est sous contrôle. En revanche, en présence d'immunosuppression, ce qui est le cas après une transplantation, ce contrôle peut être perdu, menant au développement d'un SLPT.

Il est à noter cependant que l'infection à EBV mal contrôlée n'est pas suffisante pour l'émergence d'un SLPT et que d'autres facteurs (tels que le terrain génétique⁴, l'inflammation chronique liée aux transplantations et les caractéristiques des drogues immunosuppressives) semblent avoir un rôle important dans le développement de cette maladie.

Les différents types de SLPT ont été classés en quatre grandes catégories par l'OMS (4) :

- Hyperplasies bénignes réactives plasmocytaires ou hyperplasies lymphoïdes MNI⁵-like (lésions précoces) ;
- SLPT polymorphes ;
- SLPT monomorphes (B ou T) ;
- SLPT Hodgkin-like classique.

Ces catégories sont hétérogènes par leurs présentations cliniques et leurs aspects histologiques. En pratique clinique, la distinction entre différentes catégories peut s'avérer parfois difficile (5). Le premier type semble être plus commun chez les patients qui n'ont été infectés par le virus qu'après la transplantation.

Ces lymphoproliférations sont différentes des lymphomes d'un sujet immunocompétent par leur pathogenèse, leur localisation (extraganglionnaire dans 70 % des cas) ainsi que par leur prise en charge. Elles peuvent se développer sur divers sites (système nerveux central, greffon, système digestif etc.), variant en fonction de l'organe transplanté. Il est notamment important de différencier

⁴ Qui a une influence sur la réponse immunitaire (3).

⁵ Mononucléose infectieuse.

les SLPT après greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) de ceux survenant après transplantation d'organes solides, en raison de certaines caractéristiques assez différentes.

► **SLPT après transplantation des cellules souches hématopoïétiques (CSH)**

Dans les allogreffes de CSH, les SLPT se développent principalement à partir des lymphocytes B d'un donneur séropositif pour l'EBV (6), plus rarement à partir des lymphocytes B du receveur non détruits lors du conditionnement pré-greffe. Les SLPT après autogreffe sont exceptionnels (0,07 %) (7).

Le syndrome se développe le plus souvent dans les six premiers mois suivant la transplantation.

Les patients ayant reçu un conditionnement à doses réduites en combinaison avec déplétion de lymphocytes T (*ex-vivo* ou *in-vivo*) sont considérés à haut risque de développement d'un SLPT (3). Les autres facteurs de risque comprennent notamment une greffe d'un donneur non apparenté ou incompatible et l'âge du receveur.

La prévalence à 10 ans est estimée à 1 % (8).

► **SLPT après transplantation d'organes solides**

Le SLPT représente la complication néoplasique la plus commune chez les enfants, et la deuxième plus fréquente chez les adultes transplantés d'organes solides (5).

Dans les allogreffes d'organes solides, le SLPT se développe principalement à partir des lymphocytes B⁶ du receveur (6), en général EBV positif⁷. Il est associé à un taux élevé de mortalité, estimé à 50 % par exemple chez les transplantés rénaux (9).

Le risque de développer un SLPT est le plus grand dans la première année suivant la transplantation. D'après la littérature, 90 % des SLPT survenus dans la première année sont dus à l'EBV. Les lésions qui sont EBV-négatives semblent apparaître plus tard après transplantation (5).

Les patients à risque de primo-infection EBV, et surtout les patients séronégatifs pour EBV qui reçoivent un greffon d'un donneur EBV positif, sont considérés à plus haut risque de développement d'un SLPT (5, 10, 11). Ceci explique une incidence accrue des lymphomes observée dans la population pédiatrique (12).

Le niveau global d'immunosuppression est également un facteur impactant le développement de la maladie. Cependant, il est difficile d'estimer le « rôle » exact de chaque médicament en termes d'impact sur le développement du SLPT (5, 10).

Le risque du SLPT dépend également du type d'organe transplanté (10, 11, 13), étant le plus élevé chez les transplantés intestinaux, et le moins élevé chez les transplantés rénaux.

En France, l'incidence cumulée du SLPT après transplantation d'organes solides à 10 ans est estimée à 2,1 % personnes-années (12). L'incidence du SLPT varie en fonction du type d'organe transplanté et de l'âge. D'après les données de la base de données Cristal qui est le registre national des greffes rénales, hépatiques et thoraciques en France, l'incidence pour ces greffes est estimée à 1,3 % pour la tranche moins exposée (20-40 ans), et à 2,05 % pour la tranche plus exposée (< 20 ans).

⁶ 85 % des SLPT après transplantation d'organes solides sont de phénotype B (5).

⁷ 80 % des SLPT de phénotype B sont EBV+, contrairement à seulement 30 % pour les SLPT de phénotype T (5).

1.3 Stratégie diagnostique et thérapeutique d'un SLPT

1.3.1 Stratégie diagnostique

Les signes cliniques d'un SLPT ne sont pas spécifiques et incluent l'élargissement des ganglions lymphatiques, la splénomégalie, des symptômes abdominaux, la fièvre etc. (13). Le diagnostic présomptif se fait sur un faisceau d'arguments (cliniques, facteurs de risque, charge virale EBV).

Le diagnostic de confirmation est principalement histologique, indépendamment du type de transplantation (CSH ou organes solides) (5, 7).

Des tests complémentaires, liés à l'EBV, peuvent être utilisés, comme la détection des ARN non codants de l'EBV (EBER) par hybridation *in situ* (5, 11) ou de certains antigènes EBV par l'immunohistochimie (5, 11, 14).

Les techniques d'imagerie peuvent être utilisées pour localiser la tumeur et déterminer le stade de la maladie.

1.3.2 Stratégie thérapeutique

La stratégie thérapeutique combine des interventions visant à restaurer la réponse cytotoxique anti-EBV (diminution de l'immunosuppression mise en place après la greffe, injections des lymphocytes T cytotoxiques anti-EBV) et des interventions ciblant des lymphocytes B tumoraux (avec par exemple des anticorps monoclonaux anti-CD20). Ces stratégies peuvent être appliquées dans un but curatif, ou préemptif⁸.

Certains centres proposent même l'utilisation d'anti-herpétiques⁹ (acyclovir, ganciclovir) en prophylaxie antivirale, ou comme traitement préemptif ou curatif.

Comme la réponse aux traitements curatifs est en général mauvaise, la prise en charge s'oriente vers un diagnostic précoce, avec une surveillance de la charge de l'EBV chez les patients positifs en PCR et un traitement préemptif en cas d'augmentation de l'ADN EBV dans le sang (7).

La décision de la mise en place d'un traitement doit reposer sur un faisceau d'arguments : les facteurs de risque (3), les caractéristiques de la tumeur (sous-type histologique, le grade, le stade et le site), ainsi que l'état clinique du patient (y compris la fonction des organes transplantés et la capacité à tolérer la thérapie) (5).

Il est à noter que plusieurs publications soulignent le manque d'études randomisées qui permettraient de définir clairement la meilleure stratégie thérapeutique (3, 7, 15).

► Prophylaxie antivirale

Certains centres proposent l'utilisation d'anti-herpétiques en prophylaxie antivirale. Cette approche est contestée dans les recommandations internationales sur la prise en charge des SLPT après transplantation de CSH (7, 16). En ce qui concerne les recommandations traitant de la transplantation d'organes solides, les conclusions diffèrent entre elles : alors que certaines conseillent de considérer une prophylaxie combinant les immunoglobulines intraveineuses et le (val)ganciclovir chez les patients EBV séronégatifs recevant une greffe d'un donneur EBV séropositif, tout en rappelant l'absence de preuves fermes (10), d'autres ne recommandent pas cette approche en raison de résultats d'études contradictoires (5, 9).

⁸ On entend par « traitement préemptif » un traitement instauré chez un patient asymptomatique suite à la détection de l'EBV (7). Un traitement préventif (prophylactique) serait en revanche un traitement instauré chez un patient asymptomatique afin de prévenir la réactivation du virus.

⁹ L'EBV appartient à la famille des herpes virus (HHV-4).

► Traitement préemptif

Les stratégies principales diffèrent selon le type de greffe : chez les transplantés de cellules souches hématopoïétiques des anticorps monoclonaux anti-CD20 comme le rituximab seraient utilisés d'abord (3, 7)¹⁰, alors que chez les transplantés d'organes solides il s'agirait plutôt de la réduction de l'immunosuppression (11, 15). En effet, d'après certaines recommandations, l'efficacité du rituximab dans cette population ne serait pas suffisamment documentée (10, 11).

Malgré l'absence de preuves fermes, certaines recommandations conseillent de considérer l'utilisation des antiviraux également (10, 13).

Certaines publications citent l'immunothérapie adoptive¹¹ comme thérapie de deuxième ligne chez les transplantés de CSH (3, 7). En revanche, les données semblent insuffisantes pour déterminer leur efficacité chez les transplantés d'organes solides (11).

De manière générale, un manque d'études contrôlées randomisées portant sur la stratégie préemptive est souligné (3, 11). De plus, le seuil de la charge virale EBV qui déclenche sa mise en place n'est pas défini de manière consensuelle (3, 11, 13, 15).

► Traitement curatif

Le traitement curatif reprend, avec les mêmes réserves, les stratégies médicamenteuses préemptives. De plus, une chirurgie ou une chimiothérapie peuvent être envisagées, comme traitement complémentaire ou de deuxième ligne (3, 7, 11, 13, 15).

1.4 Tests de détection et de quantification de l'EBV chez les patients immunodéprimés

Chez les patients immunocompétents, le diagnostic de l'infection par le virus d'Epstein-Barr est réalisé dans la majorité des cas de manière indirecte, par la recherche d'anticorps spécifiques anti-EBV puis par l'analyse du profil sérologique. Le diagnostic repose sur l'analyse des résultats pour trois marqueurs : anticorps IgM et IgG, anti-VCA (*Viral Capsid Antigen*) et IgG anti-EBNA-1 (*Epstein-Barr Nuclear Antigen*).

La cinétique d'apparition de ces différents anticorps permet de dater l'infection :

- La primo-infection récente se caractérise par la présence d'IgM anti-VCA, avec ou sans IgG anti-VCA, mais toujours en l'absence d'IgG anti-EBNA-1 ;
- L'infection ancienne (> 3-6 semaines) est définie le plus souvent par la présence d'IgG anti-VCA et IgG anti-EBNA-1, sans IgM anti-VCA (17, 18).

Chez les patients immunodéprimés, le diagnostic d'une primo-infection EBV (ou de réactivation du virus) ne repose pas sur la sérologie (jugée non fiable) mais sur la détection directe du génome viral (17, 18). La sérologie EBV peut quant à elle être utilisée pour déterminer le statut immunologique vis-à-vis de l'EBV, et fait partie des explorations pré-greffe (11, 19).

C'est la mesure de la charge virale par PCR EBV en temps réel qui est la technique la plus utilisée (20). Cette technique s'avère plus sensible, plus rapide et plus facile à manipuler que d'autres techniques quantitatives citées dans la littérature, à savoir l'immunofluorescence, l'hybridation *in situ*, la PCR semi-quantitative ou la PCR compétitive (21). De plus, la quantification du génome de l'EBV par PCR peut être effectuée à partir de plusieurs échantillons : le sang total, le plasma, le sérum, les leucocytes, éventuellement le LCR ou les tissus. L'hybridation *in situ* est utilisée essentiellement sur le tissu tumoral, et ne permet pas de détecter le virus acellulaire.

¹⁰ Une recommandation internationale (16) préconise néanmoins la réduction de l'immunosuppression comme stratégie du premier choix dans cette population.

¹¹ Injection de lymphocytes T cytotoxiques anti-EBV.

Plusieurs trousse commercialisées (environ 10), ou encore des kits maisons (plus de 25), seraient actuellement disponibles (20).

Plusieurs publications notent qu'il s'agit d'une méthode pas entièrement standardisée, les techniques pratiquées dans les différents laboratoires diffèrent par la séquence génique à amplifier, la méthode d'extraction utilisée, ou par le compartiment sanguin analysé (3, 11, 20). Ce manque de standardisation rend les comparaisons des résultats de différents laboratoires délicates. L'Organisation Mondiale de santé a mis à disposition en 2011 un standard international (WHO International Standard) qui, une fois adopté, devrait permettre de standardiser au moins la manière dont les résultats sont exprimés (en unités internationales (UI) plutôt qu'en nombre de copies par ml ou µg de l'ADN) (22).

En ce qui concerne l'utilisation de la PCR quantitative EBV dans le cadre d'un SLPT, des questions persistent sur la spécificité de la technique (lien entre le virus et le SLPT) et sa valeur prédictive positive¹². Certains patients, en particulier dans le cadre de transplantation d'organes solides, peuvent avoir des charges virales EBV élevées sans jamais développer de SLPT (3, 5, 10, 13, 20). D'autres peuvent développer le SLPT sans que l'EBV soit détecté dans le sang (3, 13). Son utilisation à des fins strictement diagnostiques résulterait en investigation inutile pour un SLPT, en raison de sa faible spécificité et faible valeur prédictive positive (11).

Il en est de même pour le lien entre la surveillance de la charge virale EBV et l'effet du traitement d'un SLPT, certaines études montrent qu'une diminution de la charge virale EBV ne correspond pas obligatoirement à la réponse au traitement, au moins chez les patients adultes (20).

De nouveaux tests à utiliser en complément de la PCR EBV et permettant de mieux prédire l'apparition du SLPT, telle que la mesure de l'immunité cellulaire spécifique, seraient actuellement étudiés (10, 11, 20).

1.5 Conditions actuelles de la prise en charge par l'assurance maladie

Seuls les actes diagnostiques de sérologie EBV sont inscrits actuellement à la NABM. Les libellés actuels font une distinction entre les techniques utilisées (IFI ou EIA), et font référence à la recherche des combinaisons suivantes d'anticorps spécifiques EBV : anti-EBNA et anti-VCA IgG pour une ancienne infection ; anti-VCA et anti-EA IgM pour une infection récente ; et anti-EA et anti-VCA IgA.

La PCR quantitative virale est inscrite dans la liste des actes pris en charge via la MERRI-RHN, avec un libellé commun pour tous les agents infectieux.

Tableau 1. Libellés des tests sérologiques EBV identifiés dans la NABM

Code	Libellé
1715	INFECTION A EBV ANCIENNE : SERODIAGNOSTIC : AC VCA IGG ET AC EBNA PAR IFI
1716	INFECTION A EBV ANCIENNE : SERODIAGNOSTIC : AC VCA IGG ET AC EBNA PAR EIA
1717	INFECTION A EBV RECENTE OU EVOLUTIVE : SERODIAGNOSTIC : AC VCA IGM OU AC EA IGM PAR IFI
1718	INFECTION A EBV RECENTE OU EVOLUTIVE : SERODIAGNOSTIC : AC VCA IGM OU AC EA PAR EIA
1719	INFECTION A EBV : SERODIAGNOSTIC : AC EA IGA OU AC VCA IGA
3786	INFECTION A EBV : MONONUCLEOSE INFECTIEUSE (MNI) : AC HETEROPHILES : RECHERCHE

¹² Il y a très peu d'études prospectives dans le domaine (11).

1.6 Identification dans les nomenclatures étrangères

En ce qui concerne les actes spécifiques à l'EBV, les libellés d'actes de sérologie ont été retrouvés dans les quatre nomenclatures étrangères analysées. Aucun de ces actes ne correspond à l'acte de recherche de statut immunitaire EBV dans le cadre d'une transplantation tel quel proposé pour l'inscription à la NABM par la CNAMTS (recherche des anticorps anti-VCA IgG ou anti-EBV IgG et anti-EBNA-1 IgG).

La PCR quantitative EBV a été identifiée seulement dans la nomenclature québécoise (code 45120 ; libellé « Virus Epstein Barr (EBV) charge virale (TAAN) (Quantitatif) sur spécimen clinique »). Un acte de PCR, mais avec un libellé commun pour tous les agents infectieux, a été identifié dans la nomenclature américaine (code 87799 ; libellé « Infectious agent detection by nucleic acid (DNA or RNA), not otherwise specified ; quantification, each organism »).

Tableau 2. Libellés des tests sérologiques EBV identifiés dans les nomenclatures étrangères

Nomenclature	Code	Libellé
américaine (CPT 2015)	86663	Antibody ; Epstein-Barr (EB) virus, early antigen (EA)
	86664	Antibody ; Epstein-Barr (EB) virus, nuclear antigen (EBNA)
	86665	Antibody ; Epstein-Barr (EB) virus, viral capsid (VCA)
australienne (MBS 2014)	69472	Detection of antibodies to Epstein Barr Virus using specific serology – 1 test
	69474	Detection of antibodies to Epstein Barr Virus using specific serology - 2 or more tests
belge (2014)	551530 (ambulant) ou 551541 (hospitalisé)	Recherche d'anticorps IgG contre le virus Epstein-Barr (Maximum 1) (Règle de cumul 328)
	551552 (ambulant) ou 551563 (hospitalisé)	Recherche d'anticorps IgM contre le virus Epstein-Barr (Maximum 1) (Règle de cumul 328)
québécoise (2015/2016)	40662	Virus Epstein Barr (EBV) (EBNA) IgG ou Ac totaux (ELISA)
	40663	Virus Epstein Barr (EBV) (EBNA) IgG ou Ac totaux (Immunofluorescence)
	40665	Virus Epstein Barr (EBV) (VCA) IgG ou Ac totaux (ELISA)
	40666	Virus Epstein Barr (EBV) (VCA) IgG ou Ac totaux (Immunofluorescence)
	40667	Virus Epstein Barr (EBV) (VCA) IgM spécifique (ELISA)

2. Méthode d'évaluation

La méthode d'évaluation utilisée dans cet argumentaire consiste en une analyse de cohérence entre d'une part la demande et d'autre part les données de littérature synthétique identifiées puis analysées, et la position des professionnels.

2.1 Champ de l'évaluation

Cette évaluation comprend deux volets distincts :

- l'utilité clinique et les conditions de réalisation de la PCR EBV dans deux cas de suivi de la charge virale après transplantation :
 - Prévention d'un SLPT ;
 - Suivi du traitement d'un SLPT ;
- L'utilité clinique des tests sérologiques pour la caractérisation du statut immunitaire EBV avant transplantation.

2.2 Recherche documentaire, sélection et analyse

2.2.1 Stratégie de recherche bibliographique et résultats

Conformément à la méthode d'évaluation retenue, seules les données de littérature synthétique (rapports d'évaluation technologique, recommandations de bonne pratique, revues systématiques et méta-analyses) ont été recherchées. La recherche documentaire a été conduite de la manière suivante (Tableau 3) :

Tableau 3. Stratégie de recherche bibliographique

Sources interrogées	<i>Medline</i>
Recherches complémentaires	Sites Internet d'agences d'évaluation de technologies de santé ; sites Internet d'organismes professionnels français et étrangers ; références des publications identifiées
Période de recherche	Recherche du 01/01/2009 au 31/01/2015, veille documentaire jusqu'à juillet 2015

Les équations de recherche, les mots clés utilisés et la liste des sites internet consultés figurent en Annexe 1.

Cette recherche documentaire a permis d'identifier 49 documents (recherche initiale, veille, recherche complémentaire manuelle). Aucun rapport d'évaluation technologique n'a été identifié.

2.2.2 Critères de sélections des documents identifiés

Une première sélection sur titre et résumé a permis d'écartier 27 documents sans lien avec le sujet.

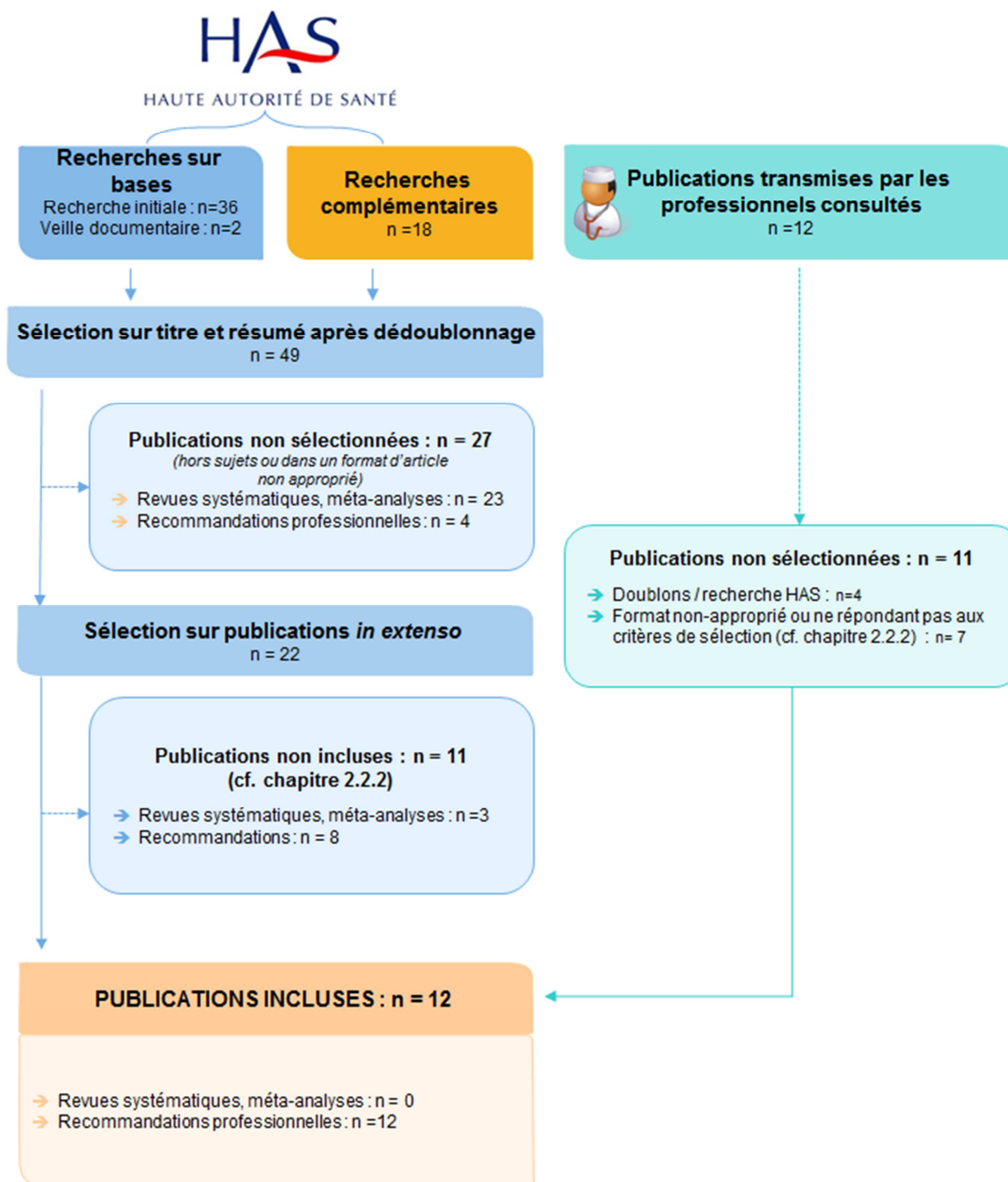
Sur les 22 documents restant, ont été exclus les documents qui n'abordaient pas explicitement la place de la PCR EBV ou des tests sérologiques dans les stratégies de prise en charge des patients transplantés ou d'un SLPT ; les documents n'ayant pas précisé la méthode d'élaboration ou n'ayant pas inclus une revue de la littérature ; les recommandations sans gradations ; les versions précédentes de recommandations d'un même organisme ; les méta-analyses incluant des études portant sur les patients immunocompétents.

A l'issue de cette sélection, onze recommandations de bonne pratique ont été retenues pour l'analyse critique de la littérature.

Une publication supplémentaire, non-indexée comme recommandation de bonne pratique mais contenant des recommandations, a été signalée par une partie prenante consultée. Elle a été ajoutée aux onze documents déjà retenus car elle répondait aux mêmes critères de sélection.

Les résultats de la recherche documentaire et du processus de sélection sont présentés dans le schéma ci-dessous.

Figure 1. Flow chart résumant le processus de sélection des références bibliographiques



2.2.3 Méthode d'analyse de la littérature sélectionnée

La qualité méthodologique des 12 publications sélectionnées a été analysée en s'appuyant sur le « Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations » en ligne sur le site de la HAS¹³, et la grille développée par le consortium Agree¹⁴ (« grille Agree II »).

2.3 Recueil de la position des professionnels

2.3.1 Organismes professionnels consultés

Les professionnels sollicités sont ceux impliqués dans la réalisation ou la prescription de la détection génique de l'EBV dans le cadre d'un SLPT. Leur point de vue a été recueilli *via* leurs Conseils nationaux professionnels (CNP) ou *via* les sociétés savantes lorsque le CNP n'était pas constitué :

- le CNP d'Infectiologie (Fédération Française d'Infectiologie) (CNP-FFI) ;
- le CNP d'Hématologie (CNP-H) ;
- la Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGMTC) ;
- la Société Francophone de Transplantation (SFT) ;
- la Société Française d'Immunologie (SFI) et le Conseil National Professionnel d'Allergo-Immunologie (CNP-AI) ;
- la Société Française de Biologie Clinique (SFBC).

La SFBC n'a pas identifié de représentants souhaitant participer à ce travail.

2.3.2 Modalité de consultation

Ces organismes ont été sollicités en tant que parties prenantes au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013¹⁵, dans le cas présent comme groupes professionnels concernés en pratique par la réalisation ou la prescription de cet acte de biologie médicale. **Ils devaient à ce titre représenter et exprimer l'intérêt général de leurs membres.** Cette sollicitation a été menée conformément à la procédure de consultation des parties prenantes mise en place par la HAS¹⁶.

En pratique, le président de chacun des organismes concernés a été directement sollicité afin de désigner un ou des représentants pour contribuer à ce travail et répondre aux questions de la HAS au cours d'auditions. Les réunions ont eu lieu entre décembre 2014 et février 2015.

Les comptes rendus de ces réunions, validés par les parties prenantes, sont présentés *in extenso* en Annexe 3. Ces différents points de vue ont ensuite été synthétisés par la HAS dans la partie 3.2 de cet argumentaire.

¹³ <http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/analiterat.pdf>.

¹⁴ http://www.agreetrust.org/wp-content/uploads/2013/10/AGREE-II-Users-Manual-and-23-item-Instrument_2009_UPDATE_2013.pdf.

¹⁵ Décret n°2013-413 du 21 mai 2013. Le quatrième alinéa de ce décret dispose que : « La décision peut s'appuyer, si l'objet de l'expertise le justifie, sur la prise en compte des points de vue des « parties prenantes » (ou « parties intéressées »), c'est-à-dire des personnes ou groupes concernés ou susceptibles de l'être, directement ou indirectement, par les conséquences de cette décision, notamment des milieux associatifs et des acteurs économiques ou professionnels, ou qui représentent l'intérêt général de groupes concernés par ces conséquences ».

<http://legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027434015&categorieLien=id>

¹⁶ Procédure de consultation des parties prenantes de la HAS, juin 2014.

3. Résultats de l'évaluation

3.1 Analyse de la littérature

Douze recommandations de bonne pratique ont été sélectionnées : deux portant sur la transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; quatre recommandations générales sur la transplantation d'organes solides et six recommandations spécifiques d'un organe (trois traitant de la transplantation rénale, deux de la transplantation hépatique et une de la transplantation cardiaque).

3.1.1 Transplantation de CSH

Les deux recommandations sélectionnées portent sur la prise en charge de différentes infections, y compris EBV, dans le cadre d'une transplantation de CSH :

- la recommandation de la conférence européenne sur les infections dans le cadre de leucémies et autres cancers de sang, de 2009 (7) ;
- la recommandation conjointe de plusieurs organismes dont le Centre international pour la recherche sur la transplantation de CSH, le Groupe européen de transplantation de CSH et la Société américaine de transplantation de CSH, de 2009 (16).

La recommandation européenne (7) est plutôt de bonne qualité méthodologique. La recommandation internationale ne remplit pas tous les critères de qualité de la grille Agree II, notamment en ce qui concerne la présentation de la stratégie de recherche et de la sélection documentaire (pas de détails sur les mots clés utilisés, les sources consultées, la période couverte, ainsi que les critères de sélection des études).

Les conclusions principales de ces deux recommandations sont présentées dans le Tableau 4.

► L'utilité de la PCR EBV dans la prévention d'un SLPT

Les deux recommandations sélectionnées préconisent l'utilisation de la PCR EBV dans le suivi des patients **à haut risque** de développement d'un SLPT, afin d'anticiper sa survenue en initiant un traitement préemptif. Le niveau de preuve associé à cette préconisation est de BII (cf. Tableau 4).

Les deux recommandations identifient la déplétion du greffon en lymphocytes T, l'utilisation des anticorps anti-lymphocytes T, ainsi que la réalisation d'une greffe haplo-identique, comme facteurs majeurs de risque de survenue d'un SLPT. D'autres situations de risque sont recensées mais pas de manière uniforme : la disparité entre le donneur et le receveur vis-à-vis du statut EBV (7), transplantation de cellules du sang de cordon ombilical (16) et splénectomie (7).

Les deux recommandations n'apportent pas de précisions quant aux conditions de réalisation de la technique :

- elles soulignent qu'il est difficile de déterminer une valeur seuil commune qui témoignerait de la réactivation du virus ;
- en ce qui concerne le type d'échantillon, la seule publication qui traite de ce sujet, la recommandation de la conférence européenne (7), évoque que le sang total semble être préféré dans les centres pratiquant cette technique, sans donner de recommandations sur cet aspect, à part de ne pas réaliser le dosage dans les lymphocytes ;
- selon la seule recommandation qui traite de la fréquence et de la durée de suivi (7), le suivi devrait débuter le jour de la transplantation et continuer au moins une fois par semaine les trois premiers mois, voire plus longtemps en cas de réactivation du virus, de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD), ou chez les transplantés haplo-identiques.

► L'utilité de la PCR EBV dans le suivi thérapeutique d'un SLPT

La seule recommandation qui traite du suivi thérapeutique (7) évoque qu'une baisse de la charge virale EBV d'un log dans la première semaine du traitement pourrait être considérée comme signe

de réponse au traitement préemptif. Le suivi du traitement curatif n'est pas évoqué de manière directe, il est indiqué seulement que 4 à 8 doses de rituximab suffisent pour obtenir une amélioration clinique et faire baisser la charge virale.

► **L'utilité des tests sérologiques EBV**

Les deux recommandations préconisent l'utilisation des tests sérologiques avant la greffe chez les donneurs et les receveurs afin d'apprécier le risque de SLPT et d'orienter le suivi post-transplantation.

Seule la recommandation internationale (16) donne une précision sur le type d'anticorps recherchés : IgG anti-EBV.

Tableau 4. Transplantation CSH - Principales conclusions des publications analysées

Publication, année (référence)	Champ	PCR Information ou recommandations principales (grade associé)	Tests sérologiques Information ou recommandations principales (grade associé)	Système de gradation
European Conference on <i>Infections in Leukemia</i> , 2009 (7)	Transplantation de CSH ; Adultes et enfants	<p>La surveillance prospective de la virémie EBV par PCR quantitative est recommandée après la transplantation de CSH à haut risque¹⁷ (B II).</p> <p>Il n'est pas nécessaire d'instaurer une surveillance systématique en cas d'autogreffe ou greffe HLA identique notamment lorsqu'il n'y a pas de déplétion des lymphocytes T (D II).</p> <p>Le suivi doit être effectué au moins une fois par semaine pendant trois mois chez les patients à haut risque; il est recommandé de poursuivre le suivi en cas de GVHD, greffe haplo-identique ou d'une réactivation antérieure de l'EBV (B II).</p> <p>Le diagnostic définitif de SLPT doit être basé sur les symptômes et/ou signes compatibles avec un SLPT et sur la détection de l'EBV dans le tissu examiné par une méthode appropriée (EBER hybridation <i>in situ</i>) (A II).</p>	Les donneurs et receveurs doivent être testés avec les tests sérologiques EBV (A II) ¹⁸ .	1. Force de la recommandation : A, E – bonnes preuves pour recommander (A) ou non (E) B, D – preuves moyennes pour recommander (B) ou non (D) C –preuves insuffisantes 2. Qualité des preuves : I - au moins 1 RCT, de bonne qualité II – autres types d'études III – avis d'experts

¹⁷ Notamment en cas de déplétion des lymphocytes T (*in vitro* ou *in vivo*) et de greffes non-apparentées.

¹⁸ Les références sur lesquelles repose cette recommandation ne sont pas citées.

Publication, année (référence)	Champ	PCR Information ou recommandations principales (grade associé)	Tests sérologiques Information ou recommandations principales (grade associé)	Système de gradation
<p><i>Global perspective – Center for international Blood and Marrow Transplant research; European Blood and Marrow transplant group; American Society of Blood and Marrow Transplantation etc.</i></p> <p>2009 (16)</p>	<p>Transplantation de CSH ;</p> <p>Adultes et enfants</p>	<p>Il est important de surveiller la charge virale EBV dans le sang par la PCR chez les patients à haut risque¹⁹, afin de prévenir le développement d'un SLPT (B II).</p>	<p>Les donneurs et receveurs doivent être testés pour les anti-EBV IgG avant la transplantation afin de déterminer le risque de primo-infection EBV (A II pour les enfants ; B II pour les adultes)²⁰.</p>	<p>Idem</p>

¹⁹ En cas de, par exemple, déplétion des lymphocytes T, d'utilisation des anticorps anti-lymphocytes T, de transplantations haplo-identiques et de transplantations de cellules du sang de cordon ombilical.

²⁰ Les références sur lesquelles repose cette recommandation ne sont pas citées.

3.1.2 Transplantation d'organes solides

Les quatre recommandations de bonne pratique qui traitent de manière générale la prise en charge d'un SLPT dans le cadre d'une transplantation d'organes solides, retenues pour l'analyse critique, proviennent :

- du groupe de travail sur les infections chez les patients immunodéprimés, de la Société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses, de 2014 (10) ;
- de la Société américaine de transplantation, de 2013 (11) ;
- du groupe de travail commun de la Commission britannique sur les standards en hématologie et de la Société britannique de transplantation, de 2010 (5) ;
- d'un hôpital américain²¹, traitant spécifiquement la population pédiatrique, de 2011 (13).

La recommandation britannique (5) et la recommandation spécifique à la population pédiatrique (13) sont globalement de bonne qualité méthodologique. Cependant, elles ne précisent pas les critères de sélection des études. De plus, la recherche documentaire de la recommandation britannique (5) s'arrête en décembre 2007, alors que la publication est parue en avril 2010.

Les recommandations européenne (10) et américaine (11) ne remplissent pas tous les critères de qualité de la grille Agree :

- elles ne fournissent pas de détails sur la stratégie de recherche documentaire (mots clés utilisés, sources consultées et période couverte) ;
- elles ne précisent pas les critères de sélection des études ;
- le lien entre certaines préconisations et les preuves sur lesquelles elles reposent n'est pas explicité ;
- la recommandation américaine (11) ne décrit pas la méthode utilisée pour formuler ses préconisations, ni le système de gradation.

En ce qui concerne les six recommandations qui traitent de la greffe d'un organe en particulier, elles proviennent :

- du Comité australien pour les recommandations destinées aux patients atteints d'insuffisance rénale (KHA-CARI), de 2012 (23) ;
- de la Société britannique de néphrologie, de 2011 (24) ;
- de l'initiative internationale KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*), de 2009 (9) ;
- de la Société américaine de maladies de foie et de la Société américaine de transplantation, de 2013 pour les enfants (25), et de 2012 pour les adultes (26) ;
- de la Société internationale de transplantation thoracique, de 2010 (27).

Ces six recommandations sont globalement de bonne qualité méthodologique. Deux de ces recommandations ne fournissent cependant pas de détails sur la stratégie de recherche (26, 27), la publication traitant de la transplantation cardiaque (27) ne décrit pas non plus le système de gradation.

Les principales conclusions de ces recommandations sont présentées dans le Tableau 5. Il est à noter qu'elles reposent plutôt sur des études de faible niveau de preuve et/ou sont issues d'un consensus d'expert.

► L'utilité de la PCR EBV dans la prévention d'un SLPT

Recommandations générales

Le suivi systématique de la charge virale EBV par PCR n'est pas recommandé dans les trois recommandations traitant de la population adulte (sur la base d'études comparatives non-randomisées, séries de cas ou avis d'experts, cf. Tableau 5) (5, 10, 11). Cependant, alors que la

²¹ Cincinnati Children's Hospital.

recommandation britannique (5) s'oppose à ce suivi chez tous les patients adultes, les deux autres recommandations (10, 11) préconisent de suivre les patients à haut risque (**patients EBV séronégatifs recevant une greffe d'un donneur EBV séropositif**), aussi bien les enfants, que les adultes.

La publication spécifique à la population pédiatrique (13) recommande également le suivi, et cela chez tous les enfants (sur la base d'études de moyen à faible niveau de preuve, et avis d'experts). Ce suivi est le plus fréquent chez les greffés d'intestin et de foie (bimensuel, puis mensuel). Chez les greffés cardiaques, la PCR EBV pourrait être réalisée tous les trois mois, et chez les greffés rénaux seulement en cas de présence de symptômes. La recommandation britannique (5) reconnaît l'intérêt de ce suivi chez les enfants, notamment en cas de greffe d'intestin ou de foie.

Ces recommandations rappellent néanmoins le manque d'études contrôlées randomisées qui valideraient la stratégie préemptive combinant la mesure de la charge virale et l'initiation d'un traitement préemptif (10, 11, 13).

Ces recommandations précisent qu'il n'y a pas de consensus quant à la fréquence et la durée du suivi. Ces paramètres dépendent du risque de SLPT et varient en conséquence en fonction de l'organe transplanté. Bien que les auteurs proposent des fréquences de suivi différentes, ils sont tous d'accord que, dans le cadre de transplantations à risque, le suivi devrait en général durer un an, et être le plus intensif les trois premiers mois (mesures hebdomadaires ou bimensuelles) (10, 11, 13).

Ces recommandations n'apportent pas de précisions non plus pour les autres paramètres de réalisation du suivi :

- elles indiquent qu'il n'est pas possible d'établir de seuil universel d'intervention (permettant l'initiation du traitement préemptif) en l'état, notamment en raison de la grande variabilité des résultats entre différents centres ou de connaissances insuffisantes sur l'évolution naturelle de la charge virale EBV ; elles rappellent toutes que la charge virale EBV peut souvent être élevée après la transplantation, sans que les patients développent le SLPT, d'où l'importance du suivi de la cinétique de la charge virale (10) et de l'interprétation des résultats en conjugaison avec d'autres arguments ;
- elles évoquent également l'absence de consensus quant au meilleur échantillon. Deux publications soulignent néanmoins que le sang total semble être plus sensible que le sérum (10, 11), et la publication spécifique à la population pédiatrique (13) indique également que le sang total est utilisé dans leur centre.

Transplantation rénale

Les trois recommandations sélectionnées traitant de cette transplantation (populations adulte et pédiatrique), suggèrent la surveillance de la réplication virale afin de prévenir le développement d'un SLPT **chez les receveurs EBV- d'un donneur EBV+**. Deux recommandations ne citent pas la PCR directement²² mais font référence à des études utilisant la PCR dans l'argumentaire de leurs conclusions.

Il est à noter que les auteurs insistent sur le bas niveau de preuve, dû à la rareté des essais randomisés dans ce domaine. Ils rappellent que la mesure de la charge virale EBV n'est pas prédictive à 100 % d'un SLPT (9), ainsi que l'absence de données fiables montrant un impact clinique du suivi de la charge virale (23). De plus, les auteurs du KDIGO soulignent que leurs conclusions ne doivent pas être utilisées à des fins réglementaires (9).

Aucune de ces trois recommandations ne s'est prononcée sur le meilleur échantillon ni les valeurs de seuils d'intervention.

²² Aucune méthode de surveillance n'est précisée (24) ou les tests d'acides nucléiques sont simplement évoqués (9).

Transplantation hépatique

La Société américaine des maladies du foie et la Société américaine de transplantation dans leurs recommandations communes :

- pour la population pédiatrique, préconisent de suivre la charge virale chez les enfants à risque²³ (recommandation affectée d'un niveau de preuve 1B), afin de prévenir le développement d'un SLPT (25) ;
- pour la population adulte (26), ne font pas référence à l'utilisation de la charge virale EBV dans un but préventif.

Transplantation cardiaque

La seule recommandation de bonne pratique sélectionnée traitant de cette transplantation (27) évoque dans le texte que la surveillance de la charge virale par PCR peut aider à identifier les personnes à risque et permettre un diagnostic précoce, mais ce constat n'est pas repris dans la recommandation finale.

Cette recommandation ne se prononce pas sur le meilleur échantillon ni les valeurs de seuils d'intervention.

► L'utilité de la PCR EBV dans le suivi thérapeutique d'un SLPT

En ce qui concerne les trois recommandations générales traitant de l'adulte, la recommandation britannique (5) s'oppose au suivi de la charge virale EBV par PCR dans un but de suivi de l'efficacité du traitement d'un SLPT à cause des résultats contradictoires de certaines études. La recommandation américaine (11) souligne également les incertitudes sur l'utilité clinique de la PCR EBV dans le suivi du traitement préemptif ou curatif. La publication européenne (10) ne traite pas spécifiquement cette indication, mais indique dans le chapitre consacré au traitement préemptif que, malgré l'absence de preuves d'efficacité, beaucoup d'experts utilisent le rituximab et suivent la charge virale ensuite.

La recommandation générale spécifique à la population pédiatrique (13) rappelle l'absence de preuves à l'appui d'un suivi particulier, mais indique que la PCR EBV peut en faire partie dans certains centres.

L'utilisation de la PCR EBV dans le suivi du traitement d'un SLPT n'est évoquée dans aucune des six recommandations spécifiques (transplantation rénale, cardiaque, hépatique).

► L'utilité des tests sérologiques EBV

Les quatre recommandations générales (5, 10, 11, 13), ainsi que deux des recommandations destinées aux organes spécifiques et traitant du sujet (24, 25), préconisent l'utilisation des tests sérologiques chez les donneurs et les receveurs afin de déterminer le risque de SLPT avant la transplantation, et d'orienter le suivi post-transplantation.

Seulement deux de ces recommandations précisent les anticorps recherchés :

- anti-VCA IgG et IgM pour la recommandation spécifique aux enfants (13), basé sur avis d'experts et trois études de faible niveau de preuve ;
- anti-VCA ou anti-EBNA-1 (sans précision sur l'isotype) pour la recommandation britannique (5), basé sur avis d'experts.

Il est à noter que les auteurs de la recommandation spécifique aux enfants (13) préconisent de surveiller les taux des IgG tous les mois chez les enfants traités pour un SLPT, notamment en cas d'utilisation du rituximab ou de la chimiothérapie. Aucune autre recommandation n'évoque l'utilisation des tests sérologiques dans cette indication.

²³ Avec une fréquence élevée (hebdomadaire ou bimensuelle) pour les enfants à haut risque (D+/R-).

Tableau 5. Transplantation d'organes solides - Principales conclusions des publications analysées

Publication, année (référence)	Champ	PCR Information ou recommandations principales (grade associé)	Tests sérologiques Information ou recommandations principales (grade associé)	Système de gradation
ESCMID Study group of infection in compromised hosts, 2014 (10)	Tout type de transplantation d'organes solides Prise en charge du SLPT Adultes et enfants	La surveillance systématique de la charge virale EBV n'est pas recommandée (C III).	Le statut sérologique vis-à-vis de l'EBV devrait être déterminé chez tous les donneurs et les receveurs (A II) ²⁴ .	<u>Système de classement du Service de santé publique des Etats-Unis :</u> 1. Force de la recommandation : A, E – bonnes preuves pour recommander (A) ou non (E) B, D – preuves moyennes pour recommander (B) ou non (D) C – mauvaises preuves 2. Qualité des preuves : I - au moins 1 RCT, de bonne qualité II – autres types d'études III – avis d'experts
		Il est utile de surveiller les patients D+/R- (A II).		
		Le suivi peut être considéré chez les transplantés de poumon et intestinaux, EBV séropositifs (B III).		
		Le suivi doit être initié chez les patients asymptomatiques, EBV séropositifs, sous traitement de rejet aigu (B III).	Pour les patients EBV négatifs dont le statut sérologique était déterminé plus de 3 mois avant la transplantation, la sérologie EBV doit être répétée dans les 2 semaines après transplantation, si possible (A III).	
		Il n'y a pas de consensus quant au type de l'échantillon (C III).		
Il n'est pas possible d'émettre de recommandations générales sur la fréquence de la surveillance de la charge de l'EBV (C III). Le calendrier suivant pourrait être recommandé : toutes les 2-4 semaines les trois premiers mois, une fois/mois jusqu'à 6 mois après la transplantation, puis tous les 3 mois pour le reste de la première année (C III). Chez les receveurs EBV- de greffes EBV+, sans signes de réplication de l'EBV au cours de la première année, la recommandation est de continuer le monitoring tous les 3-6 mois jusqu'à 2-3 ans post-transplantation (C III).				

²⁴ Lorsque le statut sérologique EBV est peu fiable en raison du transfert passif d'anticorps (maternels ou intraveineux), la situation de risque plus élevée doit être supposée (A III).

Publication, année (référence)	Champ	PCR Information ou recommandations principales (grade associé)	Tests sérologiques Information ou recommandations principales (grade associé)	Système de gradation
<i>The American Society of Transplantation</i> , 2013 (11)	Tout type de transplantation d'organes solides	La surveillance de la charge virale EBV chez les patients à risque élevé (généralement les receveurs séronégatifs) dans le cadre de stratégie préventive d'un SLPT représente le meilleur usage validé de ces essais (II 2).	Le statut sérologique vis-à-vis de l'EBV devrait être déterminé avant la transplantation chez tous les donneurs et les receveurs afin d'identifier les patients à risque de SLPT ²⁵ . Les candidats séropositifs âgés de moins de 18 mois devraient être considérés séronégatifs à des fins de stratification du risque (II 2).	Pas de référence
		La fréquence optimale du suivi n'est pas connue. Un suivi hebdomadaire ou bimensuel au cours de la première année après la transplantation est recommandé (II 3).		
	Le suivi systématique des populations séropositives à faible risque n'est pas recommandé (II 3).	Les patients EBV négatifs avant la transplantation doivent être re-testés tous les ans après la transplantation, afin de déterminer le risque de primo-infection (III).		
	L'utilité clinique des tests liés à la charge virale EBV dans le suivi de la réponse au traitement, la prédiction de rechutes et pour le diagnostic de la maladie est incertaine. Les résultats obtenus dans ce contexte doivent être interprétés avec prudence, l'interprétation peut dépendre du type de l'échantillon utilisé (II 3).			
Prise en charge du SLPT	L'histopathologie reste le gold standard pour le diagnostic du SLPT (III).			
	Adultes et enfants			

²⁵ Les tests sérologiques spécifiques aux patients dans le cadre d'une transplantation ne sont pas précisés. Il est évoqué que les tests sérologiques chez les patients immuno-compétents comprennent la recherche des anti-VCA IgG et IgM ; des anti-corps EA et des anti-EBNA.

Publication, année (référence)	Champ	PCR Information ou recommandations principales (grade associé)	Tests sérologiques Information ou recommandations principales (grade associé)	Système de gradation
<i>EBV work group, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, 2011 (13)</i>	Tout type de transplantation d'organes solides (cœur, rein, foie, intestin) Prise en charge du SLPT Enfants	Il est recommandé que tous les patients soient surveillés pour signes de prolifération de lymphocytes B EBV induite ou de réactivation du virus, en mesurant la charge virale EBV par PCR quantitative, à des intervalles réguliers après la transplantation (3a, 3b, 4a, 4b, 5). La fréquence et la durée du suivi peuvent varier en fonction des facteurs de risque (y compris le type d'organe) (consensus local (5)).	Il est recommandé de doser les anti- VCA IgG et IgM chez les donneurs et les receveurs avant la transplantation afin de déterminer le risque de SLPT (3a, 4a, 4a, 5).	Niveau de preuve : 1a, 1b : revues systématiques ou méta-analyses 2a, 2b – provient du meilleur type d'étude 3a, 3b – acceptable 4a, 4b - faible 5 - avis d'experts ou études de cas * a : études de bonne qualité ; b : études de moindre qualité
		Fréquences de suivi proposées en fonction du type d'organe (consensus local (5)) : <ul style="list-style-type: none"> rein : mesure de référence, et en cas de symptômes ; cœur : mesure de référence, tous les trois mois, et en cas de symptômes ou d'élévation de la charge ; foie, intestin : toutes les deux semaines les trois premiers mois, puis une fois par mois jusqu'à un an, puis suivi annuel ou en cas de symptômes. 	Il est recommandé de surveiller tous les mois les taux d'IgG chez les patients traités pour un SLPT, notamment en cas d'utilisation du rituximab ou de la chimiothérapie (consensus local (5)).	
		Il est recommandé que la confirmation de SLPT soit basée sur la combinaison de résultats virologiques, cliniques, radiologiques et histopathologiques. Il est recommandé d'effectuer une biopsie de l'organe / site impliqué une fois les symptômes de SLPT identifiés. Il est recommandé d'effectuer l'hybridation <i>in situ</i> pour EBER sur l'échantillon de biopsie (consensus local (5)).		

Publication, année (référence)	Champ	PCR Information ou recommandations principales (grade associé)	Tests sérologiques Information ou recommandations principales (grade associé)	Système de gradation
<i>British Committee for Standards in Hematology and British Transplantation Society</i> , 2010 (5)	Tout type de transplantation d'organes solides Diagnostique du SLPT Adultes et enfants	<p>La surveillance systématique de la charge virale EBV par PCR n'est pas recommandée dans la population adulte, en dehors de la transplantation de CSH (B 3).</p> <p>Chez les enfants à risque de primo-infection à l'EBV, la surveillance est susceptible d'aider à identifier les enfants à haut risque de SLPT (B 3).</p> <p>Le suivi de la charge virale pour surveiller la réponse au traitement n'est pas recommandé (B 3).</p> <p>Un diagnostic tissulaire est nécessaire (C 4). Le diagnostic du SLPT doit se baser sur l'examen histologique des tissus tumoraux.</p>	<p>Le statut vis-à-vis de l'infection EBV doit être déterminé chez les donneurs et les receveurs par des tests sérologiques détectant les anticorps contre EBV VCA ou EBNA-1 (C 4)²⁶.</p> <p>Les patients présentant les symptômes de mononucléose infectieuse doivent être suivis pour la séroconversion anti-VCA IgM → IgG tous les mois jusqu'à l'apparition des IgG EBNA-1.</p>	<p><u>Système de classement de l'AHRQ :</u></p> <p>Force de la recommandation : A – nécessite au moins une étude contrôlée randomisée et des données cohérentes et de bonne qualité ; B – nécessite des études cliniques de bonne qualité (mais pas randomisées) ; C – avis d'expert, absence de données cliniques de bonne qualité</p> <p>Niveau de preuve : [...]; 3 – données provenant d'études comparatives non randomisées ou études de cas ; 4 – avis d'expert</p>
<i>Australia Caring for patients with renal impairment</i> , 2012 (23)	Transplantés rénaux Mise à jour et adaptation (pour l'Australie et la Nouvelle Zélande) de la recommandation du KDIGO (9) Adultes et enfants	<p>Il est suggéré de considérer le suivi des patients à haut risque (D+/R-) par PCR EBV (2 D).</p> <p>Il n'y a pas de preuves claires quant à la fréquence et la durée de la surveillance, mais il est admis que le SLPT survient dans les 2 premières années suivant la transplantation.</p> <p>Des dosages supplémentaires peuvent être appropriés après toute augmentation de la charge de l'immunosuppression (par exemple après le traitement de rejet aigu).</p> <p>Il est suggéré que la charge EBV à elle toute seule ne devrait pas être utilisée pour diagnostiquer la maladie à EBV (2 D).</p>	Hors champ	<p><u>Gradation GRADE</u></p> <p>Force de la recommandation : 1 : forte ; 2 : faible</p> <p>Niveau de preuve : A : haut ; B : moyen ; C : bas ; D : très bas</p>

²⁶ Les enfants de moins d'un an doivent être considérés comme séronégatifs, indépendamment du résultat des tests sérologiques (risque de faux positifs est dû à la présence des anticorps maternels) (C4).

Publication, année (référence)	Champ	PCR Information ou recommandations principales (grade associé)	Tests sérologiques Information ou recommandations principales (grade associé)	Système de gradation
<i>UK renal association</i> , 2011 (24)	Transplantés rénaux Suivi post-opératoire après sortie de l'hôpital Adultes et enfants	Tous les patients à haut risque (D+/R-), adultes et enfants, devraient avoir la charge virale mesurée immédiatement après la transplantation, puis une fois par mois pendant six mois, ensuite tous les trois mois jusqu'à un an (2 C). La charge virale EBV devrait être surveillée après le traitement du rejet également (2 C).	Il est suggéré/recommandé de déterminer le statut sérologique EBV chez le donneur et le receveur au moment de la transplantation (2 D).	<u>Gradation GRADE (cf. en haut)</u>
<i>KDIGO international</i> , 2009 (9)	Transplantés rénaux Soins post-transplantation rénale Adultes et enfants	Il est suggéré de suivre les patients à haut risque (D+/R-) par des tests d'acides nucléiques EBV (2 C). La fréquence proposée est : une fois la première semaine après transplantation (2 D), puis au moins une fois par mois les premiers 3-6 mois post-transplantation (2 D), ensuite tous les trois mois jusqu'à un an (2 D) et plus, si traitement du rejet (2 D).	Hors champ	<u>Gradation GRADE (cf. en haut)</u> + 'not graded'
<i>American Association for the Study of liver diseases and the AST</i> , 2013 (25)	Transplantés hépatiques Prise en charge à long terme (à partir de 3 mois post-transplantation) Enfants	La charge virale des patients EBV séronégatifs avant la transplantation devrait être mesurée tous les ans pour déterminer leur susceptibilité à une primo-infection. Les receveurs à haut risque de maladie EBV et SLPT (D+/R) doivent être suivis une fois par semaine, ou toutes les deux semaines, pendant la première année post-transplantation (1 B). Les patients présentant des symptômes typiques tels que la fièvre et une lymphoadenopathie devraient être examinés pour SLPT avec réalisation d'un examen histopathologique et de la charge virale EBV.	Il faut déterminer le statut sérologique vis-à-vis de l'EBV chez le donneur et le receveur afin d'identifier les patients à risque de SLPT (1 B).	<u>Gradation GRADE, modifié :</u> pas de niveau D

Publication, année (référence)	Champ	PCR Information ou recommandations principales (grade associé)	Tests sérologiques Information ou recommandations principales (grade associé)	Système de gradation
<i>American Association for the Study of liver diseases and the AST, 2012 (26)</i>	Transplantés hépatiques Prise en charge à long terme Adultes	Bien que l'EBV puisse être associé avec le développement du SLPT, la détection du virus dans le sang par des tests d'acides nucléiques EBV n'est pas une preuve diagnostique du SLPT, un diagnostic histopathologique est nécessaire (1 A).	Non évoqué dans le document	<u>Gradation GRADE, modifié</u> : pas de niveau D
<i>International Society of heart and lung transplantation, 2010 (27)</i>	Transplantés de cœur Prise en charge à long terme Adultes et enfants	L'évaluation initiale et la prise en charge thérapeutique du SLPT chez les transplantés cardiaques devraient être faites au centre de transplantation, par les médecins familiaux avec les tumeurs malignes associées à la transplantation (C). La surveillance en routine de l'EBV par la PCR quantitative aide à identifier les sujets à risque et permet un diagnostic précoce du SLPT lié à l'EBV (dans le texte).	Hors champ	Pas de référence

3.1.3 Conclusion de l'analyse des recommandations de bonne pratique sélectionnées

En conclusion de l'analyse de la littérature sélectionnée, l'utilisation de la PCR EBV est recommandée dans le suivi des patients transplantés de **CSH (adultes et enfants)** à haut risque de SLPT (2/2 recommandations).

En ce qui concerne le suivi des **adultes** transplantés d'**organes solides**, aucune recommandation générale ne préconise un suivi systématique, cependant deux sur trois recommandent de suivre les patients à haut risque. Les trois recommandations traitant de la greffe rénale suggèrent l'utilisation de cette technique chez les sujets à haut risque, la recommandation sur la greffe hépatique et celle sur la greffe cardiaque ne concluent pas.

En ce qui concerne le suivi des **enfants** transplantés d'**organes solides**, toutes les recommandations générales ou spécifiques à un organe, traitant de cette population, sauf celle sur la greffe cardiaque, préconisent ou suggèrent l'utilisation de cette technique chez les enfants à haut risque. La recommandation sur la greffe cardiaque quant à elle ne conclut pas.

Il est à noter que le niveau de preuve de toutes ces préconisations varie du moyen au bas (avis d'experts).

Ces recommandations précisent que le risque de SLPT dépend du type de transplantation (CSH et organe solide). Parmi les autres facteurs de risque cités, le cas de patients EBV négatifs recevant une greffe EBV positive (mismatch EBV) pour la transplantation d'organes solides, ainsi que la déplétion du greffon en cellules T, l'utilisation des anticorps anti-lymphocytes T, ou la réalisation d'une greffe haploidentique pour la transplantation de CSH, sont évoqués de manière consensuelle.

Selon ces recommandations, le but de ce suivi est l'initiation d'un traitement préemptif (déclenché notamment suite à une augmentation de la charge virale, mais avant l'apparition de signes de SLPT) mais elles ne définissent pas une charge virale seuil déclenchant le traitement. Elles soulignent également l'absence de consensus quant au calendrier du suivi, qui varie en fonction de l'organe transplanté. Bien que leurs auteurs proposent des fréquences de suivi différentes dans les recommandations traitant du sujet (tous types de transplantation confondus), ils s'accordent sur un suivi des sujets à risque plus intensif les trois premiers mois post-transplantation (mesures hebdomadaires ou bimensuelles).

Les cinq recommandations étudiant la question du meilleur échantillon (tous types de transplantation confondus) évoquent l'absence de consensus. Néanmoins, quatre recommandations indiquent que le sang total semble être préféré aux autres.

Aucune recommandation traitant de la place de la PCR dans le suivi du traitement préventif ou curatif d'un SLPT n'émet de recommandations fermes. La seule recommandation concernant la transplantation de CSH traitant du sujet évoque la possibilité d'utiliser la PCR EBV dans cette indication. En ce qui concerne la transplantation d'organes solides, sur les quatre recommandations traitant du sujet, une s'oppose à ce suivi et trois autres soulignent les incertitudes liées à l'efficacité de la stratégie préemptive, à l'utilité clinique de la PCR EBV dans le suivi du traitement ou à la meilleure modalité de suivi. Deux indiquent néanmoins la possibilité d'utiliser la PCR EBV dans cette indication.

Toutes les recommandations traitant de la sérologie (8 sur 12) préconisent son utilisation avant transplantation chez le donneur et le receveur. Cependant, seules trois sur huit donnent des précisions – partielles - sur le type d'anticorps (antigène et isotype).

3.2 Synthèse de la position des parties prenantes

Les réponses apportées aux questions de la HAS, lors des auditions, validées par chacun des représentants des parties prenantes, sont publiées *in extenso* en Annexe 3.

Ce chapitre regroupe de manière synthétique les positions des différents organismes consultés.

3.2.1 Conseil National Professionnel d'Infectiologie (CNP-FFI)

► La PCR EBV chez les patients transplantés

Selon le CNP-FFI, la PCR EBV quantitative est utilisée chez les patients transplantés afin d'anticiper le développement d'un SLPT et mettre en place un traitement préemptif le cas échéant.

Elle ne se substitue pas à l'examen de référence pour le diagnostic d'un SLPT.

Enfin, son intérêt dans le suivi du traitement d'un SLPT (préemptif ou curatif) n'est pas démontré.

Les résultats de la PCR doivent être interprétés avec précaution. Le CNP-FFI rappelle qu'il y a peu de recommandations sur l'utilisation de la PCR EBV, ou sur la prise en charge d'un SLPT, qui sont en général de faible niveau de preuve.

Selon le CNP-FFI, la PCR EBV devrait être effectuée chez les patients transplantés à risque jusqu'à 3 mois post-transplantation en général. C'est une élévation de la charge virale (cinétique anormale) et pas un dépassement de seuil d'alerte, qui mène à l'instauration d'un traitement préemptif. En conséquence, la question du meilleur échantillon n'est plus de très grande pertinence. Pour un patient donné, il est important de suivre la cinétique de la charge virale avec la même technique et sur le même type d'échantillon.

► Les tests sérologiques EBV chez les patients transplantés

Les tests sérologiques sont utilisés afin de connaître le statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV chez les patients transplantés (avant la transplantation). En France, ce sont les IgG anti VCA (Viral Capsid antigen) et des IgG anti EBNA (Epstein Barr Nuclear Antigen) qui sont recherchés.

3.2.2 Conseil National Professionnel d'Hématologie (CNP-H)

► La PCR EBV chez les patients transplantés

La PCR quantitative est effectuée après la transplantation chez les patients à risque dans deux indications :

- Suivi de la charge virale afin de prévenir le développement d'un SLPT (à partir d'un mois après la transplantation, et en général jusqu'à un an) ;
- Suivi de l'efficacité du traitement anticipé (préemptif) mis en place le cas échéant.

L'utilité du suivi de la charge virale EBV dans la prévention d'un SLPT est reconnue. On note cependant une absence de consensus quant à la fréquence du suivi, le seuil d'alerte et l'attitude thérapeutique. Selon le CNP-H c'est le dépassement d'un seuil d'alerte, ou une cinétique anormale, qui devrait conduire à la mise en place d'un traitement préemptif. Ce traitement consiste en général en une baisse de l'immunosuppression et/ou en l'administration de rituximab.

L'échantillon qui est utilisé en France pour cette mesure est le sang total.

La mesure de la charge virale peut également être utilisée pour conforter le diagnostic d'un SLPT, ou éventuellement pour suivre l'efficacité du traitement curatif, mais toujours comme examen complémentaire.

Le CNP-H rappelle la faible abondance et l'hétérogénéité des publications dans ce domaine.

► Les tests sérologiques EBV chez les patients transplantés

Les tests sérologiques (IgG et IgM) sont effectués avant la transplantation, afin de déterminer le statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV du donneur et du receveur et le risque de développement d'un SLPT qui en découle. La pratique est relativement homogène en France avec un trépied constitué par les IgG anti-VCA, les IgM anti-VCA et les IgG anti-EBNA.

3.2.3 Société française de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGMTC)²⁷

► La PCR EBV chez les patients transplantés de CSH

La PCR EBV quantitative est utilisée chez les patients transplantés de CSH dans trois indications :

- suivi de la charge virale EBV afin d'anticiper le développement d'un SLPT et mettre en place un traitement préemptif le cas échéant (hebdomadairement jusqu'à J100 après la transplantation) ;
- suivi de l'efficacité du traitement préemptif (une à deux fois par semaine) ;
- adaptation du traitement en l'absence de réponse virologique.

Il s'agit d'une technique dont la sensibilité pour prédire le développement d'un SLPT est considérée comme démontrée mais dont la valeur prédictive positive est faible.

La décision de mettre en place un traitement préemptif repose sur un faisceau d'arguments : virologiques (cinétique anormale de la charge virale et dépassement d'un seuil d'alerte), cliniques et liés aux facteurs de risque.

Le sang total serait le meilleur échantillon pour effectuer cette mesure.

Parmi les questions qui persistent, on note :

- le doute sur la pertinence de cette mesure chez les patients qui sont à faible risque de développement d'un SLPT ;
- l'absence de consensus sur la valeur de la charge virale qui représenterait le seuil d'alerte pour la mise en place d'un traitement anticipé. L'instauration d'un standard international et d'une unité de mesure en unité internationale à la place de copies/ml devrait permettre de définir un consensus²⁸ ;
- l'attente de standardisation des kits PCR et des méthodes d'extraction.

Quant à la littérature disponible, la SFGMTC confirme que les publications dans le domaine utilisant PCR en temps réel sont peu nombreuses. La stratégie préventive combinant la PCR et l'administration d'un traitement préemptif est rentrée dans les pratiques de manière empirique, sans qu'il y ait de RCT mis en place.

► Les tests sérologiques EBV chez les patients transplantés de CSH

Les tests sérologiques EBV en recherchant les anticorps dirigés contre 2 Ag viraux (IgG anti-VCA et IgG anti-EBNA) sont effectués avant la transplantation, afin de connaître le statut vis-à-vis de l'EBV du donneur et du receveur.

²⁷ La Société française de greffe de moelle et de thérapie cellulaire a publié en 2013 des recommandations sur la prise en charge de la réactivation de l'EBV et le SLPT chez l'allogreffé de CSH (28). Cette recommandation se base uniquement sur l'avis d'experts réunis par la société, dans un but de « trouver un terrain d'entente entre les centres qui le souhaitent dans les domaines où la littérature ne fournit pas de réponses incontestables et consensuelles ». La HAS prend en compte les recommandations émises comme complément de la position de cette société savante exprimée lors de l'audition.

²⁸ Selon la recommandation de 2013 (28), le seuil d'intervention est supérieur à 10⁴ copies/ml sur sang total.

3.2.4 Société Francophone de Transplantation (SFT)

► La PCR EBV chez les patients transplantés d'organes solides

La mesure de la charge virale EBV par PCR n'est pas un examen systématique chez les transplantés d'organes solides adultes. Elle est utilisée chez les patients à haut risque de SLPT pour :

- anticiper le développement d'un SLPT ;
- et éventuellement suivre le traitement anticipé mis en place le cas échéant.

La PCR EBV ne semble pas avoir de place dans le suivi d'un traitement curatif une fois le lymphome développé.

En revanche, chez les enfants transplantés d'organes solides, la mesure de la charge virale EBV par PCR est un examen indispensable. Elle est utilisée chez tous les enfants greffés pour :

- anticiper le développement d'un SLPT ;
- suivre l'efficacité de la stratégie préemptive mise en place le cas échéant ;
- et pour suivre l'efficacité du traitement curatif une fois le syndrome développé.

Pour les adultes et les enfants, le risque de SLPT dépend du statut vis-à-vis de l'EBV (patients EBV négatifs avant la transplantation étant plus à risque) et du degré d'immunosuppression (fonction de l'organe greffé²⁹ et du risque de rejet).

Les conditions de réalisation de la PCR EBV (notamment la fréquence de l'examen), l'impact sur la prise en charge et l'attitude thérapeutique face à une charge virale élevée dépendent du risque de SLPT et en conséquence varient selon le type d'organe transplanté.

Néanmoins, le sang total semble être le meilleur échantillon pour effectuer cette mesure, indépendamment du type de transplantation.

Chez les adultes, la décision thérapeutique est en général prise par une équipe pluridisciplinaire, et se base sur un faisceau d'arguments : le dépassement d'un seuil d'alerte (pas défini de manière consensuelle), une cinétique anormale de la charge virale, présence de signes cliniques et de facteurs de risque.

L'attitude thérapeutique consiste soit en une surveillance plus importante, soit en une modification de traitement immunosuppresseur ou administration d'un traitement préemptif (anticorps anti-CD20).

Chez les enfants, le seuil ou l'augmentation de la charge virale qui représente un signe d'alerte pour l'intervention préemptive, n'est pas défini de manière consensuelle non plus. La décision thérapeutique se base sur un faisceau d'arguments et consiste en une modification de traitement immunosuppresseur ou en l'administration d'un traitement préemptif (anticorps anti-CD20).

La SFT confirme l'absence de recommandations fermes dans ce domaine.

Par ailleurs, chez les patients adultes, la PCR EBV peut être utilisée pour suivre le traitement immunosuppresseur, indépendamment du suivi dans le cadre d'un SLPT.

► Les tests sérologiques EBV chez les patients transplantés d'organes solides

Les tests sérologiques sont effectués systématiquement avant la transplantation, chez le donneur et le receveur de la greffe, afin de déterminer le statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV. Chez les enfants, ce sont les anticorps IgG et IgM dirigés contre deux Ag viraux (anti-VCA et anti-EBNA) qui sont recherchés.

²⁹ Le gradient de risque décroissant de SLPT en fonction de l'organe transplanté est le suivant : intestin, cœur/poumon, foie, rein.

3.2.5 Conseil National Professionnel d'Allergo-Immunologie (CNP-AI) et Société Française d'Immunologie (SFI)

► La PCR EBV chez les patients transplantés

Selon le CNP-AI et la SFI, la PCR EBV quantitative est essentiellement utilisée chez les patients greffés de CSH à haut risque de SLPT, et ceci jusqu'à trois mois après transplantation, dans deux indications :

- suivi de la charge virale EBV afin d'anticiper le développement d'un SLPT et mettre en place un traitement préemptif le cas échéant ;
- suivi de l'efficacité du traitement préemptif.

Ce sont les receveurs de CSH non apparentés, les receveurs EBV négatifs ayant reçu la greffe d'un donneur EBV positif, ou les patients ayant reçu le sérum antilymphocytaire lors du conditionnement pré-greffe (allo ou auto), qui sont considérés à haut risque de SLPT.

En ce qui concerne les patients greffés d'organes solides, une utilisation systématique de la PCR EBV à but préemptif ne pourrait être justifiée que chez les patients à haut risque de primo-infection EBV (receveurs EBV négatifs ayant reçu la greffe d'un donneur EBV positif).

La PCR EBV ne se substitue pas à l'examen de référence pour le diagnostic d'un SLPT.

Son intérêt dans le suivi du traitement curatif d'un SLPT n'est pas démontré. Dans la pratique il n'y a pas de PCR systématique et pas de recommandation, même si un suivi systématique peut s'avérer nécessaire chez les patients à haut risque de primo-infection EBV (receveurs EBV négatifs ayant reçu la greffe d'un donneur EBV positif, ce qui est souvent le cas chez les enfants).

Quant aux caractéristiques techniques de cette mesure, les pratiques de différents centres en France restent hétérogènes, sauf pour l'échantillon utilisé qui est le sang total. On note notamment l'absence de consensus quant à la stratégie thérapeutique préemptive d'un SLPT.

► Les tests sérologiques EBV chez les patients transplantés

Les tests sérologiques (diagnostic indirect) sont utilisés afin de connaître le statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV chez le donneur et chez le receveur, les patients transplantés, avant la transplantation. La pratique est relativement homogène en France avec un dosage associant les IgG anti-VCA, les IgM anti-VCA et les IgG anti-EBNA.

3.2.6 Conclusion de la position des organismes professionnels

Au total, la position des différents organismes professionnels consultés (le CNP-FFI ; le CNP-H ; la SFGMTC ; la SFT ; le CNP-AI et la SFI) peut être synthétisée comme suit :

- En ce qui concerne l'utilité de la PCR EBV dans la prévention d'un SLPT

Toutes les parties prenantes indiquent que la PCR EBV en temps réel est utilisée après la transplantation, chez les patients à risque, afin d'anticiper le développement d'un SLPT et mettre en place un traitement préemptif le cas échéant.

Cette technique est donc essentiellement utilisée chez les patients greffés de CSH. En ce qui concerne la transplantation d'organes solides, il s'agit d'un examen plus fréquent pour la population pédiatrique, que pour les adultes.

Parmi les facteurs de risque, toutes les parties prenantes citent le risque de primo-infection EBV (en particulier la situation des patients EBV négatifs recevant la greffe d'un donneur EBV positif). De plus, dans le cadre de transplantation de CSH, l'utilisation de certains conditionnements pré-greffe ou la réalisation de greffes haplo-identiques augmentent le risque de SLPT. Pour la transplantation d'organes solides, le type de greffe et le degré d'immunosuppression représentent aussi un facteur de risque ; classiquement il est énoncé que le risque diminue dans l'ordre suivant : intestin, cœur/poumon, foie, rein. Ce risque reste moins élevé que chez les transplantés de CSH.

Les conditions de réalisation (fréquence du suivi etc.) et l'impact sur la prise en charge varient en fonction du risque de SLPT. Toutes les parties prenantes indiquent que le suivi devrait être hebdomadaire ou bimensuel les trois premiers mois dans le cadre de transplantation de CSH ou d'organes solides à risque (les enfants et les adultes transplantés d'intestin ou thoraciques). La fréquence diminue ensuite, les mesures sont effectuées lors des visites ou en cas de signe clinique.

Quatre parties prenantes indiquent que ce suivi est réalisé sur sang total. Elles sont toutes d'accord que, pour un patient donné, il est important de suivre la cinétique de la charge virale avec la même technique et sur le même type d'échantillon. Elles encouragent également l'adoption de l'unité internationale de mesure définie récemment par l'OMS pour l'expression des résultats (UI/ml).

Des parties prenantes ont rappelé que l'augmentation de la charge virale EBV n'est pas toujours suivie par l'apparition d'un SLPT, en particulier dans le cas de la transplantation d'un organe solide. Le résultat de la charge virale EBV doit donc être interprété en tenant compte des différents éléments pris en compte dans l'instauration du traitement préemptif.

Toutes les parties prenantes indiquent l'absence de consensus concernant le seuil d'alerte pour la mise en place d'un traitement préemptif (et également concernant l'attitude thérapeutique). Selon une partie prenante, c'est plus une élévation de la charge virale (ou une cinétique anormale) que le dépassement d'un seuil, qui devrait être le critère pris en compte dans l'instauration d'un traitement préemptif.

- L'utilité de la PCR EBV dans le suivi thérapeutique d'un SLPT

Quatre sur cinq parties prenantes indiquent que la PCR EBV peut être utilisée afin de suivre le traitement préemptif mis en place suite à une charge virale EBV élevée. A l'inverse, une partie prenante insiste sur le fait que l'intérêt de la PCR dans cette indication n'est pas démontré.

En ce qui concerne la place de la PCR EBV dans le suivi d'un traitement curatif de SLPT, les parties prenantes ont exprimé des positions différentes les unes des autres.

- Les tests sérologiques EBV chez les patients transplantés

Toutes les parties prenantes indiquent que les tests sérologiques sont utilisés de manière systématique avant la transplantation, chez le donneur et le receveur, afin de connaître leurs statuts immunitaires vis-à-vis de l'EBV, et d'apprécier le risque de développement d'un SLPT qui en découle. Les anticorps les plus cités sont les IgG anti-VCA et les IgG anti-EBNA, ainsi que les IgM anti-VCA.

- Remarques complémentaires

Toutes les parties prenantes rappellent que la PCR EBV ne se substitue pas à l'examen de référence (l'examen histopathologique) pour le diagnostic d'un SLPT.

Toutes les parties prenantes confirment l'absence de préconisations fermes en ce qui concerne le SLPT, et rappellent le faible niveau de preuve sur lequel reposent les recommandations.

Conclusion

Ces conclusions de la HAS sont fondées sur les douze recommandations de bonne pratique sélectionnées, ainsi que sur la position des cinq organismes professionnels interrogés. Il est à noter que ces recommandations et ces organismes ont tous signalé le faible niveau de preuve sur lesquelles s'appuient leurs préconisations et positions.

Les résultats de cette évaluation indiquent que la PCR EBV en temps réel trouve sa place dans le suivi des patients transplantés à haut risque de développer un SLPT en vue de mettre en place un traitement préemptif, puis dans le suivi de ce traitement. Dans ces deux situations, la charge virale EBV n'est qu'un des éléments à prendre en compte dans la décision thérapeutique.

Les populations les plus à risque de développer un SLPT sont notamment les transplantés de cellules souches hématopoïétiques (adultes et enfants), et les enfants transplantés d'organes solides. En ce qui concerne les adultes transplantés d'organes solides, le risque de SLPT et donc l'utilité de la PCR EBV varient en fonction de l'organe transplanté. Classiquement, il est énoncé que le risque diminue dans l'ordre suivant : intestin, thoracique, foie, rein.

De plus, indépendamment du type de transplantation, les patients à risque de primo-infection EBV (et en particulier les patients EBV négatifs recevant la greffe d'un donneur EBV positif), ainsi que les patients ayant reçu une déplétion du greffon en cellules T, des anticorps anti-lymphocytes T ou une greffe haplo-identique dans le cadre de transplantation de CSH, sont considérés à haut risque de SLPT.

En ce qui concerne les conditions de réalisation de cet examen de PCR, il ressort de cette évaluation que :

- le sang total apparaît comme le prélèvement à utiliser ;
- le résultat de cet examen doit être exprimé en unités internationales (UI/ml) ;
- dans l'attente de standardisation des différents kits, le suivi d'un patient doit être réalisé avec la même technique et dans un même laboratoire ;
- les sujets à risque sont suivis de manière intensive (mesures hebdomadaires ou bimensuelles), au moins pendant les trois premiers mois post-transplantation.

En ce qui concerne les examens de sérologie EBV, les résultats de cette évaluation indiquent qu'ils trouvent leur place avant la transplantation chez le donneur et le receveur, afin de déterminer le statut vis-à-vis de l'EBV et le risque de SLPT qui en découle.

Cette évaluation a permis de constater que les données actuelles ne permettent pas de préciser un certain nombre de points :

- la valeur seuil de la charge virale ou sa cinétique déclenchant l'introduction du traitement préemptif ;
- l'intérêt du suivi du traitement curatif par la PCR EBV ;
- le type d'anticorps (isotypes et antigènes cibles) à rechercher lors du bilan sérologique pré-greffe.

Ce travail n'avait pas pour objectif de définir la stratégie de prise en charge (préventive, préemptive, diagnostique, ni thérapeutique) du SLPT ; il a permis néanmoins de noter que :

- la PCR EBV ne se substitue pas aux examens histopathologiques permettant de poser le diagnostic d'un SLPT ;
- le virus d'Epstein-Barr n'est pas l'agent causal du SLPT ; en conséquence, l'initiation du traitement préemptif, son arrêt ou son adaptation ne se décident pas sur la seule charge virale EBV ;
- les conditions de mise en place du traitement préemptif et son contenu sont peu précis.

Comme indiqué au début de cette conclusion, les recommandations de bonne pratique analysées et les organismes professionnels ont tous signalé le faible niveau de preuve sur lesquelles

s'appuient leurs préconisations et positions. Il conviendrait donc de poursuivre ou mettre en place des études pour acquérir de nouvelles données confirmant ou infirmant l'intérêt de la PCR EBV dans les différentes situations évoquées dans ce rapport (en particulier dans le suivi des différents types de traitement).

Annexe 1. Recherche documentaire

1 - Bases de données bibliographiques

La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et/ou types d'étude les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche.

Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française

Le Tableau 6 présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données Medline. Le nombre total de références obtenues par interrogation de cette base de données bibliographiques est 36.

Tableau 6. Stratégie de recherche dans la base de données Medline

Type d'étude / sujet	Termes utilisés	Période
	Transplantation et infection par le Virus Epstein-Barr (EBV)	01/2009 – 01/2015
Etape 1	(Epstein-Barr Virus Infections OR Herpesvirus 4, Human/genetics OR Herpesvirus 4, Human/isolation and purification)/de OR (Epstein-Barr Virus Infections OR EBV Infection* OR Herpes Virus 4 OR Epstein-Barr)/ti,ab OR EBV/ti	
ET		
Etape 2	(Transplantation OR Immunosuppression)/de OR (transplantation OR transplant OR Transplantations OR SCT OR Graft OR grafts OR immunosuppress*)/ti,ab	
ET		
Etape 3	(recommendation* OR guideline* OR statement* OR consensus OR position paper)/ti OR health planning guidelines/de OR (practice guideline OR guideline OR Consensus Development Conference OR Consensus Development Conference, NIH)/pt OR (metaanalys* OR meta-analys* OR meta analysis OR systematic review* OR systematic overview* OR systematic literature review* OR systematical review* OR systematical overview* OR systematic literature review* OR systematic literature search)/ti OR meta-analysis/pt OR cochrane database syst rev/ta	
	Diagnostic par PCR d'une infection par EBV	01/2009 – 01/2015
Etape 1		
ET		
Etape 4	(DNA, Viral/blood OR Viral Load OR Viremia OR Polymerase Chain Reaction)/de OR (Viral load[title/abstract] OR (EBV DNA-emia OR EBV surveillance OR load)/ti,ab OR (quantification OR quantitative OR monitoring OR Polymerase Chain Reaction OR PCR)/ti	
ET		
Etape 3		

Diagnostic Sérologique d'une infection par EBV

01/2009 – 01/2015

Etape 1

ET

(Enzymoimmunoassay OR enzyme immunoassays OR Enzyme Immunoassays OR EIA OR Enzyme linked immunosorbent assay OR Elisa OR immunofluorescence assays OR Chemiluminescence immunoassay OR Chemiluminescent immunoassay OR serodiagnosis OR Serostatus OR EBNA OR Virus Capsid Antigen OR VCA OR Epstein Barr Nuclear Antigen OR early-antigen)/ti,ab OR serologic test*/ti OR (Immunoenzyme Techniques OR Agglutination Tests OR Fluorescent Antibody Technique OR Immunoassay OR Serologic Tests OR Epstein-Barr Virus Nuclear Antigens OR Antibodies, Viral/immunology OR Antibodies, Viral/blood OR Capsid/immunology OR Capsid Proteins/blood OR Capsid Proteins/immunology OR Immunoglobulin G/blood OR Immunoglobulin M/blood)/de OR OR (Epstein-Barr virus early antigen OR EBV-encoded nuclear antigen 1 OR Epstein-Barr viral capsid antigen OR EBV-associated membrane antigen, Epstein-Barr virus)/sc

Etape 5

ET

Etape 3

de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract ; ta : journal title ; pt : publication type ; !: explosion du terme générique ; ot : mots clés de l'auteur ; sc :concept supplémentaire

2 – Liste des sites consultés

Agence de la Biomedicine - ABM
 Bibliothèque médicale Lemanissier
 Catalogue et index des sites médicaux francophones – CISMeF
 Comité d'Evaluation et de Diffusion des Innovations Technologiques – CEDIT
 Evaluation des technologies de santé pour l'aide à la décision (Fédération hospitalière de France) – ETSAD
 Expertise collective INSERM
 Fédération française d'infectiologie – FFI
 Haute Autorité de Santé – HAS
 Institut National du Cancer- INCA
 Société française de médecine générale – SFMG
 Société française de microbiologie – SFM
 Société Francophone de Transplantation - SFT

Adelaide Health Technology Assessment – AHTA
 Agency for Healthcare Research and Quality – AHRQ
 Alberta Heritage Foundation for Medical Research – AHFMR
 Alberta Medical Association
 American College of Physicians – ACP
 American Society for Microbiology – ASM
 American Transplantation Society - ATS
 Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada – AMMI
 Australia and New Zealand Horizon Scanning Network
 Australian Safety and Efficacy Register of New Interventional Procedures – Surgical
 Blue Cross Blue Shield Association - BCBS - Technology Evaluation Center
 BMJ Clinical Evidence
 British Transplantation Society - BTS
 California Technology Assessment Forum – CTAF
 Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health – CADTH
 Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases – CACMID

Canadian College of Microbiologists – CCM
Canadian Council for Donation and Transplantation - CCDTS
Canadian Paediatric Society – CPS
Canadian Society of Microbiologists – CSM
Canadian Task Force on Preventive Health Care
Centers for Disease Control and Prevention
Centre fédéral d'expertise des soins de santé – KCE
Centre for Clinical Effectiveness – CCE
Centre for Reviews and Dissemination databases
Clinical Practice Guidelines Portal
CMA Infobase
Cochrane Library
College of Physicians and Surgeons of Alberta – CPSA
European Society of Organ Transplantation - ESOT
Euroscan
Eurotransplant
Guideline Advisory Committee – GAC
Guidelines and Protocols Advisory Committee – GPAC
Guidelines International Network – GIN
Health Services Technology Assessment Text – HSTAT
Infectious Diseases Society of America – IDSA
Institute for Clinical Evaluative Sciences – ICES
Institute for Clinical Systems Improvement – ICSI
Institut national d'excellence en santé et en services sociaux – INESSS
Institute for Health Economics Alberta – IHE
Medical Services Advisory Committee – MSAC
National Coordinating Centre for Health Technology Assessment – NCCHTA
National Guideline Clearinghouse – NGC
National Health and Medical Research Council – NHMRC
National Horizon Scanning Centre – NHSC
National Institute for Health and Clinical Excellence – NICE
New Zealand Guidelines Group – NZGG
NHS Evidence
New Zealand Health Technology Assessment – NZHTA
Ontario Health Technology Advisory Committee – OHTAC
Public Health Agency of Canada - Diseases Prevention and Control Guidelines
Scottish Intercollegiate Guidelines Network – SIGN
Singapore Ministry of Health
Société Belge de Transplantation
The Transplantation Society – TTS
Transplantation Society of Australia and New Zealand - TSANZ
Tripdatabase
UK Transplant
U.S. Preventive Services Task Force
Veterans affairs, Dep. Of Defense Clinical practice guidelines
West Midlands Health Technology Assessment Collaboration – WMHTA
World Health Organization Infectious diseases

3 - Veille

En complément, une veille a été réalisée sur les sites internet énumérés ci-dessus et sur Medline jusqu'à juillet 2015. Deux documents supplémentaires ont ainsi été identifiés.

Annexe 2. Liste des tableaux

Tableau 1. Libellés des tests sérologiques EBV identifiés dans la NABM.....	11
Tableau 2. Libellés des tests sérologiques EBV identifiés dans les nomenclatures étrangères	12
Tableau 3. Stratégie de recherche bibliographique.....	13
Tableau 4. Transplantation CSH - Principales conclusions des publications analysées	18
Tableau 5. Transplantation d'organes solides - Principales conclusions des publications analysées	23
Tableau 6. Stratégie de recherche dans la base de données Medline	38

Annexe 3. Comptes rendus des auditions de parties prenantes

N.B. L'objectif de ces auditions était de recueillir la position des parties prenantes en ce qui concerne l'utilisation des tests relatifs au virus d'Epstein-Barr dans le cadre d'un SLPT, mais également de déterminer quelles sont les autres situations cliniques où il y a recours à ces tests.

Audition du **Conseil National Professionnel d'Infectiologie (CNP-FFI)**

Représenté par Pr Jean-Paul STAHL

17 décembre 2014

L'objectif de cette audition était de déterminer les situations en infectiologie où il y a recours à des tests relatifs au virus d'Epstein-Barr.

1. Les situations d'immunodéficience où les infectiologues peuvent rencontrer des lymphoproliférations et être amenés à détecter et/ou quantifier le virus d'Epstein-Barr (EBV)

Examens prescrits ou réalisés par le laboratoire dans le cadre de ces immunodéficiences.

Le CNP-FFI rappelle que les seuls examens utilisés en routine pour la détection et la quantification du virus d'EBV sont la Real-time PCR et les tests sérologiques.

- Le CNP-FFI souligne que la recherche du virus d'Epstein Barr a essentiellement de l'intérêt chez les patients transplantés. Les différentes indications sont détaillées dans la réponse à la deuxième question.
- Chez les patients atteints du VIH, bien que la majorité de lymphoproliférations soit liée à l'EBV, la mesure de la charge virale EBV par PCR ne fait pas partie des examens préconisés. Même si cet examen pourrait aider à identifier les patients à risque de développement de lymphomes, son utilité n'est pas démontrée, notamment faute de thérapie préemptive.
- En revanche, les tests sérologiques EBV sont quant à eux effectués lors des bilans programmés des patients VIH.
- Selon le CNP-FFI il semble que la place de la PCR EBV dans d'autres situations d'immunodéficience est loin d'être définie.

2. L'utilité clinique de la mesure de la charge virale EBV par PCR, place et impact sur la prise en charge

- La PCR quantitative EBV est utilisée après la transplantation, dans un but préemptif. Son utilité varie selon l'organe greffé, du fait d'un risque différent de développement de lymphoproliférations. Il est à noter que ce risque est temporaire, les lymphoproliférations dues à l'EBV se développent en général jusqu'à deux ans après la transplantation. Les lymphoproliférations tardives sont plutôt EBV négatives.

Cependant, des difficultés persistent dans l'interprétation des résultats de la PCR. La valeur de la charge virale qui serait associée à un risque de SLPT (seuil d'alerte) n'est pas déterminée à ce jour. De plus, il n'y a pas de confirmation que la charge virale EBV à elle seule est prédictive du développement d'un SLPT. Il est important de faire un suivi continu de la charge virale.

Cette mesure est effectuée chez les patients transplantés à risque (patients séronégatifs pour EBV ayant reçu la greffe d'un donneur EBV positif), toutes les semaines ou 15 jours, jusqu'à 3 mois post-transplantation en général. Une élévation de la charge virale (cinétique anormale) qui persiste au moins un mois et la présence des facteurs de risque mènent à l'instauration d'un traitement préemptif. Il n'y a pas de recommandations fortes quant au traitement préemp-

tif, mais il consiste en général en administration de rituximab ou ganciclovir, ou en baisse de l'immunosuppression si possible.

- La PCR EBV peut éventuellement servir à confirmer le diagnostic d'un SLPT dans la phase aiguë des symptômes, comme examen complémentaire.
- La place de la PCR EBV dans le suivi du traitement préemptif ou curatif d'un SLPT n'est pas très bien définie, notamment du fait de l'absence de consensus sur la stratégie thérapeutique.

3. L'utilité clinique des tests sérologiques EBV, place et impact sur la prise en charge

Les tests sérologiques EBV chez les patients transplantés sont effectués avant la transplantation, afin de connaître le statut vis-à-vis de l'EBV du donneur et du receveur. En France, ce sont les IgG anti-VCA (Viral Capsid antigen) et des IgG anti-EBNA (Epstein Barr Nuclear Antigen) qui sont recherchés. Les deux résultats positifs témoignent d'une infection ancienne (situation la plus fréquente chez l'adulte). En cas d'IgG VCA positif isolé il peut s'agir d'une infection ancienne (5 à 10 % de sujets normaux ne développent pas d'EBNA), mais il est nécessaire de doser les IgM VCA pour éliminer une infection récente, surtout chez les sujets jeunes.

Chez les patients VIH, les tests sérologiques sont effectués lors des bilans programmés.

4. Standardisation de la mesure de la charge virale EBV par PCR

Le CNP-FFI rappelle l'absence de seuil d'alerte clairement défini à ce jour, et l'importance du suivi de la cinétique de la charge virale. Ce suivi, pour un patient donné, doit toujours être effectué avec la même technique et le même échantillon. En conséquence, la question du meilleur échantillon n'est plus de très grande pertinence.

5. Littérature

Il y a peu de recommandations sur l'utilisation de la PCR EBV, ou sur la prise en charge d'un SLPT, avec un faible niveau de preuve.

6. Autres points abordés

- La mesure de la charge virale EBV par PCR avant la transplantation.
Cette mesure n'est pas faite en pratique, mais pourrait être intéressante, afin de connaître le niveau de base des patients à risque.
- L'intérêt de la PCR EBV chez les patients immunocompétents.
La mesure de la charge virale EBV par PCR est utilisée chez les patients immunocompétents comme aide au diagnostic d'une infection aiguë à EBV (encéphalite, hépatite grave), en complément du diagnostic clinique. Il est à noter qu'il s'agit d'une seule mesure de la charge virale et pas de mesures continues comme chez les patients immunodéprimés. Ces infections sont prises en charge dans un cadre hospitalier.

Selon le CNP-FFI, la PCR EBV n'est pas utilisée chez les patients immunocompétents atteints de lymphomes dus à l'EBV.

Audition du **Conseil National Professionnel d'Hématologie (CNP-H)**

représenté par Dr Sylvain CHOQUET

17 décembre 2014

L'objectif de cette audition était de déterminer les situations en hématologie où il y a recours à des tests relatifs au virus d'Epstein-Barr.

1. Situations cliniques où l'on peut rencontrer des lymphoproliférations et être amenés à détecter et/ou quantifier le virus d'Epstein-Barr (EBV)

Examens prescrits ou réalisés par le laboratoire dans le cadre de ces situations.

Le CNP-H confirme que les examens relatifs à la détection ou à la quantification du virus EBV utilisés par les laboratoires sont les tests sérologiques et la PCR quantitative.

- En ce qui concerne les patients immunodéprimés, la PCR EBV est essentiellement utilisée chez les patients transplantés, et ceci dans plusieurs indications (voir point 2). En revanche, chez les patients atteints du VIH, l'intérêt du suivi de la charge virale EBV par PCR avant l'apparition d'une lymphoprolifération n'est pas démontré.

La PCR EBV est utilisée chez les patients atteints du Syndrome de Purtilo. Néanmoins, ce syndrome représente une affection très rare dont la prise en charge est réalisée dans un cadre strictement hospitalier.

Enfin, le CNP-H ne recommande pas une surveillance systématique de la charge virale EBV par PCR chez les patients sous traitements immunosuppresseurs en dehors du contexte de la transplantation, du fait de très faible risque de lymphoproliférations chez ces patients.

Quant aux patients immunocompétents, la PCR EBV peut être intéressante pour suivre l'efficacité du traitement et anticiper la rechute chez les patients atteints d'un lymphome T/NK, dans le cadre de lymphomes de sujets âgés, ou bien chez les patients atteints d'un lymphome T angio-immunoblastique etc. Ces indications restent néanmoins très rares, et il est difficile d'établir des recommandations probantes.

La PCR EBV est utilisée dans le bilan étiologique du Syndrome d'activation macrophagique (chez les patients immunocompétents et immunodéprimés). Ce syndrome représente néanmoins une affection très rare.

- Les tests sérologiques sont utilisés chez les patients transplantés afin de déterminer le statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV.

2. L'utilité clinique de la mesure de la charge virale EBV par PCR dans les situations évoquées dans le point 1, place et impact sur la prise en charge

La PCR EBV est essentiellement utilisée chez les patients transplantés, dans le cadre du suivi post-transplantation :

- La mesure de la charge virale EBV est utilisée afin d'anticiper le développement d'un SLPT et suivre le traitement préemptif mis en place le cas échéant.

Le risque de développer un SLPT dépend du type d'organe transplanté, et du risque de primo-infection EBV. Ce sont les transplantés de cellules souches hématopoïétiques greffés avec un greffon mismatch ou haplo-identique, ainsi que les transplantés digestifs ou thoraciques qui présentent le plus de risque de développement d'un SLPT. De même, les patients EBV négatifs qui reçoivent une greffe d'un donneur EBV positif encourent un grand risque de développement d'un SLPT.

L'utilité du suivi de la charge virale EBV dans la prévention d'un SLPT est reconnue. Il est considéré que l'augmentation de la charge virale EBV précède près de 100% des SLPT chez les transplantés de cellules souches hématopoïétiques, et environ 50% des SLPT chez les trans-

plantés d'organes solides. On note cependant une absence de consensus quant à la fréquence du suivi, le seuil d'alerte et l'attitude thérapeutique :

- ▶ Selon le CNP-H, la charge virale devrait être mesurée de manière systématique à chaque consultation de suivi dans le cadre de transplantations à risque, à partir d'un mois après la transplantation, et cela, jusqu'à un an, voire deux ans de post-transplantation dans certaines situations³⁰. En plus de ces prélèvements systématiques, il est conseillé d'en faire un en cas de doute : fièvre inexplicable, perte de poids, adénopathies, altération de l'état général.
 - ▶ C'est le dépassement d'un seuil d'alerte, ou une cinétique anormale, qui devrait conduire à la mise en place d'un traitement préemptif.
 - ▶ En général, le traitement consiste en une baisse de l'immunosuppression et/ou en administration de rituximab.
- La mesure de la charge virale peut également être utilisée pour conforter le diagnostic d'un SLPT, ou pour suivre l'efficacité du traitement curatif, mais toujours comme examen complémentaire. L'examen anatomopathologique reste l'examen de référence dans ces indications.

3. L'utilité clinique des tests sérologiques EBV dans les situations évoquées dans le point 1, place et impact sur la prise en charge

Les tests sérologiques (diagnostic indirect) sont effectués systématiquement avant la transplantation, afin de déterminer le statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV. La pratique est relativement homogène en France avec un trépied constitué par les IgG anti-VCA, les IgM anti-VCA et les IgG anti-EBNA. L'utilisation conjointe de ces trois marqueurs est suffisante pour la majorité des diagnostics, permettant de distinguer la primo-infection (\pm , +, -) d'une infection ancienne (+, -, +). C'est bien sûr la biologie moléculaire (diagnostic direct) qui permet ensuite de suivre l'infection, en particulier en situation d'immunodépression.

D'autres marqueurs peuvent parfois être utilisés : anticorps IgG anti-EA (intéressants pour le diagnostic des tumeurs associés à l'EBV (Burkitt, NPC)), ou anticorps IgM anti-EBNA. Il s'agit d'une utilisation plus confidentielle. Il faut bien sûr savoir que, selon les fabricants de trousse diagnostiques, la technique de détection (ELISA ou immunofluorescence) et la nature des cibles antigéniques (protéines recombinantes, cellules infectées, peptides...) de ces anticorps peuvent varier mais la plupart des techniques utilisées en France sont validées pour leurs capacités diagnostiques par les laboratoires de virologie médicale experts au moment de leur commercialisation.

4. Standardisation de la mesure de la charge virale EBV par PCR

Les aspects techniques de cette mesure sont en voie de standardisation en France : la technique utilisée est la Real-Time PCR, et l'échantillon habituel est le sang total. Tous les laboratoires devraient accepter d'exprimer les résultats en UI/ml selon les travaux de l'OMS, ce qui contribuerait davantage à la standardisation de cette mesure.

Le CNP-H rappelle qu'en revanche il n'y a toujours pas de consensus quant à la fréquence de la mesure, le seuil d'alerte et l'attitude thérapeutique.

5. Littérature disponible

L'absence de consensus dans ce domaine est en une partie expliquée par la faible abondance de publications et leur hétérogénéité. Il est à noter qu'il s'agit de situations rares, et que des effectifs pertinents sont difficiles à constituer.

³⁰ Les SLPT tardifs (>2 ans) ne sont pas dus à l'EBV.

6. Autres points abordés

- La mesure de la charge virale EBV par PCR avant la transplantation
La mesure de la charge virale avant la transplantation, afin de connaître le niveau de base, n'a pas d'intérêt.
- Traitement antiviral d'un SLPT
Le traitement antiviral curatif n'a pas démontré son efficacité. Les données sur son utilisation à but préventif sont contradictoires.
- Prévalence des SLPT en France
La prévalence des SLPT en France serait de 100 cas/an, tous types de transplantation confondus, dont la moitié serait due à l'EBV. Il est à noter que le taux de SLPT dus à l'EBV dépend du type de greffe, et considéré être le plus important chez les patients transplantés de CSH (100 %).
Il est estimé que la prévalence de SLPT parmi les patients transplantés varie de 1 à 10 %.

Audition de la **Société française de Greffe de Moelle et de Thérapie cellulaire (SFGMTC)** – représentée par Dr Jérôme LE GOFF

14 janvier 2015

L'objectif de cette audition était de déterminer les situations où il y a recours à des tests relatifs au virus d'Epstein-Barr dans le cadre d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques.

1. Examens relatifs à la détection et/ou à la quantification du virus d'Epstein-Barr prescrits ou réalisés par le laboratoire dans le cadre d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques (CSH)

La SFGMTC indique que les examens utilisés en routine sont la PCR quantitative en temps réel et les tests sérologiques.

2. L'utilité clinique de la mesure de la charge virale EBV par PCR chez les patients transplantés de CSH, place et impact sur la prise en charge

- La PCR EBV est utilisée chez les patients transplantés CSH afin de prévenir le développement d'un SLPT. Il est à noter qu'il s'agit d'un test dont la sensibilité pour prédire le développement d'un SLPT est considérée comme démontrée, mais qui n'est pourtant pas spécifique.

La mesure de la charge virale par PCR est effectuée hebdomadairement jusqu'à J100 après la transplantation. Passé ce délai³¹, le risque de développer un SLPT diminue, et les mesures sont alors effectuées que lors des consultations de contrôle. Ce risque devient très faible 1 an après la transplantation.

Un traitement anticipé peut être mis en place face à une charge virale élevée. Plus précisément, la décision de sa mise en place repose sur un faisceau d'arguments : virologiques (cinétique anormale de la charge virale et dépassement d'un seuil d'alerte), cliniques et liés aux facteurs de risque. Il est à noter qu'il n'y a pas à présent de consensus sur la valeur de la charge virale qui représenterait le seuil d'alerte.

Le traitement anticipé consiste en une baisse de l'immunosuppression (si possible³²) ou en l'administration de rituximab³³. Le rituximab devrait néanmoins être utilisé avec précaution, une étude de 2012 de l'hôpital Saint Louis ayant mis en évidence ses effets indésirables (notamment le risque infectieux) chez les patients transplantés de CSH.

Le suivi de la charge virale EBV par PCR est en général effectué chez tous les patients transplantés de CSH, mais la question de sa pertinence chez les patients qui sont à faible risque de développement d'un SLPT pourrait se poser. Parmi les facteurs de risque on identifie le mismatch vis-à-vis du statut EBV, les transplantés haploidentiques ou encore des certains conditionnements pré-greffe.

Il n'est pas nécessaire d'instaurer de surveillance systématique en cas de greffe génodentique notamment lorsque il n'existe pas de T déplétion qu'elle soit *in vitro* ou *in vivo* (sérum antilymphocytaire par exemple).

Selon la SFGMTC, les enfants transplantés de CSH encourent le même risque de SLPT que les adultes, et la stratégie préventive est la même.

³¹ Qui correspond à la reconstitution du système immunitaire.

³² La baisse de l'immunosuppression n'est pas recommandée chez les patients à risque de réaction GVH.

³³ Il s'agit d'un anticorps monoclonal anti-CD20, ciblant les lymphocytes B (lymphocytes à l'origine du SLPT).

- Si un traitement anticipé est mis en place suite à une charge virale élevée, la PCR EBV est utilisée pour le suivi de son efficacité. Les dosages sont effectués une à deux fois par semaine, et c'est en général une baisse d'au moins 0.5 log qui reflète l'efficacité du traitement.
- L'intérêt du suivi de la charge virale EBV lors de la prise en charge d'un SLPT est d'adapter le traitement. En l'absence de réponse à l'arrêt de l'immunosuppression ou d'un traitement anti lymphocyte B (Anti-Cd20, Mabthera®), l'adjonction d'une chimiothérapie sera discutée. Le suivi de la charge virale EBV est donc nécessaire pour anticiper les risques de SLPT, mais aussi pour leur prise en charge lorsqu'un diagnostic est établi.

3. L'utilité clinique des tests sérologiques EBV, place et impact sur la prise en charge

Les tests sérologiques EBV recherchant des anticorps dirigés contre deux Ag viraux (IgG anti-VCA et IgG anti-EBNA) sont effectués avant la transplantation, afin de connaître le statut vis-à-vis de l'EBV du donneur et du receveur. Il n'y a pas d'intérêt à effectuer les tests sérologiques dans le cadre du suivi de patients après la transplantation, en vue du dépistage d'un SLPT.

4. Standardisation de la mesure de la charge virale EBV par PCR

- La SFGMTC rappelle qu'il n'y a pas de consensus sur la valeur de la charge virale qui représenterait le seuil d'alerte pour l'intervention thérapeutique.
- Le sang total serait le meilleur échantillon pour anticiper la survenue d'un SLPT. La mesure dans le plasma est plus spécifique, mais moins sensible. Le SLPT n'est pas considéré comme un phénomène de réplication virale, mais de prolifération de cellules qui contiennent le virus, d'où l'intérêt de l'utilisation du sang total.
- L'adoption de l'unité internationale de mesure définie récemment par l'OMS permettrait la comparaison des résultats de laboratoires différents sur les valeurs absolues. Pour l'instant, les résultats sont exprimés en copies/ml, ce qui impose que le suivi de la charge virale soit effectué toujours dans le même laboratoire.
- Afin que la technique soit complètement standardisée il faudrait également standardiser les kits PCR, ainsi que les méthodes d'extraction sur le sang total.

5. Littérature

Comme il s'agit d'évènements rares, les publications dans le domaine sont peu nombreuses. De plus, il y a très peu de publications utilisant la PCR EBV en temps réel.

La stratégie préventive combinant la PCR et l'administration d'un traitement préemptif est rentrée dans les pratiques de manière empirique, sans qu'il y ait de RCT mis en place.

6. Autres points abordés

- Mesure de la charge virale EBV par PCR avant la transplantation
Cette mesure n'a pas d'intérêt, sauf pour éventuellement détecter une primo-infection.
- Le risque de développement d'un SLPT en fonction du type de transplantation
Ce sont les transplantés de CSH qui sont à plus haut risque de développement d'un SLPT. Parmi les transplantés d'organes solides, les transplantés thoraciques ont un risque beaucoup plus élevé que les transplantés rénaux. Ce risque dépend notamment du degré de l'immunosuppression utilisée.
- Le suivi de la charge virale EBV chez les patients atteints du VIH

Effectuer cette mesure en vue de prévenir le développement d'un lymphome n'a pas d'intérêt chez ces patients. Ces patients ont souvent une charge virale EBV élevée, sans jamais développer de lymphome.

Par contre, la PCR EBV est utile chez ces patients comme aide au diagnostic du lymphome, notamment du lymphome cérébral. La PCR qualitative peut être utilisée dans cette indication.

- Mesure de la charge virale EBV chez les patients atteints du carcinome de rhinopharynx

La PCR EBV peut être utilisée dans cette indication afin de suivre l'efficacité du traitement, et de permettre son ajustement. En ce qui concerne les échantillons, le sérum ou le plasma semblent être meilleurs que le sang total.

Audition de la **Société Francophone de Transplantation (SFT)**
représentée par Docteur Eric EPAILLY (Collège « Foie, intestin, cœur, poumon »), Pro-
fesseur Jacques DANTAL (Collège « Rein, pancréas ») et Docteur Filoména CONTI
(Collège « Tissus, cellules, immunologistes, biologistes, chercheurs »)

16 janvier 2015

L'objectif de cette audition était de déterminer les situations où il y a recours à des tests relatifs au virus d'Epstein-Barr dans le cadre d'une transplantation d'organes solides.

1. Examens relatifs à la détection et/ou à la quantification du virus d'Epstein-Barr prescrits ou réalisés par le laboratoire dans le cadre d'une transplantation d'organes solides

La SFT indique que, chez les transplantés d'organes solides, les examens utilisés en routine sont PCR en temps réel et les tests sérologiques.

2. L'utilité clinique de la mesure de la charge virale EBV par PCR chez les transplantés d'organes solides, place et impact sur la prise en charge

- Il est à noter que la mesure de la charge virale EBV par PCR n'est pas un examen systématique chez les transplantés d'organes solides adultes. Le SLPT représente une complication rare, et son incidence a diminué ces dernières années avec les changements thérapeutiques dans le domaine de transplantation (nouveaux immunosuppresseurs aux doses plus faibles, mise en place de la prophylaxie anti-CMV³⁴ etc.).
- En ce qui concerne les transplantés adultes, l'utilisation de la PCR EBV en vue d'anticiper le développement d'un SLPT n'est en effet conseillée après la transplantation que chez les patients à haut risque (EBV négatifs avant la transplantation).

Le risque de SLPT varie également en fonction du type d'organe transplanté, étant le plus élevé chez les transplantés intestinaux et du poumon, suivi par les greffés cardiaques et hépatiques. Le risque est le moindre chez les transplantés rénaux. En conséquence, l'importance de cet examen varie selon le type d'organe transplanté. De plus, la SFT souligne que chez les transplantés rénaux l'intensité et la durée de l'augmentation de la charge virale EBV n'est pas complètement prédictive d'un SLPT.

Il est à noter que la prévalence de SLPT est supérieure chez les enfants, quel que soit l'organe transplanté.

L'importance de cet examen diminue dans le temps, les SLPT tardifs (7-10 ans post transplantation) sont significativement moins liés à l'infection EBV.

Les conditions de réalisation, l'impact sur la prise en charge et l'attitude thérapeutique face à une charge virale élevée dépendent du risque de SLPT et varient également selon le type d'organe transplanté.

Le seuil d'intervention est difficile à définir. La décision thérapeutique est en général prise par une équipe pluridisciplinaire, et se base sur un faisceau d'arguments : le dépassement d'un seuil d'alerte, une cinétique anormale de la charge virale, présence de signes cliniques et de facteurs de risque.

Une charge virale élevée peut mener soit à une surveillance plus importante, soit à une modification de traitement immunosuppresseur ou administration d'un traitement préemptif (anticorps anti-CD20). En revanche, l'administration d'un traitement préventif antiviral, sur la base d'une charge virale élevée, ne fait pas partie des pratiques, quel que soit le type de transplantation.

³⁴ L'infection à CMV est considérée comme un des facteurs de risque de développement de SLPT.

- Si un traitement anticipé d'un SLPT est mis en place, la PCR EBV serait utilisé pour le suivi de ce traitement. La mesure est alors effectuée au moins une fois par mois.
- La PCR EBV ne semble pas avoir de place dans le suivi d'un traitement curatif une fois le lymphome développé.
- Chez les patients transplantés adultes, la PCR EBV peut être aussi utilisée pour suivre et ajuster le traitement immunosuppresseur.

3. L'utilité clinique des tests sérologiques EBV chez les transplantés d'organes solides, place et impact sur la prise en charge

La SFT indique que les tests sérologiques sont effectués systématiquement avant la transplantation, chez le donneur et le receveur de la greffe, afin de déterminer le statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV.

4. Standardisation de la mesure de la charge virale EBV

La SFT n'a pas entrepris de travaux de standardisation de la mesure de la charge virale EBV par PCR, ni de la prise en charge précoce d'un SLPT chez les transplantés adultes.

Dans la pratique, on note une absence de consensus quant au seuil d'intervention et à la fréquence du suivi parmi les différents types de transplantation, cependant les pratiques concernant un organe donné semblent être convergentes.

Le meilleur échantillon pour effectuer la mesure est le sang total, indépendamment du type d'organe transplanté.

5. Littérature

La SFT confirme l'absence de recommandations fermes dans ce domaine. Les données disponibles reposent sur des faibles effectifs car le SLPT reste une complication rare chez les transplantés adultes.

6. Autres points abordés

- La mesure de la charge virale EBV par PCR avant la transplantation chez les patients transplantés d'organes solides

Cette mesure est faite avant la transplantation de manière exceptionnelle, quand il s'agit d'une re-transplantation chez des patients qui ont fait un lymphome sur leur première greffe.

- Exemples de fréquence de suivi de la charge virale EBV chez les patients transplantés d'organes solides :
 - Il semblerait que, chez les patients transplantés adultes du poumon, on effectue cette mesure tous les 15 jours les trois premiers mois post-transplantation ;
 - Chez les transplantés cardiaques l'examen est systématique chez les enfants. Pour les transplantés adultes, la fréquence varie selon les centres. Le fait d'effectuer cet examen conjointement avec la PCR CMV augmente son fréquence ;
 - Chez les transplantés adultes du foie l'examen n'est pas systématique, mais effectué en présence de signes cliniques, et lors du bilan à 1 an, 5 et 10 ans. La fréquence est plus importante chez les enfants et chez les adultes à risque (au moins une mesure par mois dans la première année post-greffe) ;
 - Chez les transplantés rénaux adultes, l'examen est effectué lors du bilan à 3 mois et à 1 an. Comme chez les transplantés hépatiques, la fréquence est plus importante chez les enfants et chez les adultes à risque.

Complément de l'audition de la **Société Francophone de Transplantation (SFT)**
représentée par Docteur Dominique DEBRAY (**Commission pédiatrie**)

18 septembre 2015

L'objectif de cette audition était de déterminer la position de la SFT quant aux situations où il y a recours à des tests relatifs au virus d'Epstein-Barr dans le cadre d'une transplantation d'organes solides dans la population pédiatrique.

1. L'utilité clinique de la mesure de la charge virale EBV par PCR chez les enfants transplantés d'organes solides, place et impact sur la prise en charge

La mesure de la charge virale EBV par PCR quantitative est un examen indispensable dans le suivi des enfants transplantés d'organes solides. Elle est utilisée :

- afin de prévenir le développement d'un SLPT (en adaptant l'immunosuppression et/ou en introduisant un traitement préemptif) ;
- dans le suivi du traitement préemptif ;
- dans le suivi du traitement curatif d'un SLPT.

La primo-infection EBV et le degré d'immunosuppression représentent les principaux facteurs de risque de SLPT. Pour cette raison, les enfants EBV négatifs recevant une greffe d'un donneur EBV positif (en général adulte) sont le plus à risque de SLPT³⁵. De même, le risque de SLPT varie en fonction du type d'organe transplanté et du traitement immunosuppresseur, étant le plus élevé chez les transplantés intestinaux³⁶.

Chez les enfants EBV négatifs avant la greffe, la primo-infection se fait en général dans le premier mois suivant la transplantation et la majorité des SLPT se développe dans les six premiers mois. Pour les transplantés hépatiques, le suivi de la charge virale EBV commence en général une semaine après la greffe, et est effectué une fois par semaine le premier mois post-transplantation (période d'hospitalisation), ensuite tous les quinze jours jusqu'à trois mois, et puis une fois par mois jusqu'à six mois. La fréquence de l'examen devient moins importante dans la suite du suivi (tous les trois mois jusqu'à un an, puis une fois par an).

Les enfants EBV positifs avant la greffe sont à risque de réactivation du virus, mais à un moindre risque de SLPT précoces. Ils sont également surveillés par la PCR EBV, mais avec une fréquence moins importante. Chez ces enfants, le SLPT survient habituellement de manière plus tardive.

L'attitude thérapeutique face à une charge virale élevée varie selon le type d'organe transplanté. Dans la transplantation hépatique, la stratégie préemptive consiste en général en une baisse de l'immunosuppression uniquement. Les anticorps anti-CD20 (Mabthera®) ne sont introduits qu'une fois le SLPT confirmé. En revanche, pour les autres types de transplantation (intestin/poumon/cœur/rein), on peut avoir recours aux anticorps anti-CD20 plus précocement et ils font partie du traitement préemptif.

Il n'y a pas à présent de consensus sur la meilleure stratégie préemptive.

Le seuil, ou la cinétique, d'intervention préemptive est difficile à définir. L'augmentation de la charge virale d'un log représente classiquement un signe d'alerte. Il est à noter que la décision thérapeutique se base sur un faisceau d'arguments (virologiques, cliniques (comme l'hypertrophie amygdalienne par exemple) ou biologiques (par exemple LDH, acide urique)), car la charge virale EBV n'est pas le seul marqueur prédictif d'un SLPT. De plus, les patients peuvent avoir une charge virale élevée sans jamais développer de SLPT.

³⁵ Cette situation est rencontrée dans environ 70 % de transplantations hépatiques.

³⁶ La quantité du tissu lymphoïde est également la plus importante dans cet organe.

Quel que soit le traitement - préemptif ou thérapeutique - adopté, la PCR EBV est également utilisée afin de suivre l'efficacité de ce traitement.

Par ailleurs, le sang total semble être le meilleur échantillon pour effectuer cette mesure.

2. L'utilité clinique des tests sérologiques EBV chez les enfants transplantés d'organes solides, place et impact sur la prise en charge

La SFT indique que les tests sérologiques recherchant des anticorps IgG et IgM dirigés contre deux Ag viraux (anti-VCA et anti-EBNA) sont effectués avant la transplantation, chez le donneur et le receveur de la greffe, afin de déterminer le statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV.

Ces tests sérologiques ont peu d'intérêt pour le diagnostic de primo-infection (du fait de l'effet du traitement immunosuppresseur sur la production de ces anticorps et la présence des anticorps apportés par les transfusions), mais le suivi à distance de l'apparition d'anticorps anti-EBNA pourrait indiquer un moindre risque de SLPT.

3. Littérature

La SFT confirme l'absence de recommandations récentes et précises sur ce point des examens biologiques liés à l'EBV.

4. Autres points abordés

- Prévalence de SLPT
L'incidence de SLPT a diminué de 15 % à 5 % ces dernières années avec les changements thérapeutiques dans le domaine de la transplantation (nouveaux immunosuppresseurs, marges thérapeutiques plus faibles).
- Diagnostic d'un SLPT
L'examen histopathologique est l'examen de référence pour poser le diagnostic d'un SLPT.
- La mesure de la charge virale EBV par PCR avant la transplantation chez les enfants transplantés d'organes solides

Dans le cas exceptionnel de transplantation chez les nourrissons, c'est la PCR EBV, et pas les tests sérologiques, qui est utilisée pour déterminer le statut vis-à-vis de l'EBV, du fait de la présence des anticorps maternels qui rendent le résultat faussement positif.

Audition du **Conseil National Professionnel d'Allergo-Immunologie (CNP-AI)**,
représenté par Docteur Guislaine CARCELAIN
et de la **Société Française d'Immunologie (SFI)**,
représentée par Professeur Myriam LABALETTE

2 février 2015

L'objectif de cette audition était de déterminer les situations en immunologie où il y a recours à des tests relatifs au virus d'Epstein-Barr.

1. Les situations d'immunodéficience primitive ou héréditaire où l'on peut rencontrer des lymphoproliférations et donc être amenés à détecter et/ou quantifier le virus d'Epstein-Barr (EBV)

- Un suivi systématique de la charge virale EBV par PCR est effectué chez les patients atteints du Syndrome de Purtilo. Les tests sérologiques ne sont pas utilisés dans ce cadre. Il est à noter que ce syndrome est une affection très rare, sa prévalence est estimée à un cas pour un million dans la population générale. Tous les patients sont pris en charge dans quelques centres hospitaliers.
- En ce qui concerne toutes les autres immunodéficiences primitives ou héréditaires, il n'y a pas d'intérêt de faire un suivi systématique de la charge virale EBV. La PCR EBV est utilisée lors de l'apparition de signes cliniques de lymphoprolifération, avec d'autres examens, afin de confirmer le diagnostic. Les tests sérologiques ne sont pas utilisés.

2. Les situations d'immunodéficience acquise, ou induite par traitement ou une maladie (infection), où l'on peut rencontrer des lymphoproliférations et donc être amenés à détecter et/ou quantifier l'EBV

- Les patients greffés de cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont le plus à risque de développer un Syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (SLPT), d'où l'intérêt de détecter et de quantifier le virus dans cette population (cf. points 4 et 5). Référence J-O Bay, Pathologie Biologie, 61(2013) : 152-154 ;
- Les patients greffés d'organes solides encourrent un risque tardif et moins important de SLPT. Référence S Choquet, Am Journal of Transplantation, 2014, 14 : 857-866 ;
- Chez les patients atteints du VIH, la PCR EBV n'est pas faite de manière systématique, mais en cas d'apparition de signes cliniques. Référence : Rapport Morlat 2013 ;
- En ce qui concerne le suivi des traitements fortement immunosuppresseurs, la mesure de la charge virale EBV n'est pas effectuée systématiquement mais en cas de signes cliniques de lymphoprolifération. Les résultats ont une incidence sur la prise en charge thérapeutique ;
- Enfin, la PCR EBV est utilisée en cas de suspicion de lymphomes chez les sujets âgés. Il ne s'agit pas d'un suivi systématique, mais d'un examen réalisé en présence de signes cliniques.

3. Les examens relatifs à la détection et/ou à la quantification du virus d'Epstein-Barr prescrits ou réalisés par le laboratoire dans le cadre de ces immunodéficiences

La PCR EBV et les tests sérologiques sont les seuls examens relatifs à l'EBV utilisés dans ce contexte. En revanche, d'autres tests liés à l'EBV peuvent être utilisés en anatomocytopathologie.

4. L'utilité clinique de la mesure de la charge virale EBV par PCR chez les patients immunodéprimés, place et impact sur la prise en charge

La PCR EBV est utilisée chez les greffés de CSH dans un but préventif, afin de :

- anticiper le développement d'un SLPT ;
- suivre le traitement mis en place le cas échéant.

Un suivi systématique de la charge virale EBV est effectué chez les patients à haut risque (les receveurs de allogreffes CSH non apparentées, les receveurs EBV négatifs ayant reçu la greffe d'un donneur EBV positif, ou les patients ayant reçus le sérum anti-lymphocytaire lors du conditionnement pré-greffe (allo ou autogreffe) ; toutes les semaines en général jusqu'à trois mois post-greffe. Passé cette période, le suivi peut être effectué si besoin en cas de signes cliniques. La surveillance est cependant à poursuivre en cas de réactivation antérieure ou de GVHD.

Chez les patients greffés d'organes solides, la surveillance de la charge virale dans le même but n'est pas systématique. Néanmoins, un suivi systématique peut s'avérer nécessaire chez les patients à haut risque de primo-infection EBV (receveurs EBV négatifs ayant reçu la greffe d'un donneur EBV positif, ce qui est souvent le cas chez les enfants).

La difficulté aujourd'hui réside dans la détermination du seuil ou de cinétique d'intervention.

- La place de la PCR EBV dans le suivi du traitement d'un SLPT

Lors du traitement débuté on suit la charge virale si elle était élevée au diagnostic, le rythme suit en général le traitement (les cures d'immunosuppresseurs) :

- pour les SLPT post Greffes d'organe : à la semaine sous rituximab seul, tous les 21 jours sous R-CHOP ;
- pas de réponse précise concernant les SLPT post CSH.

5. L'utilité clinique des tests sérologiques EBV chez les patients immunodéprimés, place et impact sur la prise en charge

Les tests sérologiques (diagnostic indirect) sont utilisés afin de connaître le statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV chez le donneur et chez le receveur (avant la transplantation) et chez les patients atteints du VIH. Ils ne sont pas utilisés dans le cadre de d'immunodéficiences primitives ou héréditaires.

En ce qui concerne la sérologie EBV la pratique est relativement homogène en France avec un dosage associant les IgG anti-VCA, les IgM anti-VCA et les IgG anti-EBNA. L'utilisation conjointe de ces trois marqueurs est suffisante pour la majorité des diagnostics, permettant de distinguer la primo-infection (\pm , +, -) d'une infection ancienne (+, -, +). Selon les fabricants de trousse diagnostiques, la technique de détection (ELISA ou immunofluorescence) et la nature des cibles antigéniques (protéines recombinantes, cellules infectées, peptides....) de ces anticorps peuvent varier mais la plupart des techniques utilisées en France sont validées pour leurs capacités diagnostiques par les laboratoires de virologie médicale experts au moment de leur commercialisation.

6. Standardisation de la mesure de la charge virale par PCR

- L'échantillon utilisé en France chez les patients transplantés est le sang total. Le sang total semble être plus sensible pour la détection précoce d'un SLPT que le plasma. Cependant, l'échantillon utilisé dans le cadre du diagnostic de lymphome cérébral chez les patients atteints du VIH est le liquide céphalo-spinal.
- Il n'y a pas de consensus quant au seuil d'intervention. Une charge virale au-dessus de 200 000 copies peut être considérée alarmante, alors qu'une charge virale en dessous de 2 000 copies est considérée normale. Pour les valeurs intermédiaires, il est important de suivre la cinétique d'évolution ;
- Il n'y a pas de consensus quant à la stratégie thérapeutique préemptive ;
- Des techniques « maison » semblent être toujours utilisées. Les deux types de techniques sont basés sur une PCR en temps réel. En attente d'harmonisation des pratiques, il est important de suivre un patient donné avec la même technique, dans le même laboratoire. Il serait souhaitable d'adopter l'unité internationale de mesure définie récemment par l'OMS pour l'expression des résultats.

7. Littérature

Comme il s'agit d'évènements rares et des techniques et stratégies en évolution, les publications de haut niveau de preuve dans le domaine sont peu nombreuses. La seule recommandation thérapeutique connue dans le domaine est celle de la Société française de Greffe de Moelle et de Thérapie cellulaire de 2013 (J-O Bay, Pathologie Biologie, 61(2013) :152-154) relative à la transplantation CSH.

Quant aux indications d'utilisation de la PCR EBV on trouve également les documents suivants :

- Post transplantation solide : S. Choquet, Am Journal of Transplantation, 2014, 14 : 857-866 ;
- VIH : Recommandations : Rapport Morlat 2013.

8. Autres points abordés

- La mesure de la charge virale EBV par PCR avant la transplantation

Une mesure chez les patients greffes à J0 pourrait être intéressante afin de disposer d'un point initial de référence.

- Utilisation de la PCR EBV comme marqueur de degré d'immunosuppression

Aujourd'hui il n'y a pas de test de qualification/quantification globale de compétence immunitaire. La PCR EBV n'est pas un bon marqueur de degré d'immunosuppression.

- Utilisation de la PCR EBV en dehors des laboratoires dans les hôpitaux

Le suivi de la charge virale EBV n'est pas obligatoirement effectué dans le cadre d'une hospitalisation, il peut également être effectué lors des consultations externes.

Références

1. Institut national de la santé et de la recherche médicale. Cancers chez les patients transplantés. Dans: Transplantation d'organes – Quelles voies de recherche ? Paris: Inserm; 2009. p. 375-88.
<http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/92/?sequence=22>
2. Choquet S, Varnous S, Deback C, Golmard JL, Leblond V. Adapted treatment of Epstein-Barr virus infection to prevent posttransplant lymphoproliferative disorder after heart transplantation. *Am J Transplant* 2014;14(4):857-66.
3. Sanz J, Andreu R. Epstein-Barr virus-associated posttransplant lymphoproliferative disorder after allogeneic stem cell transplantation. *Curr Opin Oncol* 2014;26(6):677-83.
4. World Health Organization, Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, *et al.* WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2008.
5. Parker A, Bowles K, Bradley JA, Emery V, Featherstone C, Gupte G, *et al.* Diagnosis of post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines. *Br J Haematol* 2010;149(5):675-92.
6. Paya CV, Fung JJ, Nalesnik MA, Kieff E, Green M, Gores G, *et al.* Epstein-Barr virus-induced posttransplant lymphoproliferative disorders. ASTS/ASTP EBV-PTLD Task Force and The Mayo Clinic Organized International Consensus Development Meeting. *Transplantation* 1999;68(10):1517-25.
7. Styczynski J, Reusser P, Einsele H, de la Camara R, Cordonnier C, Ward KN, *et al.* Management of HSV, VZV and EBV infections in patients with hematological malignancies and after SCT: guidelines from the second European conference on infections in leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2009;43(10):757-70.
8. Majhail NS, Rizzo JD, Lee SJ, Aljurf M, Atsuta Y, Bonfim C, *et al.* Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18(3):348-71.
9. Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO). KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009;9(Suppl 3).
10. San-Juan R, Comoli P, Caillard S, Moulin B, Hirsch HH, Meylan P. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect* 2014;20 (Suppl 7):109-18.
11. Allen UD, Preiksaitis JK. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2013;13 (Suppl 4):107-20.
12. Caillard S. Lymphomes survenant après transplantation d'organes solides. Épidémiologie et présentation clinique [En ligne]: <http://eurocancer.jle.com>; 2011.
<http://eurocancer.jle.com/articles/2011/219.htm>
13. Anderson JM. Evidence based clinical practice guideline management of EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in solid organ transplant. Cincinnati: Cincinnati Children's Hospital Medical; 2011.
14. Gulley ML, Tang W. Using Epstein-Barr viral load assays to diagnose, monitor, and prevent posttransplant lymphoproliferative disorder. *Clin Microbiol Rev* 2010;23(2):350-66.
15. Parker A, Bowles K, Bradley JA, Emery V, Featherstone C, Gupte G, *et al.* Management of post-transplant lymphoproliferative disorder in adult solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines. *Br J Haematol* 2010;149(5):693-705.
16. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz K, Storek J, *et al.* Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: a global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15(10):1143-238.
17. Public Health England. Epstein-Barr Virus Serology. UK standards for microbiology investigations. *Virology* 2015;26(5).

18. Gulley ML. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. *J Mol Diagn* 2001;3(1):1-10.
19. Peraldi MN, Rieu P. Quelles explorations faut-il réaliser avant l'inscription sur une liste de transplantation rénale ? *Néphrol Thér* 2009;5 (Suppl 4):S301-8.
20. Ruf S, Wagner HJ. Determining EBV load: current best practice and future requirements. *Expert Rev Clin Immunol* 2013;9(2):139-51.
21. Kimura H, Ito Y, Suzuki R, Nishiyama Y. Measuring Epstein-Barr virus (EBV) load: the significance and application for each EBV-associated disease. *Rev Med Virol* 2008;18(5):305-19.
22. World Health Organization, Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, Minor PD. Collaborative study to evaluate the proposed 1st WHO international standard for Epstein-Barr Virus (EBV) for Nucleic Acid Amplification Technology (NAT)-Based Assays. Geneva: WHO; 2011.
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70781/1/WHO_BS_2011.2172_eng.pdf
23. Kidney Health Australian, Chadban SJ, Barraclough KA, Campbell SB, Clark CJ, Coates PT, *et al.* The Kidney Health Australia-Caring for Australasians with renal impairment (KHA-CARI) guidelines. Adaptation of the KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. Westmead: KHA; 2012.
<http://www.cari.org.au/>
24. Renal Association, Baker R, Jardine A, Andrews P. Post-operative care of the kidney transplant recipient. Petersfield : RA; 2011.
25. Kelly DA, Bucuvalas JC, Alonso EM, Karpen SJ, Allen U, Green M, *et al.* Long-term medical management of the pediatric patient after liver transplantation: 2013 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver Transpl* 2013;19(8):798-825.
26. Lucey MR, Terrault N, Ojo L, Hay JE, Neuberger J, Blumberg E, *et al.* Long-term management of the successful adult liver transplant: 2012 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver Transpl* 2013;19(1):3-26.
27. International Society of Heart and Lung Transplantation, Hunt S, Burch M, Bhat G, Canter C, Chinnock R, *et al.* The international society of heart and lung transplantation guidelines for the care of heart transplant recipients. TASK FORCE 3: Long-term Care of Heart Transplant Recipients. Addison: ISHLT; 2010.
28. Bay JO, Peffault de Latour R, Bruno B, Coiteux V, Guillaume T, Hicheri Y, *et al.* Prise en charge d'une réactivation/infection à CMV chez l'allogreffé et prise en charge de la réactivation EBV/syndrome lymphoprolifératif à EBV chez l'allogreffé de cellules souches hématopoïétiques. *Pathol Biol* 2013;61(4):152-4.

Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Evaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Novembre 2015
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur www.has-sante.fr
Objectif(s)	L'objectif de cette évaluation est d'analyser la cohérence entre la demande, la littérature synthétique disponible et la position des professionnels, en vue de l'inscription à la Nomenclature des actes de biologie médicale, de la mesure de la charge virale du virus d'Epstein-Barr et des tests sérologiques dans le cadre d'un syndrome prolifératif post-transplantation.
Professionnel(s) concerné(s)	Cf. chapitre 2.3. « Recueil de la position des professionnels »
Demandeur	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS)
Promoteur	Haute Autorité de santé (HAS), service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Irena GUZINA, chef de projet, SEAP (chef de service : Michèle MORIN-SURROCA, adjoint au chef de service : Denis Jean DAVID) Secrétariat : Banedé SAKO, Louise TUIL, assistantes, SEAP
Participants	Expertise externe à la HAS : Pr Jean-Paul STAHL (Conseil National Professionnel d'Infectiologie - Fédération Française d'Infectiologie) Dr Sylvain CHOQUET (Conseil National Professionnel d'Hématologie) Dr Jérôme LE GOFF (Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire) Dr Filoména CONTI, Pr Jacques DANTAL, Dr Dominique DEBRAY et Dr Eric EPAILLY (Société Francophone de Transplantation) Dr Myriam LABALETTE (Société Française d'Immunologie) Dr Guislaine CARCELAIN (Conseil National Professionnel d'Allergo-Immunologie)
Recherche documentaire	De janvier 2009 à juillet 2015 (stratégie de recherche documentaire décrite en Annexe 1) Réalisée par Marie GEORGET, documentaliste, avec l'aide de Laurence FRIGERE, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGES, chef du service documentation - veille, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Irena GUZINA, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Collège de la HAS : novembre 2015
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr
Documents d'accompagnement	Avis HAS (novembre 2015) disponible sur www.has-sante.fr

~



Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur
www.has-sante.fr