



Caractérisation virologique des infections à herpès virus (EBV, HHV-6, HSV-1, HSV-2, CMV, VZV) dans les angioedèmes

Anastasiia Filippova

► To cite this version:

Anastasiia Filippova. Caractérisation virologique des infections à herpès virus (EBV, HHV-6, HSV-1, HSV-2, CMV, VZV) dans les angioedèmes. Médecine humaine et pathologie. Université Grenoble Alpes [2020-..]; Université d'Etat d'Irkoutsk (Russie), 2021. Français. NNT : 2021GRALV067 . tel-03670383

HAL Id: tel-03670383

<https://theses.hal.science/tel-03670383>

Submitted on 17 May 2022

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

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



ФГБОУ ВО «Иркутский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

**préparée dans le cadre d'une cotutelle entre l'Université
Grenoble Alpes et l'Université de médecine d'État
d'Irkoutsk**

Spécialité : **Virologie – Microbiologie - Immunologie**

Arrêté ministériel : le 6 janvier 2005 – 25 mai 2016

Présentée par

Anastasiia FILIPPOVA

Thèse dirigée par **Patrice MORAND** et **Irina MALOVA**
et co-encadrée par **Raphaële GERMI**

préparée au sein du **Laboratoire de Virologie, CHU Grenoble Alpes;**
l'Institut de Biologie Structurale UMR 5075 Université Grenoble
Alpes et de **l'Université de médecine d'État d'Irkoutsk**

dans **l'Ecole Doctorale Chimie et Sciences du Vivant** et de
l'Université de médecine d'État d'Irkoutsk

**Caractérisation virologique des infections à herpès virus
(EBV, HHV-6, HSV-1, HSV-2, CMV, VZV) dans les angiœdèmes**

Thèse soutenue publiquement **le 08 décembre 2021**
devant le jury composé de :

Professeure Samira FAFI-KREMER

PU-PH, Université et Hôpitaux Universitaires de Strasbourg
(Présidente du jury, Rapportrice)

Professeure Olga Nemchaninova

PU-PH, Département de dermatovénérologie et cosmétologie,
Université de médecine d'État de Novossibirsk (Rapportrice)

Professeur Patrice MORAND

PU-PH, IBS UMR 5075 CEA-CNRS-UGA, CHU Grenoble Alpes
(Directeur de thèse)

Professeure Irina MALOVA

PU-PH, Département de dermatovénérologie et cosmétologie,
Université de médecine d'État d'Irkoutsk (Co-directrice de thèse)

Docteure Raphaële GERMI

MCU-PH, IBS UMR 5075 CEA-CNRS-UGA, CHU Grenoble Alpes
(Invité)

Professeur, Igor MALOV

Recteur, Université de médecine d'État d'Irkoutsk (Examineur)



REMERCIEMENTS



Aux membres du jury,

Madame la Professeure Samira Fafi-Kremer,

Je vous prie de recevoir mes sincères remerciements pour avoir accepté de présider mon jury de thèse et pour avoir consacré de votre temps pour juger mon travail par votre expertise. Veuillez croire en l'expression de ma respectueuse considération.

Au directeur de thèse,

Monsieur le Professeur Patrice Morand,

Je vous remercie d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse et de m'avoir intégrée dans votre équipe en tant que doctorante. Merci beaucoup de m'avoir proposé ce sujet intéressant, qui permettait d'approfondir les connaissances dans ce domaine. Merci pour votre disponibilité tout au long de la réalisation de ce travail, votre implication pédagogique et votre soutien. Votre énergie et vos précieux conseils étaient une source d'inspiration pour moi.

À ma co-encadrante de thèse,

Madame Raphaële Germi,

Je vous remercie infiniment pour avoir accepté de codiriger mon travail, pour votre aide et le temps conséquent que vous m'avez accordé. Grâce à vous j'ai appris beaucoup de connaissance sur la biologie moléculaire des virus et l'activité scientifique. Votre esprit et votre rigueur scientifique sont un exemple pour moi. La réalisation de cette thèse n'aurait pas été possible sans vous. Veuillez recevoir l'expression de ma sincère reconnaissance.

À l'équipe de laboratoire

Madame Laurence Grossi,

Je te remercie du plus profond de mon cœur pour ton aide, de m'avoir fait découvrir le monde de « la PCR », et pour tes explications détaillées concernant les techniques. J'apprécie beaucoup ta gentillesse et tes qualités humaines. Merci d'avoir toujours été avec moi depuis mes débuts en laboratoire.

Monsieur Julien Lupo,

Je vous remercie pour votre accueil chaleureux à chaque fois que j'ai eu des questions et pour vos nombreux conseils concernant ma thèse.

Je voudrais remercier Gwladys, Jessica, Tania, Emmanuelle et les autres techniciens du laboratoire de virologie de m'avoir appris les méthodes de diagnostic (PCR et sérologie) et pour le temps que vous avez trouvé pour moi malgré la grande quantité de travail quotidienne. J'étais très à l'aise dans votre équipe. Merci beaucoup pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Aux membres de comité de suivi de thèse,

Madame la Professeure Marie-Thérèse Leccia,

Mon parcours a commencé dans le service de dermatologie à Grenoble en qualité d'externe puis sous le statut du faisant fonction d'interne grâce à vous. Merci pour les connaissances et l'expérience que j'ai obtenu pendant mes stages. Merci pour votre participation dans mon domaine scientifique et pour le suivi de ma thèse avec toujours des avis favorables. En espérant une collaboration future sur les cas de dermatologie.

Madame la Professeure Laurence Bouillet,

Je suis très honorée que vous ayez accepté de participer à ce comité. Merci beaucoup pour votre aide pédagogique sur le sujet des angioœdèmes à bradykinine et votre accessibilité au cours de ce travail. Veuillez recevoir l'expression de ma sincère reconnaissance.

Merci à toutes les équipes médicales et paramédicales qui m'ont accompagnée tout au long de ces années de doctorat que ce soit à Grenoble ou Irkoutsk.

СЛОВА БЛАГОДАРНОСТИ



Выражаю благодарность ректору ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, профессору, доктору медицинских наук, Малову Игорю Владимировичу за предоставленную возможность прохождения аспирантуры под двойным руководством и согласие быть в составе диссертационного жюри в качестве экзаменатора.

Выражаю глубокую признательность и уважение своему научному руководителю Маловой Ирине Олеговне, профессору, доктору медицинских наук, кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России за профессиональную помощь при проведении диссертационного исследования, за ценные советы и поддержку.

Выражаю мою искреннюю благодарность, профессору, доктору медицинских наук, врачу высшей категории, заведующей кафедрой дерматовенерологии и косметологии ИГМУ, Немчаниновой Ольге Борисовне за согласие стать моим оппонентом и за время, посвященное оценке моей работы.

Особую благодарность выражаю проректору по международным связям и учебной работе с иностранными учащимися, заведующей кафедрой детских болезней и детских инфекций, кандидату медицинских наук, Крупской Тамаре Семеновне за предоставленную мне уникальную возможность выполнения научно-исследовательской работы на международном уровне, за колоссальную помощь и моральную поддержку в течение всего периода написания диссертации.

Выражаю мою сердечную благодарность Кукушкиной Инге Николаевне ведущему специалисту отдела по учебной работе с иностранными учащимися и международным связям ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, преподавателя на кафедре иностранных языков, кандидату филологических наук, за отзывчивость и помощь в подготовке важных документов.

Выражаю благодарность заведующему кафедрой дерматовенерологии и косметологии, профессору, доктору медицинских наук, Якубовичу Андрею Игоревичу за внимание и вклад в мое профессиональное развитие.

Я бесконечно признательна моей семье за вашу безграничную любовь, поддержку, оптимизм, и бесценное участие на протяжении всей моей жизни. Ваши советы всегда дают бодрость духа и силы для решения различных вопросов.

SOMMAIRE



REMERCIEMENTS.....	3
СЛОВА БЛАГОДАРНОСТИ	5
SOMMAIRE	6
RÉSUMÉ.....	8
ABSTRACT	9
ABRÉVIATIONS.....	10
LISTE DES FIGURES.....	12
LISTE DES TABLEAUX	12
PRODUCTION SCIENTIFIQUE	13
INTRODUCTION.....	14
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	15
I. Actualité du virus d'Epstein-Barr	16
II. Données générales sur l'angioedème	31
1. Historique	31
2. Définition	32
4. Épidémiologie	34
5. Étiologie de l'angioedème et son association avec les virus	34
6. La pathogenèse de l'angioedème histaminique et bradykinique	36
7. Présentation clinique.....	39
8. Diagnostic des angioedèmes.....	40
9. Généralités sur le traitement de l'angioedème	43
9.3. L'algorithme lors de cas d'urgence.....	45
10. Le traitement préventif	46
10.1. Prophylaxie à court terme :	46
10.2. Prophylaxie à long terme :	46
Bibliographie.....	47

PARTIE EXPÉRIMENTALE	51
Article N° 1 – “Caractérisation virologique de la réactivation des herpèsvirus humains (EBV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, CMV, VZV) et du torque teno virus dans l’angioedème”	52
Article N° 2 – "L’angioedème associé à l’urticaire dans le service d’Allergologie et d’Immunologie Clinique de l’hôpital d’Irkoutsk N°10 : caractérisations anamnestiques, cliniques et biologiques" .	67
CONCLUSION-PERSPECTIVES	83
TRAVAUX SUPPLÉMENTAIRES	85
Article N°1 – “Genital herpes zoster in an immunocompetent child”	86
Article N°2 – “Exogenous human herpesvirus 6 reinfection after tumor-infiltrating T-lymphocyte therapy”	88
Article N°3 – “Prospective evaluation of blood Epstein–Barr virus DNA load and antibody profile in HIV-related non-Hodgkin lymphomas”	91



Le rôle des herpèsvirus humains dans la pathogénie de l'angioedème (facteur déclenchant et /ou facteur aggravant ?) est peu exploré dans la littérature de même que les conséquences de l'angioedème sur l'histoire naturelle de ces virus persistants dans l'organisme. Les principales données épidémiologiques de l'angioedème dans la région d'Irkoutsk sont mal connues. Ce travail de thèse comporte deux études originales.

La première est une étude rétrospective qui décrit les charges virales mesurées par PCR quantitative dans le sang et la salive et les titres sériques d'anticorps des virus de l'herpès humains (EBV, HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, HHV-6) ainsi que les charges virales du Torque Teno virus (TTV), marqueur viral indirect de l'immunité dans une cohorte grenobloise de 28 patients présentant une attaque d'angioedème de type histaminique (n=12) ou bradikinique (n=16) comparée à une population témoin. Nos résultats montrent une tendance non statistiquement significative d'une fréquence plus élevée de réactivation du virus EBV et de HSV-1 dans la salive (et dans le sang pour l'EBV) au décours des attaques d'angioedème et une fréquence de détection du TTV dans la salive statistiquement plus élevée que dans le groupe témoin.

Le deuxième article est une analyse rétrospective de 113 cas de patients russes atteints d'angioedème associé à l'urticaire aiguë/chronique entre janvier 2016 et décembre 2018 suivis dans le service d'Allergologie et d'Immunologie Clinique de l'hôpital d'Irkoutsk n°10, couplée à une analyse de l'incidence de cette pathologie sur 5 ans (2014-2018) chez 6002 patients. L'étude de cette période montre que la part de l'angioedème associé à l'urticaire représentait 9,1% des pathologies suivies dans le service en 2014 contre 4,8% en 2018. Globalement sur cette période de 5 ans, l'angioedème est la 4^e pathologie la plus fréquente dans le service.

En plus de ces deux travaux, nous rapportons dans ce manuscrit deux « case reports » décrivant des manifestations cutanées atypiques liées d'une part à une réactivation du virus HHV-6 chez une femme atteinte d'un mélanome et traitée par des perfusions de lymphocytes T autologues infectés par HHV-6 et d'autre part un zona génital chez un enfant de 10 ans immunocompétent.

Mots-clés: *angioedème; EBV ; HSV ; VZV ; CMV ; HHV-6 ; TTV ; charge virale ; sérologie.*

ABSTRACT



The role of human herpesviruses in the pathogenesis of angioedema (triggering factor and /or aggravating factor?) is little explored in the literature as well as the consequences of angioedema on the natural history of these viruses persisting in the body. The main epidemiological data of angiodema in the Irkutsk region are poorly known. This thesis work includes two original studies.

The first is a retrospective study that describes the viral loads measured by quantitative PCR in blood and saliva and the serum antibody titers of human herpes viruses (EBV, HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, HHV-6) as well as the viral loads of the Torque Teno virus (TTV), indirect viral marker of immunity in a Grenoble cohort of 28 patients presenting an attack of histamine-type angiodema (n=12) or bradikinin (n=16) compared to a control population. Our results show a non-statistically significant tendency to a higher frequency of reactivation of the EBV virus and HSV-1 in saliva (and in the blood for EBV) during angioedema attacks and a statistically higher frequency of detection of TTV in saliva than in the control group.

The second article is a retrospective analysis of 113 cases of Russian patients with angioedema associated with acute/chronic urticaria between January 2016 and December 2018 followed in the department of Allergology and Clinical Immunology of Irkutsk Hospital N°10, coupled with an analysis of the incidence of this pathology over 5 years (2014-2018) of 6002 patients. The study of this period shows that the share of angioedema associated with urticaria accounted for 9.1% of the pathologies followed in the department in 2014 compared to 4.8% in 2018. Overall over this 5-year period, angiodema is the 4th most common pathology in the department.

In addition to these two works, we report in this manuscript two case reports describing atypical skin manifestations related, on the one hand, to a reactivation of the HHV-6 virus in a woman with melanoma and treated with infusions of autologous T lymphocytes infected with HHV-6 and, on the other hand, genital shingles in an immunocompetent 10-year-old child.

Keywords: *angioedema; EBV; HSV; VZV; CMV; HHV-6; TTV; viral load ; serology.*

ABRÉVIATIONS



HSV-1 : herpès simplex virus de type 1

HSV-2 : herpès simplex virus de type 2

VZV, HHV-3: virus de la varicelle et du zona

EBV, HHV-4 : virus d'Epstein-Barr

CMV, HHV-5 : cytomégalovirus

HHV-6 : herpèsvirus humain de type 6

HHV-7 : herpèsvirus humain de type 7

HHV-8 : herpèsvirus humain de type 8

TTV : Torque Teno Virus

AE : angioédème

AEHi : angioédème histaminique

AEB : angioédème bradykinique

AEH : angioédème héréditaire

AEA : angioédème acquis

PCR : réaction en chaîne par polymérase

ADN : acide désoxyribonucléique

VCA : viral capsid antigen

EBNA : Epstein Barr Nuclear Antigen

EA : Early Antigen

IECA : inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

ARA - II : antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II

C1Inh : inhibiteur de la C1 estérase

CV : charge virale

GMSI : gammapathie monoclonale de signification indéterminée

Ig : immunoglobuline

APP : aminopeptidase P

CBPN : caboxypeptidase N

PLG : plasminogen

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

COVID-19 : CoronaVirus Disease 2019

EAACI : European Academy of Allergy and Clinical Immunology

GA²LEN : Global Allergy and Asthma European Network

EDF : European Dermatology Forum

WAO : World Allergy Organization

LISTE DES FIGURES



Figure 1. Heinrich Quincke	31
Figure 2. William Osler	31
Figure 3. Classification des angioœdèmes histaminiques et bradykiniques	33
Figure 4. Mécanisme d'activation mastocytaire au cours des angioœdèmes et urticaires	37
Figure 5. Physiopathologie de l'angioœdème bradykinique	38
Figure 6. Démarche diagnostique biologique des angioœdèmes bradykiniques	41
Figure 7. Algorithme simplifié (étape par étape) du traitement de l'urticaire	43
Figure 8. Algorithme de la prise en charge globale de l'angioœdème chez les adultes par le service des urgences	45

LISTE DES TABLEAUX



Tableau 1. Les facteurs déclenchants de l'apparition d'urticaire ou d'angioœdème	36
Tableau 2. Différences cliniques entre un angioœdème histaminique et un angioœdème bradykinique	39
Tableau 3. Diagnostic biologique des angioœdèmes bradykiniques.	42
Tableau 4. Les médicaments pour le traitement de l'angioœdème héréditaire	44



PUBLICATIONS

Filippova A, Malova I.O, Khashkina L.A, Morand P, Germi R. Angioedema: anamnestic and clinical laboratory relations. *RMJ. Medical Review*. 2019;12:4–8 (en russe)

Filippova A, Charles J, Epaulard O, Germi R, Persoons V, Templier I, Leccia MT, Dreno B, Malova I, Morand P, Lupo J. Exogenous human herpesvirus 6 reinfection after tumor-infiltrating T-lymphocyte therapy. *Cytotherapy*. 2018 Apr;20(4):521-523

Filippova A, Templier I, Lupo J, Leccia MT, Morand P, Germi R. Genital herpes zoster in an immunocompetent child. *Eur J Dermatol*. 2020;30(1):54-55

Lupo J, Germi R, Lancar R, Algarte-Genin M, Hendel-Chavez H, Taoufik Y, Mounier N, Partisani M, Bonnet F, Meyohas MC, Marchou B, **Filippova A**, Prevot S, Costagliola D, Morand P, Besson C. Prospective evaluation of blood Epstein-Barr virus DNA load and antibody profile in HIV-related non-Hodgkin lymphomas. *AIDS*. 2021 May 1;35(6):861-868

COMMUNICATIONS

Filippova A, Caillard G, Lupo J, Grossi L, Malova I, Morand P, Germi R. Characterization of herpesviruses reactivation in angioedema (EBV, HHV-6, HSV-1, HSV-2, VZV). Journée Annuelle des Doctorants 2018. Grenoble, France, 14 juin 2018; Poster

Filippova A, Lupo J, Caillard G, Grossi L, Malova I, Deroux A, Morand P, Bouillet L, Germi R. Caractérisation de la réactivation des herpesvirus dans la crise d'angioedème. 39^{ème} Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse. Paris, France, 16-17 décembre 2019; Poster

Filippova A, Morand P, Malova I, Germi R. Virological characterization of herpesviruses (EBV, HHV-6, HSV-1, HSV-2, VZV) in angioedema. Quatrième session du Symposium chinois-russe sur la Microbiologie et les maladies infectieuses. Grenoble, France, 16 juillet 2021; Présentation

INTRODUCTION



En 2021, l'angioedème (AE) demeure un problème complexe avec des mécanismes pathogéniques différents non encore complètement élucidés et la possibilité d'une mise en jeu du pronostic vital des patients.

Le rôle des herpèsvirus humains dans la pathogénie de l'angioedème (facteur déclenchant et /ou facteur aggravant ?) est peu exploré dans la littérature de même que les conséquences de l'angioedème sur l'histoire naturelle de ces virus persistants dans l'organisme.

Ce travail de thèse effectué en co-tutelle entre l'Université de Grenoble-Alpes et l'Université de médecine d'État d'Irkoutsk a cherché:

- D'une part à suivre les charges virales du virus d'Epstein-Barr (EBV) et de 5 autres herpèsvirus humains dans la salive et le sang de patients au décours d'une attaque d'angioedème en les comparant à une population d'individus sains. Cette étude moléculaire a été complétée par une comparaison des titres d'anticorps anti-EBV dans les deux populations
- D'autre part à étudier les caractéristiques épidémiologiques et biocliniques de l'angioedème associé à l'urticaire, dans la ville d'Irkoutsk en Russie.

Ce travail expérimental est précédé d'une première partie bibliographique constituée d'une revue générale actualisée sur l'infection par l'EBV publiée en 2021 dans l'encyclopédie médico-chirurgicale.

En annexe sont présentés trois articles auxquels j'ai participé en tant que membre de l'équipe de recherche du laboratoire de virologie du CHU de Grenoble.



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



I. Actualité du virus d'Epstein-Barr



■ 8-070-K-10

Virus d'Epstein-Barr et maladies associées

J. Lupo, A. Filippova, P. Morand, R. Germi

Résumé : Le virus d'Epstein-Barr (EBV) infecte plus de 95 % de la population mondiale, principalement par voie salivaire. Le plus souvent asymptomatique pendant l'enfance, la primo-infection EBV aboutit souvent à une mononucléose infectieuse (MNI) lorsqu'elle survient chez l'adolescent ou l'adulte jeune. La MNI est le plus souvent bénigne mais peut être responsable d'une fatigue prolongée invalidante. Le diagnostic de MNI repose sur la sérologie. Il n'existe pas de traitement antiviral spécifique pour cette maladie. Le virus persiste ensuite toute la vie chez l'hôte infecté, surtout dans les lymphocytes B mémoires. Cette persistance résulte d'un équilibre entre une infection latente sans production virale et des épisodes de réactivations virales aboutissant à une excrétion virale salivaire. La persistance virale est en général asymptomatique chez l'individu infecté. Chez une personne immunodéprimée, le défaut de contrôle immunitaire peut aboutir à des syndromes lymphoprolifératifs caractérisés par une prolifération incontrôlée des lymphocytes B infectés par l'EBV. La mesure de la charge virale dans le sang est un outil imparfait mais utile pour la prévention ou le diagnostic précoce des syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation puisque aucun autre marqueur n'existe à ce jour. Le traitement et la prévention des syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation repose notamment sur les anticorps anti-CD20. Chez l'individu immunocompétent, la persistance virale peut également aboutir à des cancers dits « associés à l'EBV » avec des cellules tumorales contenant le génome viral et exprimant des protéines virales favorisant la transformation cellulaire. Les principaux cancers associés à l'EBV sont le lymphome de Burkitt, certains lymphomes de Hodgkin et le carcinome indifférencié du nasopharynx. Leur diagnostic est principalement anatomopathologique mais la sérologie EBV et/ou la mesure de la charge virale dans le sang ou les tissus peuvent être utiles. À côté des thérapeutiques antitumorales classiques, il existe des protocoles d'immunothérapie cellulaire.

© 2021 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots-clés : Virus d'Epstein-Barr ; Mononucléose infectieuse ; Cancers viro-induits ; Immunodépression ; Lymphoprolifération post-transplantation ; Diagnostic

Plan

■ Introduction	1
■ Le virus d'Epstein-Barr	1
Structure	1
Cycle lytique et réplication productive	2
Infection latente	2
■ Histoire naturelle et physiopathologie du virus d'Epstein-Barr	4
■ Pathologies associées au virus d'Epstein-Barr	4
Mononucléose infectieuse	4
Cancers associés au virus d'Epstein-Barr	8
Maladies auto-immunes et virus d'Epstein-Barr : la controverse	12

■ Introduction

Le virus d'Epstein-Barr (EBV ou herpèsvirus humain de type 4), découvert en 1964 par Epstein, Achong et Barr (Tableau 1), appartient à la famille de *Herpesviridae* (sous famille des *Gammapherpesvirinae*, genre *Lymphocryptovirus*). Ce virus infecte la presque totalité de la population mondiale. L'infection par l'EBV est le plus souvent parfaitement asymptomatique, aussi bien pendant la primo-infection qu'au cours de la persistance virale qui intervient au sein des lymphocytes B de l'hôte. La primo-infection peut cependant donner lieu à une maladie infectieuse aiguë nommée mononucléose infectieuse (MNI) et la persistance virale est parfois

associée à des cancers agressifs chez l'individu sain ou immunodéprimé. Cette revue résume les connaissances actuelles sur la structure, la biologie et la physiopathologie de l'EBV ainsi que sur la prise en charge diagnostique et thérapeutique des maladies associées à l'EBV, en particulier la MNI et les syndromes lymphoprolifératifs chez le patient transplanté.

■ Le virus d'Epstein-Barr

Structure

Le virion, d'un diamètre d'environ 150 nm, comprend, de l'extérieur vers l'intérieur, une enveloppe portant plusieurs spicules glycoprotéiques, un tégument dont les protéines virales sont en contact direct avec la capside de structure icosaédrique, et le génome viral constitué d'une molécule d'acide désoxyribonucléique (ADN) bicaténaire allant de 172 000 à 184 000 paires de bases selon les souches (Fig. 1). Le génome est organisé en deux domaines, long et court, de séquence unique, délimités par des séquences répétées aux deux extrémités (*terminal repeat* [TR]) et à l'intérieur (*internal repeat* [IR]). Les cadres de lecture ouverts (F1 ; F2, etc.), dans ces deux domaines, sont nommés en fonction de leur localisation dans les différents fragments obtenus après digestion par l'enzyme BamHI (BA, BB, BC, etc. par taille décroissante) et de leur direction (droite « R » ou gauche « L »). Ces cadres de lecture (exemples : BBRF2, BZLF1) codent 80 à 100 protéines virales. Deux sous-types d'EBV ont été décrits sur la base de la variabilité

dans les gènes des protéines de latence. La séquence de référence du sous-type 1 (National Center for Biotechnology Information [NCBI] NC007605) est un mélange de deux génomes des souches B95-8 et Raji^[1,2] et celle du type 2 (NCBI NC009334) correspond à la souche AG876^[3]. Le génome de l'EBV à l'intérieur de ces sous-types demeure très conservé^[4,5].

Cycle lytique et réplication productive

Le cycle de multiplication de l'EBV dans la cellule suit le schéma classique des *Herpesviridae*. L'adsorption du virion à la surface du

lymphocyte B est très spécifique grâce à l'interaction de la glycoprotéine d'enveloppe virale gp350/220 avec la molécule CD21 (récepteur du C3d du complément) des lymphocytes B. La glycoprotéine d'enveloppe gp42 interagit alors avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de type II et recrute le complexe de glycoprotéines d'enveloppe gH/gL dont le changement conformationnel active la protéine virale gB, responsable de la fusion des membranes virales et cellulaires dans une vésicule d'endocytose. De manière différente, l'entrée de l'EBV dans les cellules épithéliales ne nécessite pas la formation de vésicule d'endocytose. Après intervention de gH/gL et gB, le virus pénètre dans la cellule par fusion directe. En outre, ici, l'adsorption virale ne fait intervenir ni la gp42 ni la gp350/220 mais une interaction moins spécifique entre la glycoprotéine virale BMRF2 et l'intégrine cellulaire $\alpha 5 \beta 1$ ^[6].

Une fois dans la cellule, la nucléocapside migre à travers le cytoplasme en direction des pores nucléaires et se désintègre progressivement pour laisser la molécule d'ADN viral entrer seule dans le noyau. Dans le noyau, les gènes « immédiats-précoces » sont transcrits puis traduits dans le cytoplasme de la cellule, notamment les facteurs de transcription *BamHI-Z Epstein-Barr virus replication activator* (ZEBRA) (également nommée Zta, Z ou EB1 et codée par le gène *BZLF1*) et Rta (ou R codée par le gène *BRLF1*), ce qui conduit à l'activation de certaines voies d'activation cellulaire et à l'expression des gènes précoces dont font partie l'ADN-polymérase virale et les autres enzymes responsables de la synthèse de l'ADN. Les gènes tardifs sont alors exprimés, ce qui aboutit à la synthèse des protéines structurales qui sont la capside et les glycoprotéines d'enveloppe. L'assemblage de la capside virale autour d'une molécule d'ADN génomique linéaire a lieu dans le noyau cellulaire grâce à l'intervention de la protéase virale. Les nucléocapsides migrent en direction de la surface de la cellule et rencontrent les membranes cellulaires dans lesquelles elles bourgeonnent. L'acquisition définitive de l'enveloppe avec ses glycoprotéines virales précède la libération du virion dans le milieu extracellulaire et la lyse de la cellule^[7].

Infection latente

L'infection latente est caractérisée par l'expression d'un nombre restreint de gènes. Parmi ces gènes, six codent pour des protéines nucléaires (*Epstein-Barr nuclear antigen* [EBNA]) et trois pour des

Tableau 1.
Historique des découvertes sur l'Epstein-Barr virus.

Références	Découverte
Burkitt, 1962	Burkitt envisage le rôle d'un agent infectieux dans les tumeurs de la mâchoire observées chez les enfants ougandais
Epstein et al., 1964	Découverte d'un nouvel herpesvirus dans les cultures de cellules tumorales de lymphome de Burkitt
Henle et Henle, 1966	Détection d'anticorps dirigé contre les virions (produits en culture) chez les patients atteints de lymphome de Burkitt
Henle et al., 1968, Evans et al., 1968	Identification du virus (EBV) comme la cause de la mononucléose infectieuse
Pope et al., 1968, Chang et Golden, 1971	Mise en évidence du pouvoir transformant de l'EBV
Zur Hausen et al., 1970	Mise en évidence de l'ADN viral dans les cellules malignes de lymphome de Burkitt et de carcinome du nasopharynx
De-Thé et al., 1978	Association de l'EBV au lymphome de Burkitt endémique
Baer et al., 1984	Détermination de la séquence nucléotidique complète du génome

ADN : acide désoxyribonucléique ; EBV : virus d'Epstein-Barr.

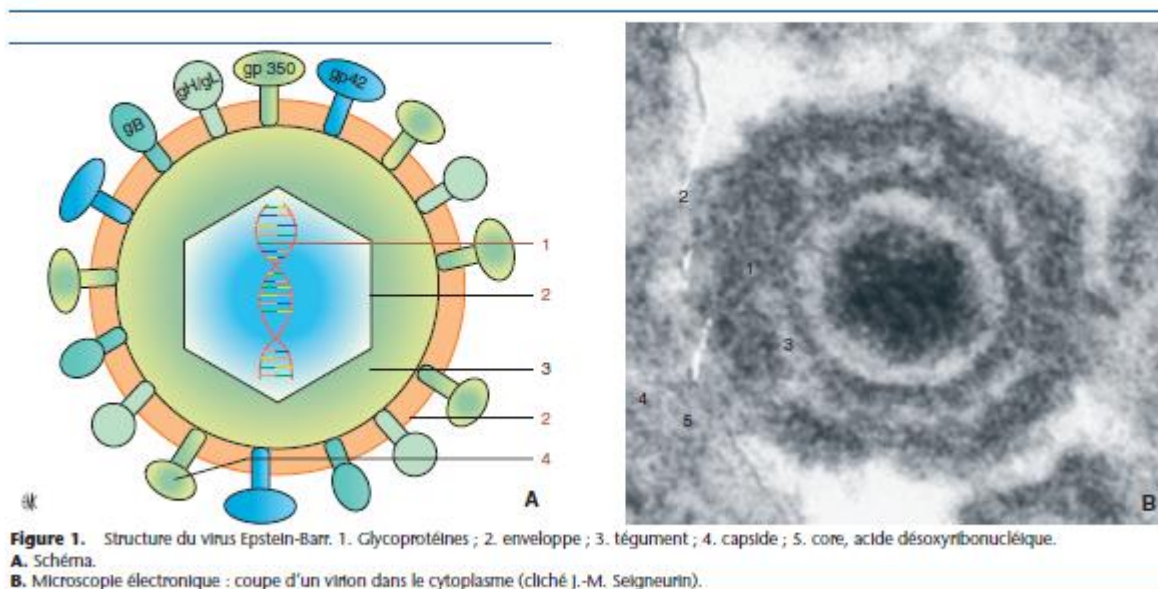


Tableau 2.
Profils d'expression des gènes du virus d'Epstein-Barr (EBV) dans les cellules et les tissus lymphoïdes.

Programmes de latence	Gènes exprimés	Lymphocyte B normal du tissu lymphoïde	Maladie maligne associée
Latence de type 0	Aucune protéine ? EBER miARN	Périphérique mémoire	Aucune
Latence de type I	EBNA-1 EBER miARN	Périphérique mémoire en division	Lymphome de Burkitt Cancer de l'estomac
Latence de type II Programme par défaut	EBNA-1 LMP-1, LMP-2A, 2b EBER miARN	Centre germinatif	Lymphome de Hodgkin Carcinome du nasopharynx
Latence de type III Programme de croissance	EBNA-1, 2, 3A, 3B, 3C, LP LMP-1, 2A, 2B EBER miARN	Naïf activé	Syndrome lymphoprolifératif de l'immunodéprimé

EBER : *Epstein-Barr encoded small RNA* ; miARN : petits ARN non codants codés par les gènes *BART* et *BHRF1* et impliqués dans la régulation épigénétique du cycle viral ; EBNA : *Epstein-Barr nuclear antigen* ; LMP : *latent membrane protein*.

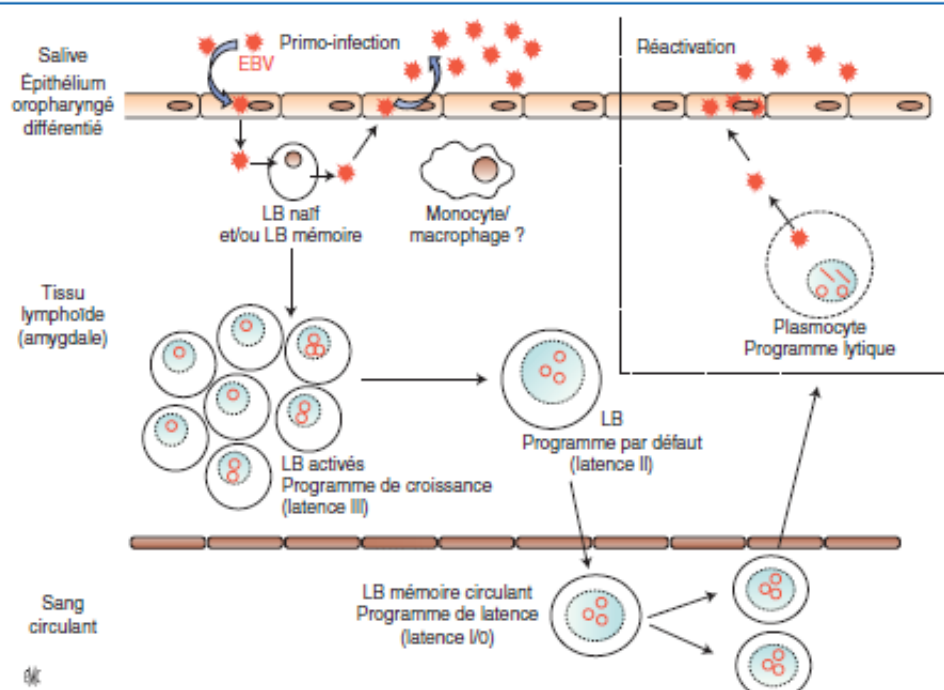


Figure 2. Primo-infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV), établissement de la persistance et réactivation. LB : lymphocyte B.

protéines membranaires (*latent membrane protein* [LMP]). Il existe plusieurs profils de latence dans lesquels l'expression des protéines de latence diffère (Tableau 2). Les acides ribonucléiques (ARN) non codants (*Epstein-Barr encoded small RNA* [EBER]) sont exprimés dans tous les programmes de latence ainsi qu'un grand nombre de micro-ARN viraux (44 issus du gène *BART* et trois issus du gène *BHRF1*)^[8,9]. Les différents profils de latence interviennent à différentes étapes de l'histoire naturelle de l'EBV (Fig. 2) et caractérisent également les différentes pathologies malignes associées à ce virus^[10,11]. Ce sont ces protéines de latence et les ARN non codants de l'EBV qui sont à l'origine de la propriété remarquable et unique de l'EBV de transformation cellulaire et d'immortalisation des lymphocytes B infectés.

L'antigène nucléaire EBNA-2 active l'expression des protéines LMP-1 et LMP-2 et, en collaboration avec les protéines EBNA-3, active l'expression des protéines cellulaires qui contribuent à la croissance et à la transformation des cellules B. La protéine

LMP-1 agit comme un oncogène, active les voies de signalisation cellulaire, la synthèse de molécules d'adhésion cellulaire, ainsi que la production de cytokines et la prolifération des cellules. La protéine LMP-2 empêche les phosphorylations médiées par la tyrosine kinase et inhibe ainsi la réactivation de l'EBV dans les cellules infectées. Enfin, l'antigène EBNA-1, en se liant à l'ADN viral, permet au génome d'EBV d'être maintenu dans la cellule B et assure ainsi la stabilité du nombre de copies au cours des divisions cellulaires successives. Le génome viral se maintient en général sous forme extra-chromosomique circulaire (épisode) en plusieurs copies ; il s'intègre rarement dans un chromosome cellulaire^[12].

Les ARN non codants EBER sont impliqués dans l'oncogenèse et dans la résistance à l'apoptose. Enfin, les micro-ARN (miARN) viraux permettent au virus d'échapper à l'immunité de l'hôte et de persister sous forme latente. Ils favoriseraient également la croissance cellulaire^[10].

■ Histoire naturelle et physiopathologie du virus d'Epstein-Barr

L'histoire naturelle de l'EBV est représentée en Figure 2 avec les différentes étapes de l'infection, la primo-infection, l'établissement de la latence, la persistance et la réactivation de l'EBV. Le cycle lytique décrit plus haut existe in vivo dans les lymphocytes B naîfs nouvellement infectés et les plasmocytes infectés par l'EBV qui recirculent au niveau des tissus lymphoïdes. Si l'infection des cellules épithéliales de l'oropharynx paraît indispensable pour la production de nombreux virions qui sont excrétés dans la salive lors de la primo-infection et de la persistance, l'existence d'une réplication virale massive dans ces cellules est plus controversée [13, 14].

Une fois infectés, les lymphocytes B sont activés par le virus et expriment le programme de croissance avec la production des ARN et des neuf protéines de latence (latence de type III) (Tableau 2). Une partie de ces lymphocytes donne naissance à une population de cellules « immortalisées » qu'on appelle lymphoblastes et qui va proliférer indéfiniment. In vitro, cette population porte le nom de lignée lymphoblastoïde. Certaines protéines du cycle lytique dont les protéines transactivatrices ZEBRA et Rta sont importantes pour l'établissement de la persistance virale (cf. infra) [15, 16].

L'expression des protéines du cycle lytique et de la latence induit une forte réaction immunitaire avec l'activation des cellules *natural killer* (NK) et l'expansion des cellules T CD4⁺ et CD8⁺. Le nombre de lymphocytes T CD8⁺ spécifiques de l'EBV augmente de cinq à dix fois dans le sang périphérique. Ces lymphocytes sont principalement dirigés contre les antigènes du cycle lytique mais également contre les protéines de latence. La réponse des lymphocytes T CD4⁺ est moins importante en nombre mais est dirigée contre un répertoire plus large d'antigènes viraux, avec une réponse aux antigènes de latence supérieure à la réponse aux antigènes du cycle lytique. L'activation des lymphocytes T CD8⁺ et NK aboutit à l'augmentation de l'activité cytotoxique de ceux-ci, mais aussi à l'augmentation du taux sérique de cytokines pro-inflammatoires et immunorégulatrices (interféron [IFN]- γ , *tumor necrosis factor* [TNF], interleukine [IL]-6, IL-10 et TGF- β) [17, 18]. Les anticorps dirigés contre les antigènes du cycle productif apparaissent également très tôt lors de cette primo-infection aiguë mais ne servent sans doute pas à contrôler l'infection dès ce stade. Parallèlement à l'immunité adaptative, l'immunité innée est également impliquée dans la réponse anti-EBV. Les cellules NK activées par les protéines de l'EBV exprimées à la surface des cellules B infectées réduisent la prolifération de ces lymphocytes B transformés. Toutes ces réponses immunitaires permettent le contrôle de l'infection. Une petite quantité de cellules T mémoires tissulaires et sanguines persistent et permettent une surveillance immunitaire continue vis-à-vis de l'EBV [19].

Le virus a cependant développé des stratégies d'évasion à la surveillance immunitaire de l'hôte. Par exemple, l'EBV code deux « immunoévasines », la protéine BCRF1 qui est un l'IL-10 virale, homologue de l'IL-10 humaine, et la protéine BPLF1 (deubiquitine/neddylase) qui sont exprimées pendant la phase tardive du cycle lytique. Cette évasion est une étape cruciale dans la pathogenèse virale [20].

Enfin, il faut aussi prendre en compte, dans l'établissement de la latence et la persistance de l'EBV, certains facteurs épigénétiques et la capacité du transactivateur viral ZEBRA à se fixer préférentiellement sur les promoteurs méthylés. Dans les cellules supportant une infection lytique, le génome de l'EBV est non méthylé, empêchant l'action transactivatrice de ZEBRA qui peut alors participer à l'établissement de la latence et à la protection du virus contre le système immunitaire. Durant l'établissement de la latence, le génome viral est progressivement méthylé. Une fois la latence établie, le génome de l'EBV est fortement méthylé et ZEBRA peut se fixer sur le promoteur de Rta, l'activer et engager le cycle lytique et la production de nouveaux virions [15, 16].

Les lymphocytes B infectés migrent ensuite au niveau du centre germinatif. Le cycle de latence est alors restreint à quatre pro-

téines (EBNA-1, LMP-1, LMP-2A et B) ainsi que les ARN EBER et les miARN, ce qui représente le programme de latence de type II ou programme par défaut. Ils accèdent enfin au pool de cellules B mémoires, dans lequel l'EBV persiste sur un programme de latence type 0/I ou seule l'expression des EBER et des miARN $\pm$ la protéine EBNA-1 persiste. On peut considérer que ces programmes de latence représentent des états « pré-malins » des lymphomes puisque le lymphome de Burkitt exprime la latence I, le lymphome de Hodgkin, la latence II, et les lymphomes post-transplantation et une partie des lymphomes diffus à grandes cellules expriment la latence de type III (Fig. 2) [10, 21].

Le sujet immunocompétent maintient un équilibre remarquable entre la prolifération des lymphocytes B infectés de façon latente et la réponse immunitaire. Chez un adulte sain, un à 50 lymphocytes sur un million sont alors infectés par l'EBV. En cas d'altération de la réponse immunitaire cellulaire, l'équilibre se rompt et permet alors l'expansion des lymphocytes exprimant le programme de croissance. La prolifération des lymphocytes immortalisés peut permettre l'apparition d'altérations génétiques secondaires. Cette lymphoprolifération non contrôlée associée ou non à ces altérations est à l'origine des lymphomes (Fig. 3) [12].

Tout au long de sa persistance, l'EBV se réactive périodiquement sans conséquences cliniques pour son hôte. Cette réactivation intervient à partir de la latence 0/I, dans les cellules B infectées par EBV qui, stimulées, se différencient en plasmocytes qui produisent la protéine ZEBRA. Dans ces cellules où le génome viral est extensivement méthylé, ZEBRA, en coopération avec Rta, initie la production de particules virales infectieuses. Les plasmocytes recirculent au niveau de l'oropharynx. L'infection basolatérale des cellules épithéliales de la muqueuse par le virus libéré par les plasmocytes pourrait conduire à un cycle de réplication supplémentaire pour une excrétion d'EBV plus efficace dans la salive [10].

La réactivation de l'EBV intervient en dehors de toute immunosuppression mais la production de virions peut être plus fréquente et plus abondante si la réponse immunitaire est déficiente. Le patient immunodéprimé subit donc à la fois une réactivation virale répliquative et une prolifération lymphocytaire B qui peuvent évoluer en synergie.

“ Point fort

- L'EBV est un virus transmis par voie salivaire qui infecte plus de 95 % de la population.
- L'EBV est un virus persistant qui possède un pouvoir transformant.
- L'EBV a deux modes d'infection : l'infection lytique et l'infection latente. Dans la latence, il existe quatre profils d'expression dont certains sont caractéristiques dans les cancers liés à l'EBV.
- Le passage de l'infection latente à l'infection lytique est sous la dépendance des facteurs de transcription viraux ZEBRA et Rta.
- Le pouvoir pathogène de l'EBV dépend de la réponse immunitaire de l'hôte.

■ Pathologies associées au virus d'Epstein-Barr

Mononucléose Infectieuse

Transmission, épidémiologie et données cliniques

La MNI est la forme symptomatique de la primo-infection à EBV [22]. Cette primo-infection est principalement asymptomatique chez le jeune enfant mais plus l'enfant rencontre tardivement le virus, plus le risque de développer une MNI est important [23]. Les cas de MNI sont donc surtout observés dans

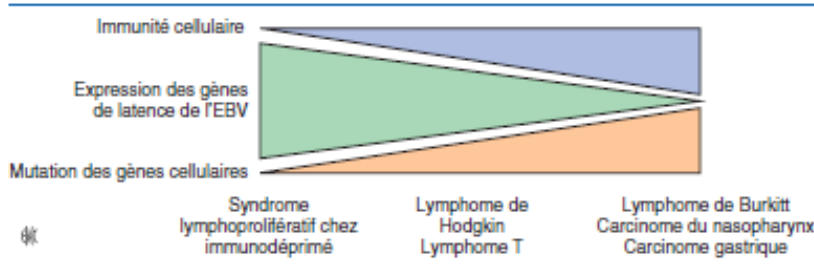


Figure 3. Modèle d'oncogenèse du virus d'Epstein-Barr (EBV) (d'après [21]).

les pays à niveau socio-économique élevé chez les adolescents ou les jeunes adultes, toujours séronégatifs pour l'EBV. À ces âges, la transmission se fait principalement par l'échange direct de salive lors du baiser et aboutit à une MNI dans 25 à 79 % des cas [24-26]. Les individus « post-convalescents » de MNI qui excrètent une grande quantité de virions infectieux dans leur salive pourraient être les principales sources de contamination entre adolescents ou adultes jeunes plutôt que les personnes anciennement infectées chez qui les réactivations sont rares et associées à une faible production de virions [27]. Outre la transmission salivaire, le virus peut être transmis par les greffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) ou d'organe. La transmission materno-fœtale est rare, peu documentée et sans risque pour le fœtus. La transmission sexuelle est difficile à évaluer mais semble possible [28]. Les symptômes de la MNI surviennent 30 à 50 jours après la transmission salivaire et durent habituellement 2 à 6 semaines (durée variable selon les symptômes considérés). On observe classiquement une fatigue intense, une fièvre, une angine (érythémateuse ou à fausses membranes) et/ou une rhinopharyngite, ainsi que des adénopathies et une splénomégalie.

Sur le plan biologique, le syndrome mononucléotique associe une lymphocytose et la présence de plus de 10 % de cellules mononuclées sanguines de grande taille, atypiques, hyperbasophiles (lymphocytes T activés anti-EBV). Une cytolysé hépatique modérée peut également être observée.

Dans une étude américaine en 2010, l'incidence annuelle de la MNI a été estimée à environ 500 cas pour 100 000 habitants avec un pic chez les sujets âgés de 15 à 24 ans. Des études anglaises (1971, 2010) ont montré que la MNI affectait annuellement entre 1 et 5 % de la population étudiante. En France, en 1990, l'incidence des MNI vues par les généralistes français a été estimée entre 29 000 et 114 000 cas. Il ne semble pas exister de cycle saisonnier, ni annuel, ni de cas groupés de cette maladie [28-31].

La MNI est une maladie le plus souvent non grave, avec une évolution favorable en moins de 1 mois, mais il existe des formes moins bénignes. D'une part, 10 à 20 % des patients peuvent présenter une symptomatologie initiale marquée, avec une asthénie extrême, une dysphagie empêchant transitoirement l'alimentation, ou des anomalies hépatiques ou hématologiques. D'autre part, des complications graves, voire potentiellement mortelles, peuvent survenir. Outre les exceptionnelles obstructions respiratoires qui peuvent compromettre le pronostic vital et qui vont aboutir à une amygdalotomie en urgence, il peut s'agir d'encéphalites ou d'encéphalomyélite, d'hépatite sévère, et surtout du redoutable syndrome d'activation macrophagique [32]. Ces complications sont estimées à 1 % des MNI. La rupture de rate, bien que redoutée, reste très rare et surtout est observée au cours de traumatisme chez les sujets sportifs. C'est la raison pour laquelle il est interdit de réaliser des sports violents pendant toute la période de convalescence [23]. La fatigue post-MNI est une complication particulière et invalidante. Cette fatigue persiste au-delà de 1 mois après le début de la MNI chez 28 % des patients et au-delà de 6 mois dans 13 % des cas. Certains patients décrivent une fatigue pouvant durer plusieurs années. Cette fatigue est souvent associée à des symptômes non spécifiques comme des myalgies, des troubles de la concentration et du sommeil qui peuvent interférer de manière importante avec le quotidien des patients [30]. Quelques études ont montré que l'administration d'antiviraux pouvait permettre d'améliorer ces symptômes mais restent anecdotiques [33, 34].

Une modification de l'épidémiologie de la MNI a été observée dans les pays industrialisés à partir des années 2000, avec des arguments pour une augmentation des formes compliquées [35-39]. Cette modification serait due à un recul de l'âge de la primo-infection à EBV [40]. Ces infections plus tardives entraîneraient une fréquence plus importante des MNI et, par voie de conséquence, une augmentation du nombre de formes graves de la maladie.

Enfin, avec l'augmentation du nombre de MNI, il serait possible d'assister à une augmentation de la fréquence de certaines maladies telles que la sclérose en plaques ou le lymphome de Hodgkin. En effet, des études épidémiologiques ont montré que la mononucléose infectieuse pouvait être associée à un risque 2,6 fois plus élevé de développer une sclérose en plaques [41]. La MNI a également été associée à un risque accru de lymphome de Hodgkin EBV positif mais pas de lymphome de Hodgkin EBV négatif. Ce risque serait élevé dans les 5 années suivant la MNI avec un pic à 3 ans. Il est particulièrement prononcé chez les jeunes adultes [42]. La MNI pourrait donc être un facteur favorisant le développement ultérieur de la sclérose en plaques et de lymphome de Hodgkin mais il n'est pas exclu que la MNI, la sclérose en plaques et le lymphome de Hodgkin soient des maladies survenant sur les mêmes terrains génétiques et immunologiques.

Données physio-pathologiques, immunologiques et formes graves

Il est peu probable que les symptômes de la MNI soient dus à l'action directe du virus. Certaines études ont cependant montré que l'intensité des symptômes de la MNI pouvait être corrélée à une élévation de la charge virale dans le sang total (contrairement à la salive) [43] mais ceci reste controversé [44, 45]. En revanche, il est admis que les symptômes sont principalement dus à la réponse lymphocytaire T CD8. Il a en effet été observé que les patients symptomatiques avaient une réponse immunitaire T CD8+ anti-EBV beaucoup plus forte que les patients asymptomatiques [19]. L'activation de ces lymphocytes est responsable du syndrome mononucléotique observé dans la MNI. Elle entraîne la lyse des lymphocytes B infectés et une réponse cytokinique, avec sécrétion importante d'IFN-gamma et de TNF-alpha qui serait à l'origine des symptômes généraux. L'activation des cellules NK aurait aussi un rôle important dans l'intensité des symptômes de MNI.

La plus grande fréquence des symptômes chez l'adolescent par rapport à celle des enfants peut être expliquée par le concept de l'immunité hétérologue et des réactivités croisées [46, 47]. En effet, les enfants ont une réserve plus importante de lymphocytes T naïfs – capables de contrôler rapidement l'infection virale – que les adultes. Par ailleurs, le pool de cellules T mémoires est saturé chez l'adulte à cause des précédentes expositions de l'individu à différents agents pathogènes au cours de sa vie. L'organisme sollicite alors les lymphocytes T hétérologues (déjà stimulés), ce qui aboutit à une réponse inflammatoire plus forte, responsable des symptômes de la MNI. Enfin, la gravité des symptômes de la MNI serait également associée à l'existence d'une réactivité croisée des cellules T vis-à-vis de l'EBV et d'autres agents pathogènes dont le virus de la grippe A [47].

La réponse humorale est moins sollicitée. Elle est à l'origine de la production d'anticorps spécifiques du virus mais aussi d'anticorps non dirigés contre les antigènes de l'EBV. Ces anticorps non spécifiques n'apparaissent que dans les cas de MNI. En effet, l'hyperstimulation du système immunitaire conduit à une

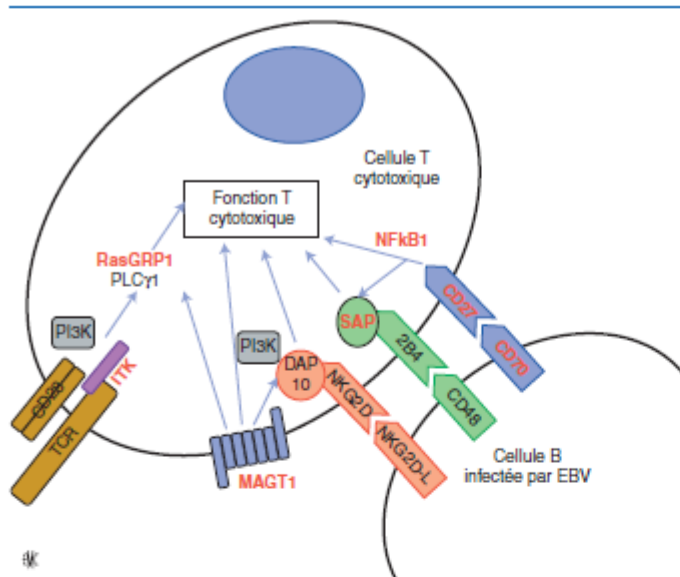


Figure 4. Voies de signalisation responsables de l'immunité cellulaire spécifique du virus d'Epstein-Barr (EBV). En rouge, les gènes qui, lorsqu'ils sont mutés, sont responsables d'une plus grande gravité des infections par l'EBV : SAP/SH2D1A, MAGT1, ITK, CD27, CD70, nuclear factor kappa b subunit 1 (NFκB1) et RasGRP1 (d'après [19]).

activation de lymphocytes B non spécifiques qui produisent des immunoglobulines M (IgM) appelées anticorps hétérophiles [48]. Les anticorps hétérophiles reconnaissent des antigènes d'hématies animales et leur détection est utilisée à des fins diagnostiques (MNI-test). Les anticorps spécifiques du virus auraient, quant à eux, plutôt un rôle pour contrôler la gravité de la maladie que l'infection elle-même. C'est en tout cas ce que suggèrent les premiers essais vaccinaux qui permettent de protéger contre la MNI mais ne permettent pas de prévenir l'infection [49].

En l'absence des réponses immunitaires cellulaires et, dans une moindre mesure humorale, les lymphocytes B infectés proliféreraient à l'infini et seraient à l'origine des syndromes lymphoprolifératifs qu'on peut observer dans certaines MNI graves comme le syndrome de Purtilo ou l'infection chronique active à EBV. Les MNI graves surviennent habituellement sur des terrains génétiques particuliers sur le plan immunitaire (Fig. 4) [19, 50]. Actuellement, on ne considère pas que ces formes graves soient associées à des variants particuliers de l'EBV.

Le syndrome de Purtilo peut être rencontré sous d'autres noms comme « maladie de Duncan » ou « syndrome lymphoprolifératif lié à l'X ». Il est dû à une mutation du gène *SH2D1A* qui code la *signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) associated protein* impliquée dans l'activation des lymphocytes T cytotoxiques. L'absence d'expansion des lymphocytes T et NK peut être à l'origine d'un syndrome lymphoprolifératif non contrôlé et le défaut de fonction de ces lymphocytes peut aboutir à un syndrome d'activation macrophagique [52]. Le syndrome de Purtilo est fatal dans environ 60 % des cas [50-52].

L'infection chronique active à EBV (CAEBV) est une forme grave et exceptionnelle de la MNI aiguë [53, 54]. Cette situation clinique est associée à des lymphoproliférations T CD8 et NK. Le pronostic clinique est mauvais. Cette maladie est surtout retrouvée en Asie, ce qui fait suspecter une prédisposition génétique. On suspecte une CAEBV devant des symptômes de MNI persistants et une charge virale sanguine très élevée.

Le Tableau 3 résume les connaissances actuelles des évolutions graves de la MNI [7].

Diagnostic virologique de la mononucléose infectieuse

Devant un tableau clinique évocateur associé à un syndrome mononucléosique, une enquête étiologique doit être réalisée pour affirmer le diagnostic de primo-infection à EBV et éliminer les

diagnostics différentiels classiques : primo-infection à cytomégalo-virus (CMV), virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou toxoplasmose. Le diagnostic virologique de la MNI repose sur la sérologie spécifique à EBV [23].

Historiquement, le diagnostic de la MNI était réalisé par la détection seule des anticorps hétérophiles par des tests rapides (MNI-tests). Aujourd'hui, le diagnostic de la MNI se fonde principalement sur la sérologie spécifique de l'EBV et le MNI-test est utilisé, en complément, devant des résultats de sérologie difficiles à interpréter.

Ces anticorps de type IgM sont dits « hétérophiles » car ils reconnaissent des antigènes d'hématies animales. Bien que non dirigés contre les antigènes de l'EBV, ils n'apparaissent que dans la MNI. On les détecte en général en même temps que les symptômes ou parfois de manière un peu retardée. Ils peuvent persister jusqu'à 3 mois après le début de la MNI (Fig. 5). L'absence d'anticorps hétérophiles n'élimine pas le diagnostic de MNI car la sensibilité de ce test est globalement faible, autour de 85 % et même inférieure à 50 % chez l'enfant de moins de 6 ans et chez l'adulte au-delà de 50 ans. Bien que très spécifique (spécificité supérieure à 95 %), le MNI-test ne doit être utilisé qu'en présence des signes cliniques et biologiques évocateurs. En effet, des cas de primo-infection à VIH avec MNI-test positif ont été rapportés [55]. Cela explique aussi que la sérologie spécifique de l'EBV est indispensable.

Cette sérologie doit comporter la recherche simultanée de plusieurs marqueurs, ce qui va permettre d'établir des profils sérologiques caractéristiques d'une infection aiguë ou d'une infection ancienne. Les trois marqueurs le plus souvent utilisés dans ce but sont les IgM et IgG anti-viral capsid antigen (VCA) et les IgG anti-EBNA-1.

La primo-infection récente se caractérise par la présence d'IgM anti-VCA, avec des IgG anti-VCA, mais toujours en l'absence d'IgG anti-EBNA-1 qui, eux, n'apparaissent que 2 à 3 mois après le début des symptômes. Les IgG anti-VCA peuvent être absentes à la phase précoce des symptômes. Les IgM anti-VCA, comme les anticorps hétérophiles, persistent 2 à 3 mois après le début des symptômes mais peuvent être détectables plus longtemps. Les IgG anti-VCA persistent toute la vie et sont les meilleurs indicateurs d'une « immunité » ancienne anti-EBV (Fig. 5) (Tableau 4).

L'infection ancienne est définie le plus souvent par la présence d'IgG anti-VCA sans IgM anti-VCA combinée à la présence d'IgG anti-EBNA-1. Toutefois, il faut savoir que chez 3 à 5 % des individus immunocompétents, les IgG anti-EBNA-1 n'apparaissent pas après la primo-infection ou persistent à des titres très faibles. De

Tableau 3.
Mononucléoses Infectieuses (MNI) à évolution grave et compliquée (d'après [7]).

	Infection chronique active à EBV (CAEBV)	Syndrome de Purtilo	Syndrome d'activation macrophagique lié à l'EBV
Autres dénominations	Mononucléose infectieuse chronique	Syndrome lymphoprolifératif lié à l'X Maladie de Duncan	Syndrome hémophagocytaire 7 Lymphohistiocytose hémophagocytaire
Fréquence	Très rare dans les pays occidentaux Décrite essentiellement au Japon (82 cas recensés en 2003)	1/1 000 000	Estimé à 51 cas par an au Japon en 1994 Un enfant pour 1 000 000 en Suède
Anomalie génétique	Mutations des gènes <i>JAK3</i> , <i>PRF1</i> et <i>STXB2</i> décrites mais non spécifiquement associées	Mutation du gène <i>SH2D1A</i> ou <i>XIAP</i> sur le chromosome X	Pas nécessaire
Physiopathologie	Prolifération des cellules NK et/ou T infectées par l'EBV	Absence de transduction des signaux induits par les récepteurs à la surface des cellules T et NK lors de la primo-infection à EBV	Activation macrophagique incontrôlée et augmentation de la fonction TH1 des lymphocytes T
Aspects cliniques	Symptômes de MNI intenses et persistants Syndrome d'activation macrophagique Lymphome T Évolution souvent fatale	Atteint le garçon uniquement MNI tôt dans l'enfance ± SAM, fatale dans 60 % des cas Hypo-gamma-globulinémie Lymphome malin non hodgkinien	Fièvre Polyadénopathies Hépatosplénomégalie Bicytopénie ou pancytopénie
Diagnostic	Charge virale EBV élevée dans le sang et les tissus Titres IgG anti-VCA et anti-EA élevés avec IgG anti-EBNA positifs ou absents Infiltrats tissulaires de lymphocytes EBV positifs	Mise en évidence de la mutation génétique Charge virale EBV élevée Sérologie EBV souvent négative au début de la MNI	Hémophagocytose (cytologie) Hypertriglycémie, hyperferritinémie, hypofibrinogénémie Charge virale EBV élevée dans le sang
Prise en charge	Greffe de cellules souches hématopoïétiques Thymoglobulines ? Alemtuzumab ? Anti-anticorps monoclonaux CCR4 ? CTL anti-EBV ? Traitement du SAM ou du lymphome	Greffe de cellules souches hématopoïétiques : curatif ou préventif Traitement du SAM ou du lymphome ou de la dysglobulinémie	Étoposide + corticostéroïdes ± ciclosporine Anticorps anti-CD20 ± antiviraux ? Immunoglobulines intraveineuses ? Greffe de cellules souches hématopoïétiques

MNI : mononucléose infectieuse ; AcM : anticorps monoclonal ; SAM : syndrome d'activation macrophagique ; EBV : virus d'Epstein-Barr ; CAEBV : infection chronique active à EBV ; NK : natural killer ; SAM : syndrome d'activation macrophagique ; IgG : immunoglobulines G ; VCA : viral capsid antigen ; EA : early antigen ; EBNA : Epstein-Barr nuclear antigen ; IF : immunofluorescence ; Elisa : enzyme-linked Immunosorbent assay.

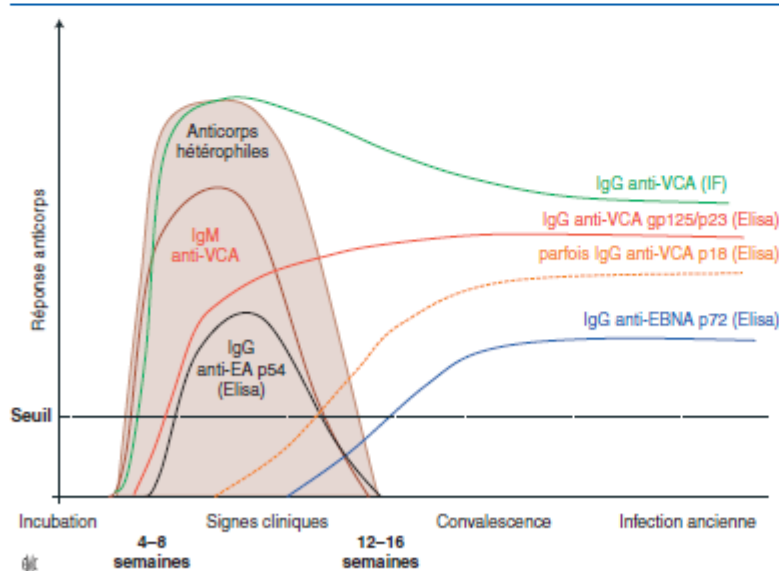


Figure 5. Cinétique des anticorps anti-virus d'Epstein-Barr (EBV) au cours de la mononucléose infectieuse aiguë non compliquée. Ig : immunoglobulines ; VCA : viral capsid antigen ; EA : early antigen ; EBNA : Epstein-Barr nuclear antigen ; IF : immunofluorescence ; Elisa : enzyme-linked Immunosorbent assay.

Tableau 4. Interprétation des marqueurs sérologiques de l'infection à Epstein-Barr virus.

IgG anti-VCA	IgM anti-VCA	IgG anti-EBNA	Interprétation
-	-	-	Séronégatif
+	+	-	Primo-infection
-	+	-	Primo-infection
+	-	+	Infection ancienne
+	-	-	Infection ancienne
+	+	+	Indéterminé
-	+	+	Indéterminé
-	-	+	Indéterminé

Ig : immunoglobuline ; VCA : viral capsid antigen ; EBNA : Epstein-Barr nuclear antigen.

même, on ne détecte pas les IgG anti-EBNA-1 chez 10 à 20 % des malades immunodéprimés. Ce profil sérologique « déséquilibré » n'est pas relié à des symptômes ou à des risques particuliers.

En dehors de ces profils sérologiques classiques, il existe des profils atypiques ou indéterminés ne permettant pas toujours de trancher entre une infection aiguë et une infection ancienne. Pour résoudre ces cas difficiles, il est important de connaître le contexte clinique (âge, symptômes), de réaliser un suivi sérologique quand il est possible, d'étudier d'autres marqueurs que les Ig anti-VCA et les IgG anti-EBNA-1 et, enfin, d'utiliser d'autres techniques (immunofluorescence ou immunoblot).

L'utilisation de méthodes moléculaires reste exceptionnelle dans le diagnostic de certitude d'une MNI. La *polymerase chain reaction* (PCR) EBV dans le sérum, toujours positive dans les 7 premiers jours d'une MNI et jamais après le 15^e jour, permet de trancher en faveur ou en défaveur d'une MNI récente. La PCR dans la salive, dont les résultats sont souvent supérieurs à un million de copies/ml pendant les 6 premiers mois post-MNI, peut également être utile en cas de doute sur une infection récente [27]. Cependant, des charges virales salivaires élevées sont également retrouvées dans les réactivations chez l'immunodéprimé. La PCR EBV dans le liquide cébrospinal (LCS) est souvent informative dans les complications neurologiques de la MNI. Dans les greffes d'organes (donneur EBV positif/receveur EBV négatif) ou de cellules souches hématopoïétiques, comme il peut exister un retard important d'apparition des anticorps en cas de primo-infection, la PCR EBV dans le sang total permet alors le diagnostic de primo-infection bien avant la séroconversion.

Prise en charge et prévention de la mononucléose infectieuse

Malgré une inhibition *in vitro* de la réplication de l'EBV par les inhibiteurs des ADN-polymérase des herpèsvirus (aciclovir, valaciclovir, ganciclovir, valganciclovir, cidofovir, foscarnet), il n'existe pas de traitement antiviral efficace de la MNI. Certains auteurs pensent qu'il est inutile d'en chercher puisque les principaux symptômes de la MNI sont liés à la réaction immunitaire. Leur avis s'appuie également sur des études cliniques où l'aciclovir, bien que diminuant la production virale dans l'oropharynx des patients atteints de MNI, n'a pas démontré de bénéfice clinique incontestable sur la symptomatologie de cette maladie [56].

Les approches vaccinales sont peu nombreuses. La plupart des vaccins prophylactiques contre l'EBV utilisent la protéine gp350 comme immunogène. Cette glycoprotéine d'enveloppe du cycle lytique de l'EBV est très conservée et elle est une des principales cibles de l'immunité naturelle [57]. Les essais cliniques ont montré l'induction d'anticorps neutralisants contre la gp350 chez le sujet vacciné sans pour autant diminuer l'infection. En revanche, la plupart de ces essais ont montré une diminution du nombre de MNI ou une diminution des symptômes [58, 59].

Dans l'attente de traitements préventifs ou curatifs efficaces, la prise en charge de la MNI est actuellement symptomatique : anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), pas d'antibiothérapie (car certains antibiotiques administrés intempestivement lors de

la MNI provoquent des éruptions généralisées). On conseille le repos, sans toutefois interdire une activité physique modérée. À cause du risque de rupture de rate qui survient en général au cours des 3 semaines suivant le début de la MNI, les sports de contact sont proscrits pendant le premier mois. Les corticostéroïdes (avec ou sans antiviraux associés) sont actuellement proposés dans certaines complications : obstructions respiratoires, troubles hématologiques auto-immuns, syndrome d'activation macrophagique et, parfois, manifestations neurologiques.

“ Point fort

- Le diagnostic de la MNI repose sur la sérologie.
- Le traitement d'une MNI est purement symptomatique.
- La fatigue post-MNI est la principale complication de cette maladie.
- La prise en charge des complications graves (syndrome d'activation macrophagique, infection chronique active) nécessite des moyens spécialisés.
- Il faut encourager la recherche :
 - pour trouver des stratégies thérapeutiques ou préventives efficaces ;
 - pour comprendre les mécanismes associés à la fatigue post-MNI ;
 - pour étudier les modifications épidémiologiques de la MNI et ses relations avec la maladie de Hodgkin ou la sclérose en plaques.

Cancers associés au virus d'Epstein-Barr

(Tableau 5)

L'infection par l'EBV est associée à plusieurs types de cancers qui se développent aux dépens des cellules lymphoïdes ou épithéliales. Les profils d'expression des protéines de latence de l'EBV diffèrent selon les cancers (Tableaux 2, 5). À part pour certains d'entre eux (carcinome indifférencié de nasopharynx, lymphomes T/NK et lymphomes cérébraux primitifs du patient VIH), l'association à l'EBV n'est pas systématique et est évaluée par la présence du génome viral à l'état clonal dans les cellules malignes, et l'expression de protéines virales LMP-1 et EBNA-1 et des ARN non codants EBEB. Même quand il est présent dans 100 % des cas, l'EBV n'est généralement pas un élément suffisant pour provoquer le cancer qui implique, la plupart du temps, d'autres co-facteurs endogènes et/ou exogènes.

Cancers épithéliaux ou carcinomes

Deux cancers épithéliaux ont été associés à l'EBV : les carcinomes indifférenciés du nasopharynx (*nasopharyngeal carcinoma* [NPC]) dans lesquels le génome de l'EBV est détecté dans les cellules tumorales dans 100 % des cas et dans les carcinomes gastriques dont seules 10 % des biopsies contiennent de l'ADN de l'EBV [60, 61]. Le NPC est endémique du sud de la Chine et de l'Asie du Sud-Est avec une incidence pouvant atteindre 80 cas pour 100 000 habitants par an. Son incidence est également élevée dans les populations d'Afrique du Nord, ainsi que dans les populations inuits d'Alaska et du Canada. Au contraire, le carcinome gastrique associé à l'EBV aurait une prévalence plus élevée en Amérique qu'en Asie [62]. La distribution particulière du NPC s'explique actuellement par une susceptibilité génétique particulière associée à des facteurs environnementaux : habitudes alimentaires ou culturelles (méthodes de conservation du poisson, herbes médicinales en Chine, méthodes de conservation de la viande et assaisonnements en Afrique du Nord).

Du point de vue histologique, le NPC est caractérisé par des cellules carcinomateuses indifférenciées associées à un important infiltrat lymphocytaire majoritairement de type T et un stroma

Tableau 5.
Maladies malignes associées au virus d'Epstein-Barr (EBV) (d'après [7]).

Cancers	Latence	Association à l'EBV	Répartition (co-facteurs)
Lymphomes			
Lymphoproliférations post-transplantation	Type III	> 90 %	Pays industrialisés (greffe)
Lymphomes du patient infecté par le VIH	Type III		
- Cérébraux primitifs		100 %	Mondiale
- Autres		40 %	Mondiale
Lymphome de Hodgkin	Type II	40 % (VIH : 90 %)	Mondiale
Lymphome de Burkitt	Type I		
- Endémique		> 95 %	Afrique tropicale (paludisme)
- Sporadique		20 % (VIH : 40 %)	Mondiale
Lymphome T ou NK	Type II	100 %	Plus fréquente en Asie
Carcinomes et autres maladies malignes			
Carcinome indifférencié du cavum	Type II	100 %	Asie (génétiques, alimentaires)
Carcinome gastrique (type lymphoépithélial)	Type I	10 %	Mondiale
Léiomyosarcome du sujet immunodéprimé		100 %	

VIH : virus de l'immunodéficience humaine ; NK : *natural killer*.

inflammatoire. La protéine EBNA-1 et les ARN non codants EBER sont constamment présents dans les cellules, contrairement aux protéines LMP (LMP-1, LMP-2A et 2B exprimés dans 50 à 75 % des cas), ce qui correspond à une latence de type II. Devant un diagnostic histologique compliqué ou la découverte d'une métastase isolée, la détection dans les cellules tumorales du génome de l'EBV par PCR quantitative (QPCR), des ARN EBER par hybridation *in situ* ou de la protéine EBNA-1 par immunohistochimie présente un réel intérêt. Il est intéressant de noter que la protéine BARF1 (une immuno-évasine de l'EBV qui interagit avec le *colony stimulating factor 1*) est sélectivement exprimée dans les carcinomes associés à l'EBV, ce qui suggère qu'elle pourrait avoir un rôle important dans la tumorigénèse de ces carcinomes mais également qu'elle pourrait être utilisée dans le diagnostic et avoir un potentiel intérêt en thérapeutique [63].

Comme expliqué précédemment, l'infection par l'EBV n'agit pas seule dans la tumorigénèse. Dans le cas du NPC, l'accumulation de multiples altérations génétiques somatiques serait impliquée dans la persistance de l'infection à EBV et le développement du carcinome [60].

En complément du diagnostic moléculaire et immunohistologique de l'EBV, les marqueurs sérologiques de l'EBV ont montré un intérêt dans le dépistage et le diagnostic des NPC principalement en zone d'endémie. En effet, les titres en IgG et IgA anti-VCA et anti-early antigen (EA) sont très élevés avant l'apparition du cancer clinique. Les titres en IgA anti-VCA et anti-EA permettent en outre de suivre l'efficacité d'un traitement et de prévenir une récurrence. La quantification de l'ADN d'EBV dans le plasma ou le sérum est un autre marqueur précoce de l'apparition d'un NPC [64]. En effet, cet ADN circulant serait relargué par la tumeur lors du processus apoptotique. Enfin, récemment, la détection de certains miARN-BamHI rightward transcripts (BART) dans le plasma de patient a montré son intérêt dans le diagnostic et le pronostic du NPC [65].

Le traitement du NPC repose avant tout sur la radiothérapie avec ou sans chimiothérapie. L'immunothérapie reste d'actualité avec l'injection de lymphocytes T cytotoxiques (CTL) anti-EBV, d'inhibiteurs de point de contrôle (anti-PD1, anti-PD1 ligand) et de *chimeric antigen receptor T* (CAR-T) cells sans avoir encore réellement émergé [64, 66].

Il faut également noter l'existence d'approches vaccinales à visée thérapeutique. L'objectif de ces vaccins étant d'induire une immunité cellulaire contre les cellules cancéreuses dont la prolifération est induite par l'EBV et qui expriment les antigènes EBNA-1 et LMP-2 du cycle de latence de l'EBV [68].

Cancers lymphoïdes : lymphomes et lymphoproliférations

Parmi les cancers lymphoïdes associés à l'EBV, il faut distinguer ceux qui sont étroitement liés à l'immunosuppression, ce sont les lymphoproliférations du patient greffé ou du patient infecté

par le VIH, et ceux qui sont favorisés par l'immunodépression mais qui peuvent survenir chez l'immunocompétent, tels que les lymphomes de Burkitt ou de Hodgkin. Les lymphoproliférations du patient immunodéprimé proviennent de la transformation de cellules B naïves ou mémoires alors que les cellules B de lymphome de Burkitt semblent dériver de centroblastes germinaux, et celles de lymphome de Hodgkin ont des caractéristiques de cellules post-centroblastiques [67] (Fig. 6).

Lymphome de Burkitt

Le lymphome de Burkitt est un lymphome B malin de haut grade, à croissance rapide. Il existe deux formes de lymphome de Burkitt chez l'immunocompétent [68]. La forme endémique est fréquente dans les pays africains équatoriaux et en Papouasie-Nouvelle-Guinée où elle touche surtout les enfants. Elle se localise principalement au niveau de la mâchoire et elle est associée à l'EBV dans plus de 95 % des cas. La forme sporadique qu'on retrouve dans les pays occidentaux est beaucoup plus rare. Elle est principalement localisée au niveau digestif et/ou médullaire et associée à l'EBV dans seulement 20 % des cas. Le lymphome de Burkitt est aussi retrouvé chez l'immunodéprimé (patient infecté par le VIH ou greffé). Dans ce cas, les atteintes sont généralement ganglionnaires et l'EBV est associé au lymphome dans 40 % des cas.

Dans toutes les formes de lymphome de Burkitt, le génome des cellules lymphomateuses est altéré avec la présence des translocations t(8 ; 14), t(2 ; 8), t(8 ; 22). Ces translocations positionnent l'oncogène *c-myc* (chromosome 8) près des gènes de chaînes lourdes des Ig (chromosome 14) ou des chaînes légères (chromosomes 2 ou 22) conduisant à une dérégulation du gène *c-myc*. L'expression anormale de *c-myc* dans les cellules B immortalisées par l'EBV serait à l'origine de la tumorigénicité. En parallèle, l'expression de la latence de type I de l'EBV qui se caractérise par l'expression des protéines EBNA-1 et des EBER protégerait les cellules de la tumeur contre l'apoptose (Fig. 3).

Dans le cas du lymphome de Burkitt endémique, également décrit comme associé au paludisme à *Plasmodium falciparum*, on pense que le parasite participerait à la physiopathologie du lymphome de Burkitt infecté par l'EBV en diminuant le contrôle par les lymphocytes T ou en stimulant une lymphoprolifération B chronique.

Le rôle de l'EBV dans le lymphome de Burkitt reste controversé. La recherche du génome de l'EBV à l'état clonal dans la tumeur et la mesure de la charge virale ne sont pas indispensables pour la prise en charge des lymphomes de Burkitt. Bien qu'une élévation du titre en anticorps anti-VCA et EA ait pu être mise en évidence chez les patients atteints de lymphome de Burkitt, la sérologie n'est pas non plus utilisée en pratique courante.

La chimiothérapie associée à une immunothérapie est le traitement principal du lymphome de Burkitt.

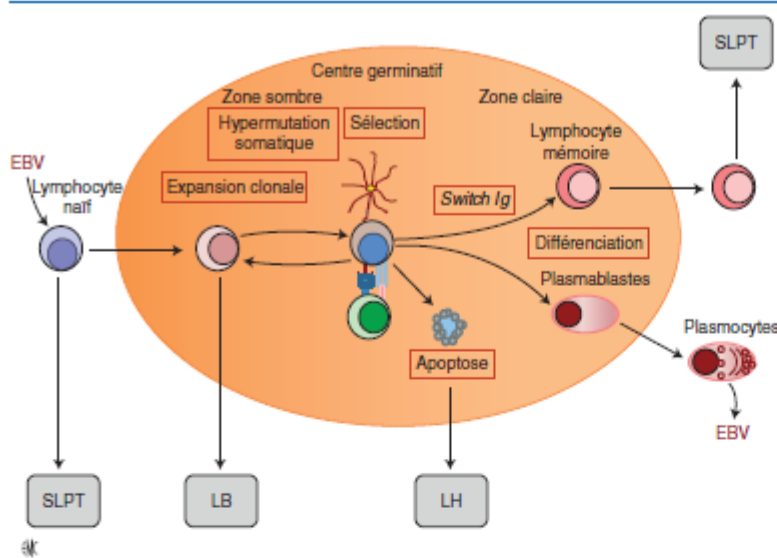


Figure 6. Origine des lymphomes associés au virus d'Epstein-Barr (EBV). L'EBV utilise la physiologie normale du lymphocyte B pour établir son infection et exprimer son pouvoir pathogène. L'infection d'un lymphocyte B naïf ou mémoire induit la lymphoprolifération des cellules infectées à l'origine d'un syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (SLPT) en cas de diminution de l'immunosurveillance. Les lymphoblastes migrent dans le centre germinatif pour être différenciés en cellules B mémoires. Les voies de différenciation au niveau du centre germinatif sont à l'origine de précurseurs malins de lymphome de Hodgkin (LH) ou de lymphome de Burkitt (LB). La différenciation des B mémoires en plasmocytes conduit à la réactivation de l'EBV (d'après [67]). CO = cellules dendritiques.

Lymphome de Hodgkin

Le lymphome de Hodgkin est une prolifération tumorale de cellules B dans laquelle on retrouve des cellules tumorales B dites « de Reed-Sternberg ». Ces cellules particulières ne représentent que 1 à 2 % de la tumeur qui est massivement composée par un infiltrat non tumoral de cellules B, T, macrophages, polynucléaires éosinophiles et fibroblastes. Ici, nous ne parlerons pas du lymphome de Hodgkin dit « nodulaire » qui n'est qu'exceptionnellement associé à l'EBV mais uniquement du lymphome de Hodgkin classique dont on distingue quatre types histologiques selon la nature de l'infiltrat. Les lymphomes de Hodgkin scléronodulaire et à cellularité mixte représentent 90 % des lymphomes de Hodgkin classiques, le lymphome de Hodgkin riche en lymphocytes et le lymphome de Hodgkin lympho-déplété sont moins représentés. Les lymphomes de Hodgkin scléronodulaires qui sont le plus souvent rencontrés dans les pays industrialisés sont associés à l'EBV dans moins de 20 % des cas. Au contraire, les lymphomes de Hodgkin à cellularité mixte majoritairement retrouvés dans les pays en voie de développement sont le plus fréquemment associés à l'EBV avec 80 à 90 % de tumeurs EBV positives [67]. L'âge du sujet rentre également en compte puisque le génome EBV est retrouvé à l'état clonal dans les cellules Reed-Sternberg de l'enfant et du sujet âgé alors qu'il l'est beaucoup moins souvent chez les patients entre 15 et 35 ans. Ces données épidémiologiques ne sont pas en faveur d'une association entre lymphome de Hodgkin et MNI. Pourtant, plusieurs études épidémiologiques dans les pays nordiques ont mis en évidence un lien entre le fait de faire une MNI et la survenue ultérieure d'un lymphome de Hodgkin [42].

Chez les patients infectés par le VIH, l'incidence du lymphome de Hodgkin classique est cinq à vingt fois plus élevée que dans la population générale. Si l'avènement des *highly active antiretroviral therapy* (HAART) a amélioré la survie des patients, elle n'a pas modifié drastiquement cette incidence, ce qui montre que la correction de l'immunodépression n'annule pas complètement le surrisque de lymphome de Hodgkin chez le patient infecté par le VIH. Les ARN EBER de l'EBV sont présents dans les cellules de Reed-Sternberg dans 80 à 90 % des cas. Par conséquent, le lymphome de Hodgkin classique du patient infecté par le VIH peut être considéré comme un lymphome EBV induit [69]. Les lymphomes de Hodgkin survenant dans d'autres contextes d'immunodépression (greffe, déficit immunitaire congénital) sont également la plupart du temps associés à l'EBV.

Le rôle de l'EBV dans l'oncogenèse des lymphomes de Hodgkin n'est pas entièrement élucidé. Le virus s'exprime dans les cellules de Reed-Sternberg sous forme de latence de type 2 avec

la protéine EBNA-1, les ARN EBER et une expression importante des protéines LMP-1 et LMP-2A. Ces deux protéines participent à la croissance tumorale par différents mécanismes, entre autres en protégeant la cellule tumorale de l'apoptose et en induisant un état d'immunosuppression locale empêchant sa reconnaissance par les CTL anti-EBV. Dans les lymphomes de Hodgkin associés à l'EBV, on observe un profil sérologique anti-EBV modifié avec des taux d'IgG anti-VCA généralement plus élevés qui auraient une valeur prédictive de l'apparition du lymphome, ainsi qu'une charge virale EBV augmentée qui aurait une valeur pronostique surtout lorsqu'elle est mesurée dans le plasma. Comme pour le NPC, l'ADN d'EBV détecté dans le plasma provient des cellules apoptotiques de la tumeur [69, 70]. Le traitement consiste en une chimiothérapie suivie d'une radiothérapie dans les formes localisées.

Syndromes lymphoprolifératifs de l'immunodéprimé

La persistance de l'EBV chez l'individu sain résulte de l'équilibre entre la prolifération des lymphocytes B infectés et la réponse immunitaire anti-EBV. En cas d'altération de la réponse cellulaire T, l'équilibre est rompu, ce qui aboutit à une lymphoprolifération EBV-induite incontrôlée. Les patients ayant bénéficié d'une allogreffe de CSH (ACSH) ainsi que les patients transplantés d'organe solide (TOS) sont particulièrement concernés. Chez les patients présentant une infection à VIH à un stade avancé de la maladie et une immunité T CD4⁺ quasi inexistante, l'incidence des lymphomes EBV induits est augmentée. À l'ère de la HAART, leur incidence a fortement diminué bien qu'elle reste encore supérieure à l'incidence chez le patient immunocompétent [71]. Seuls les syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation (SLPT) sont traités ici. Les SLPT sont majoritairement associés à l'EBV (la presque totalité pour les ACSH et 60 à 80 % chez les TOS). Les SLPT dans lesquels l'EBV n'est pas détecté ne sont pas abordés. Ils apparaissent plus tardivement après la greffe, peuvent concerner des lymphocytes B ou T et semblent de plus mauvais pronostic [72].

Physiopathologie. Au cours des SLPT associés à l'EBV, la croissance cellulaire semble principalement induite par le programme de croissance de l'EBV ou latence de type 3 avec l'expression de la totalité des protéines de la latence (antigènes nucléaires EBNA-1, 2, 3A, 3B, 3C, LP et protéines membranaires de latence LMP-1, 2A, 2B), des ARN non codants EBER et des miARN (Tableau 2 et Fig. 3). Certaines protéines du cycle lytique, en particulier ZEBRA, pourraient également jouer un rôle dans la lymphomagenèse. L'infection par l'EBV est un facteur essentiel de l'émergence d'un SLPT mais il n'est pas suffisant. La survenue de ces

Tableau 6.
Classification de l'Organisation mondiale de la santé des syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation (SLPT) (d'après [74]).

Catégorie	Clonalité	Présence de l'EBV
Lésions « précoces » : hyperplasie plasmocytaire, lésions MNI-like	Polyclonal	Toujours
SLPT polymorphes	Monoclonal	Toujours
Monomorphes : lymphome B : <i>diffuse large cell lymphoma</i> , Burkitt	Monoclonal	Fréquent
Lymphome T/NK	Monoclonal	Rare
Lymphome Hodgkin-like	Monoclonal	Fréquent

EBV : virus d'Epstein-Barr ; MNI : mononucléose infectieuse ; NK : *natural killer*.

lymphoproliférations nécessite d'autres étapes encore mal élucidées. Le terrain génétique, le rôle de l'inflammation chronique liée aux transplantations et les caractéristiques des drogues immunosuppressives sont des co-facteurs qui influent probablement sur le développement des SLPT [73]. Les SLPT correspondent dans 80 % des cas à des proliférations des lymphocytes B. Ces proliférations sont caractérisées par un large spectre morphologique, allant de formes précoces polymorphes et polyclonales jusqu'aux formes monomorphes et monoclonales correspondant à des lymphomes (Tableau 6) [74]. Les formes les plus fréquentes étant les formes oligoclonales et polymorphes présentent un phénotype lymphoblastoïde plus que lymphomateux.

Chez les ACSH, les SLPT se développent principalement à partir des lymphocytes B d'un donneur séropositif pour l'EBV (les lymphocytes B du receveur étant détruits lors du conditionnement prégreffe). Chez le TOS, ils se développent souvent à partir des lymphocytes B du receveur à part quand ils siègent dans le greffon où ils sont plutôt issus des lymphocytes B du donneur.

Épidémiologie. L'incidence moyenne du SLPT chez l'ACSH est de 3,2 % mais elle varie de 1,2 à 11,2 % selon la maladie à l'origine de la greffe et le type de greffon (les SLPT après autogreffe étant exceptionnels) [75]. Pour les TOS, l'incidence dépend de l'organe transplanté (32 % > intestin > 12 % > poumon > cœur > foie > pancréas > 3 % > reins > 1 %) [74]. Globalement, l'incidence dépend du type d'immunosuppresseur utilisé, du niveau d'immunosuppression, de l'importance de la déplétion T, de la quantité de tissu lymphoïde dans la greffe, de l'âge du receveur, de l'appariement *human leukocyte antigen* (HLA) et de l'existence d'un traitement antirejet de greffe ou contre la maladie du greffon contre l'hôte. Le principal facteur de risque reste le mésappariement des statuts sérologiques :

- EBV D+/R- où il n'existe aucune défense préalable anti-EBV chez le receveur ;
- EBV D-/R+ chez l'ACSH puisque le conditionnement prégreffe détruit l'immunité anti-EBV du receveur.

Classiquement, les SLPT surviennent dans la première année postgreffe et d'autant plus vite que le nombre de facteurs de risque est élevé. Néanmoins, les SLPT survenant après la première année ne sont pas rares (4 %) et la fréquence de ces SLPT tardifs serait en augmentation. Après 5 ans, les SLPT sont exceptionnels.

Diagnostic et dépistage. Si le dépistage des SLPT est aujourd'hui fondé sur le suivi hebdomadaire de la charge virale EBV, le diagnostic des SLPT est principalement clinique et complété par l'imagerie et l'anatomopathologie. Du point de vue clinique, il peut s'agir d'un tableau de pseudo-MNI (fièvre, fatigue, polyadénopathies, amygdalite), d'un dysfonctionnement du greffon dans les greffes d'organes solides ou de symptômes traduisant la présence d'une tumeur dans un organe. Parfois, les symptômes sont d'emblée graves avec une atteinte polyviscérale mimant un sepsis ou un tableau de maladie du greffon contre l'hôte sévère. L'imagerie permet de mettre en évidence une masse ou du tissu tumoral. L'étude anatomopathologique est indispensable au diagnostic de certitude d'un SLPT. Elle permet une classification du SLPT (Tableau 6) et la localisation de l'EBV par hybridation *in situ* (détection des ARN non codants EBER) ou immunohistochimie (détection de la protéine LMP-1) dans les différents types cellulaires de la lésion. La mesure de la charge virale EBV dans la tumeur n'a pas de valeur diagnostique en elle-même mais peut compléter l'immunohistochimie dans les cas de diagnostic compliqué.

La charge virale EBV sanguine n'a pas d'intérêt dans le diagnostic du SLPT, mais elle est très utile pour le dépistage précoce chez

“ Point fort

Objectifs du diagnostic virologique de l'infection à EBV

- Mettre en évidence une MNI ou une primo-infection à EBV dans un contexte d'infection aiguë.
- Prédire l'émergence d'une lymphoprolifération/lymphome à EBV chez un immunodéprimé ; et suivre l'efficacité de la stratégie thérapeutique choisie.
- Évaluer le statut immunitaire lors des dons d'organes ou de cellules, dans un contexte de transmission d'une souche virale d'un donneur à un receveur (évaluation du statut immunitaire EBV).
- Apporter des arguments étiologiques dans d'autres pathologies tumorales ou dysimmunitaires pouvant être associées à l'EBV.

des patients asymptomatiques et elle est d'autant plus importante que le pronostic de la maladie est meilleur lorsqu'elle est détectée précocement. Dans ce cas, c'est sur la base d'une élévation de la charge virale que seront réalisés les examens de diagnostic complémentaires d'imagerie et d'anatomopathologie et que seront mis en place des mesures de prévention des SLPT (mesures anticipées ou préemptives).

Le suivi de la charge virale EBV n'est pas systématique chez tous les greffés. Il se fonde sur l'existence des facteurs de risque de développer un SLPT (exemples : D+/R-, greffe pulmonaire ou d'intestin, rejet de greffe pour les TOS, D-/R+, type de greffe, réaction du greffon contre l'hôte [GVH] pour le ACHS). Les recommandations européennes et internationales préconisent chez l'ACSH un suivi hebdomadaire par PCR du 1^{er} au 4^e mois qui suit la greffe puisque le risque est minime avant le 1^{er} mois (0,2 %). Pour le TOS, le suivi débute la semaine de la greffe, une à deux fois par mois pendant 1 an. Le suivi peut être renforcé s'il existe plusieurs facteurs de risque ou devant une charge virale EBV élevée ou persistante [74,75]. Certains centres utilisent le suivi de charge virale EBV pour réadapter le traitement immunosuppresseur, ce qui concourt également à la diminution de l'incidence des SLPT.

Les recommandations ne tranchent pas sur la matrice à utiliser pour le suivi de la charge virale EBV. La charge virale EBV dans le sang total semble plus sensible et plus précoce que dans le plasma ou le sérum, mais elle serait moins spécifique de l'apparition d'un SLPT. En cas d'interprétation difficile, l'analyse des deux matrices (sang total + plasma ou sérum) peut présenter un intérêt. En revanche, les recommandations spécifient qu'il faut garder la même matrice et, si possible, le même centre et la même technique pour permettre une comparaison des résultats et apprécier la cinétique de la charge virale EBV. La mise au point d'un échantillon international en 2014 a permis d'améliorer l'homogénéité des résultats entre les laboratoires [76] et, si les recommandations ne font pas encore état de seuils d'intervention thérapeutique, certaines publications en proposent à utiliser dans le plasma (1000 copies/ml) et dans le sang total (5000 copies/ml) pour les ACHS [77].

La charge virale EBV est très utile mais sa valeur prédictive est médiocre. En effet, si la majorité des patients présentant un SLPT ont une charge virale EBV élevée, tous les greffés qui ont une charge virale EBV élevée ne vont pas développer un SLPT. Certains patients ont d'ailleurs des charges virales EBV hautes en permanence (parfois supérieures à 4 log copies/ml). Les cinétiques qui doivent faire suspecter un SLPT sont une augmentation régulière et systématique ou, au contraire, brutale de la charge virale EBV (supérieure à 1 log copies/ml). Pour expliquer cette faible prédictivité, il faut comprendre que la présence de l'ADN d'EBV dans le compartiment sanguin peut être due à une lymphoprolifération B EBV-induite (chaque clone tumoral contenant du génome EBV) mais également à une réactivation du cycle lytique du virus sans lien avec un processus tumoral actif. Devant une charge virale EBV élevée, l'évaluation de la méthylation du génome de l'EBV pourrait être un outil utile, une faible méthylation étant en faveur d'un processus lytique de réactivation et une forte méthylation en faveur d'un processus latent, prolifératif [78, 79]. D'autres marqueurs peuvent compléter la charge virale EBV dans la prise de décision thérapeutique. La quantification de la réponse cellulaire T anti-EBV du patient (technique *enzyme-linked immunospot* [ELISPOT]) en fait partie et, bien qu'il n'existe pas encore de tests commercialisés, certaines publications proposent déjà l'utilisation de scores immunovirologiques (CLIV score) prédictifs [80]. La détection de certains transcrits ou protéines du cycle lytique ou de latence de l'EBV, en particulier la protéine ZEBRA, pourraient avoir un intérêt pour le dépistage précoce d'un SLPT [81], comme pourraient l'être également la détection de miARN (BART) dans le plasma des patients greffés [82, 83].

Prise en charge thérapeutique et préventive. Les stratégies de prise en charge combinent des interventions ciblant les lymphocytes B tumoraux de façon non spécifique avec les polychimiothérapies et/ou la radiothérapie ou de façon plus spécifique avec l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-CD20 (rituximab) et des interventions visant à restaurer la réponse T cytotoxique anti-EBV par réduction de l'immunosuppression ou plus spécifiquement grâce aux CTL anti-EBV autologues [66]. L'utilisation d'antiviraux ([val]aciclovir, [val]ganciclovir) ou d'Ig intraveineuses reste très discutée et il faut retenir que ces options ne doivent, en aucun cas, être utilisées seules [74, 75, 84].

La prise en charge des SLPT diffère selon le type de greffe (SOT ou ACSH) et peut être appliquée dans un but curatif dans un SLPT avéré de manière anticipée (préemptive) en fonction de la charge virale EBV ou de manière prophylactique en fonction de la présence ou non de facteurs de risque de SLPT.

La prophylaxie des SLPT repose principalement sur l'appariement virologique du donneur et du receveur puisque le « mismatch » EBV est le facteur de risque principal. L'utilisation du rituximab en prophylaxie en ACSH est anecdotique et doit être réservée aux patients à haut risque de SLPT du fait d'effets indésirables importants.

Pour le traitement anticipé (devant une charge virale EBV significativement augmentée chez un patient à risque de SLPT), l'option de 1^{re} ligne pour les SOT est la réduction de l'immunosuppression (malgré le risque de rejet qu'elle engendre) et pour les ACSH, le rituximab est l'option de choix.

Devant un SLPT probable ou prouvé, les deux stratégies peuvent être associées. En cas d'échec du rituximab, une chimiothérapie des hémopathies lymphoïdes doit être discutée. L'immunothérapie adoptive qui utilise des CTL anti-EBV du donneur a donné d'excellents résultats en ACSH [85].

L'introduction d'un inhibiteur de *mechanistic target of rapamycin* (mTOR) (qui aurait une activité antivirale mais également antiproliférative) pourrait avoir son intérêt mais ne fait pas encore partie des recommandations officielles [86]. De même, certains experts envisageraient l'utilisation d'antiviraux en complément de la réduction de l'immunosuppression afin de réduire l'infection de novo et le recrutement de lymphocytes B dans la lymphoprolifération.

Devant la difficulté de traiter les SLPT, de nouvelles molécules sont à l'étude comme d'autres anticorps monoclonaux (brentuximab vedotin), des inhibiteurs du protéasome (bortézomib) ou des voies de signalisation. Les inhibiteurs de point de contrôle (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4* [CTLA-4] et *programmed*

death-ligand 1 [PD1]) et les thérapies par lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique (CAR-T) sont également à l'étude [87].

“ Point fort

- Le défaut de la surveillance immunitaire de l'hôte est à l'origine des SPLT associés à l'EBV.
- Le diagnostic de certitude des SPLT est principalement histologique.
- La charge virale sanguine EBV est un marqueur pronostique du syndrome lymphoprolifératif utile dans le suivi du patient greffé mais manquant de spécificité.
- Le traitement préemptif ou curatif des SPLT est fondé sur la restauration de l'immunité (baisse de l'immunosuppression) et sur l'élimination des lymphocytes B qui prolifèrent (anticorps monoclonaux anti-CD20 [rituximab]). L'immunothérapie (CTL anti-EBV) est une stratégie prometteuse mais réservée à des centres spécialisés.

Maladies auto-Immunes et virus d'Epstein-Barr : la controverse

En dehors de la MNI et des maladies malignes, l'EBV semble en outre jouer un rôle dans des maladies inflammatoires et auto-immunes telles que la polyarthrite rhumatoïde, le lupus érythémateux disséminé, le syndrome de Sjögren mais cela reste controversé. Les relations entre l'EBV, la MNI et la sclérose en plaques (SEP) font actuellement l'objet de nombreuses études parfois discordantes [88-91].

Les premiers travaux datent des années 1980. Ils avaient montré que la séroprévalence EBV et les titres anticorps anti-VCA et anti-EBNA-1 étaient plus élevés chez les patients atteints de SEP que dans la population générale. L'élévation des anticorps anti-EBNA-1 serait un facteur prédictif de l'évolution vers la maladie pour Lünemann et al. [92], ce qui n'est pas retrouvé par Ingram et al. [93].

Des travaux ont montré que l'immunité anti-EBV dans le sérum et le LCS était aussi exacerbée [94]. À la lumière de ces résultats, plusieurs études ont recherché la présence de l'EBV dans des échantillons de LCS ou de sang chez les patients atteints de SEP, sans trouver de différence statistiquement significative avec les groupes contrôles [95].

D'autres travaux portant sur des tissus cérébraux prélevés post-mortem chez des patients atteints de SEP ont mis en évidence, dans près de 100 % des cas, la présence, en quantité importante, de cellules B infectées par l'EBV. Dans ce même travail, les follicules méningés formés par les cellules B ectopiques dans certains cas de SEP secondaire progressive ont été identifiés comme site majeur de persistance de l'EBV [96-98].

Enfin, la MNI, elle-même, pourrait être associée à un risque 2,6 fois plus élevé de développer une SEP [41]. La MNI pourrait donc être un facteur favorisant le développement ultérieur de la SEP, mais il n'est pas exclu que la MNI et la SEP soient deux maladies survenant sur les mêmes terrains génétiques et immunologiques.

Déclaration de liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

■ Références

- [1] Baer R, Bankier AT, Biggin MD, Deininger PL, Farrell PJ, Gibson TJ, et al. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein-Barr virus genome. *Nature* 1984;310:207-11.
- [2] de Jesus O, Smith PR, Spender LC, Elgueta Karstegl C, Niller HH, Huang D, et al. Updated Epstein-Barr virus (EBV) DNA sequence and analysis of a promoter for the BART (CST, BARF0) RNAs of EBV. *J Gen Virol* 2003;84:1443-50.

- [3] Dolan A, Addison C, Gatherer D, Davison AJ, McGeoch DJ. The genome of Epstein-Barr virus type 2 strain AG876. *Virology* 2006;350:164-70.
- [4] Chang CM, Yu KJ, Mbulaiteye SM, Hildesheim A, Bhatia K. The extent of genetic diversity of Epstein-Barr virus and its geographic and disease patterns: a need for reappraisal. *Virus Res* 2009;143: 209-21.
- [5] Weiss ER, Lamers SL, Henderson JL, Melnikov A, Somasundaram M, Garber M, et al. Early Epstein-Barr virus genomic diversity and convergence toward the B95-8 genome in primary infection. *J Virol* 2018;92, e01466-17.
- [6] Möhl BS, Chen J, Sathiyamoorthy K, Jardtzyk TS, Longnecker R. Structural and mechanistic insights into the tropism of Epstein-Barr virus. *Mol Cells* 2016;39:286-91.
- [7] Lupo J, Epaillard O, Morand P, Germe R. Le virus d'Epstein-Barr. In: *Traité de virologie médicale*. Société française de microbiologie; 2019:225-37.
- [8] Pfeffer S, Sewer A, Lagos-Quintana M, Sheridan R, Sander C, Grässer FA, et al. Identification of microRNAs of the herpesvirus family. *Nat Methods* 2005;2:269-76.
- [9] Lizasa H, Kim H, Kartika AV, Kanehiro Y, Yoshiyama H. Role of viral and host microRNAs in immune regulation of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Front Immunol* 2020;11:367.
- [10] Münz C. Latency and lytic replication in Epstein-Barr virus-associated oncogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2019;17:691-700.
- [11] De Re V, Caggiari L, De Zorzi M, Fanotto V, Miolo G, Puglisi F, et al. Epstein-Barr virus BART microRNAs in EBV-associated Hodgkin lymphoma and gastric cancer. *Infect Agent Cancer* 2020;15:42.
- [12] Young LS, Yap LF, Murray PG. Epstein-Barr virus: more than 50 years old and still providing surprises. *Nat Rev Cancer* 2016;16:789-802.
- [13] Hudnall SD, Ge Y, Wei L, Yang NP, Wang HQ, Chen T. Distribution and phenotype of Epstein-Barr virus-infected cells in human pharyngeal tonsils. *Mod Pathol* 2005;18:519-27.
- [14] Hadinoto V, Shapiro M, Sun CC, Thorley-Lawson DA. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathog* 2009;5:e1000496.
- [15] Kenney SC, Mertz JE. Regulation of the latent-lytic switch in Epstein-Barr virus. *Semin Cancer Biol* 2014;26:60-8.
- [16] Sinclair AJ. Epigenetic control of Epstein-Barr virus transcription - relevance to viral life cycle? *Front Genet* 2013;4:161.
- [17] Rickinson AB, Long HM, Palendira U, Münz C, Hislop AD. Cellular immune controls over Epstein-Barr virus infection: new lessons from the clinic and the laboratory. *Trends Immunol* 2014;35:159-69.
- [18] Taylor GS, Long HM, Brooks JM, Rickinson AB, Hislop AD. The immunology of Epstein-Barr virus-induced disease. *Annu Rev Immunol* 2015;33:787-821.
- [19] Tangye SG, Palendira U, Edwards ES. Human immunity against EBV-lessons from the clinic. *J Exp Med* 2017;214:269-323.
- [20] McKenzie J, Lopez-Giraldez F, Delcluse HJ, Walsh A, El-Guindy A. The Epstein-Barr virus immunoevasins BCRF1 and BPLF1 are expressed by a mechanism independent of the canonical late pre-initiation complex. *PLoS Pathog* 2016;12:e1006008.
- [21] Rickinson AB, Kieff E. Epstein-Barr virus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2013. p. 2655-700.
- [22] Fafi-Kremer S, Seigneurin JM, Morand P. La mononucléose infectieuse (MNI) « revisitée ». *Virologie* 2007;11:13-26.
- [23] Dunmire SK, Verghese PS, Balfour Jr HH. Primary Epstein-Barr virus infection. *J Clin Virol* 2018;102:84-92.
- [24] Sawyer RN, Evans AS, Niederman JC, McCollum RW. Prospective studies of a group of Yale University freshmen. I. Occurrence of infectious mononucleosis. *J Infect Dis* 1971;123:263-70.
- [25] Balfour Jr HH, Dunmire SK, Hogquist KA. Infectious mononucleosis. *Clin Transl Immunol* 2015;4:e33.
- [26] Grimm JM, Schmeling DO, Dunmire SK, Knight JA, Mullan BD, Ed JA, et al. Prospective studies of infectious mononucleosis in university students. *Clin Transl Immunol* 2016;5:e94.
- [27] Fafi-Kremer S, Morand P, Brion JP, Pavese P, Baccard M, Germe R, et al. Long-term shedding of infectious Epstein-Barr virus after infectious mononucleosis. *J Infect Dis* 2005;191:985-9.
- [28] Crawford DH, Macsween KF, Higgins CD, Thomas R, McAulay K, Williams H, et al. A cohort study among university students: identification of risk factors for Epstein-Barr virus seroconversion and infectious mononucleosis. *Clin Infect Dis* 2006;43:276-82.
- [29] Metre MG, Gladin D, Abramowitz D, Mosnier JM, Cohen A. Incidence de la mononucléose infectieuse diagnostiquée en médecine générale en France. *Bull Epidemiol Hebdom* 1992;(n° 13):57-8.
- [30] Macsween KF, Higgins CD, McAulay KA, Williams H, Harrison N, Swerdlow AJ, et al. Infectious mononucleosis in university students in the United Kingdom: evaluation of the clinical features and consequences of the disease. *Clin Infect Dis* 2010;50:699-706.
- [31] Luzuriaga K, Sullivan JL. Infectious mononucleosis. *N Engl J Med* 2010;362:1993-2000.
- [32] Marsh RA. Epstein-Barr virus and hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Front Immunol* 2018;8:1902.
- [33] Watt T, Oberfoell S, Balise R, Lunn MR, Kar AK, Merrihew L, et al. Response to valganciclovir in chronic fatigue syndrome patients with human herpesvirus 6 and Epstein-Barr virus IgG antibody titers. *J Med Virol* 2012;84:1967-74.
- [34] Montoya JG, Kogelnik AM, Bhargava M, Lunn MR, Flamand L, Merrihew LE, et al. Randomized clinical trial to evaluate the efficacy and safety of valganciclovir in a subset of patients with chronic fatigue syndrome. *J Med Virol* 2013;85:2101-9.
- [35] Morris MC, Edmunds WJ. The changing epidemiology of infectious mononucleosis? *J Infect* 2002;45:107-9.
- [36] Takeuchi K, Tanaka-Taya K, Kazuyama Y, Ito YM, Hashimoto S, Fukayama M, et al. Prevalence of Epstein-Barr virus in Japan: trends and future prediction. *Pathol Int* 2006;56:112-6.
- [37] Tattevin P, Le Tulzo Y, Minjolle S, Person A, Chaplain JM, Arvieux C, et al. Increasing incidence of severe Epstein-Barr virus-related infectious mononucleosis: surveillance study. *J Clin Microbiol* 2006;44:1873-4.
- [38] Hocqueloux L, Causse X, Valery A, Jandali JC, Maitre O, Soin C, et al. The high burden of hospitalizations for primary EBV infection: a 6-year prospective survey in a French hospital. *Clin Microbiol Infect* 2015;21, 1041. e1-7.
- [39] Wemmel AC, Mayet A, Bellier S, Bigaillon C, Rapp C, Ficko C. Severe infectious mononucleosis in immunocompetent adults. *Med Mal Infect* 2017;47:540-5.
- [40] Fourcade G, Germe R, Guerber F, Lupo J, Baccard M, Seigneurin A, et al. Evolution of EBV seroprevalence and primary infection age in a French hospital and a city laboratory network, 2000-2016. *PLoS One* 2017;12:e0175574.
- [41] Ramagopalan SV, Valdar W, Dymant DA, DeLuca GC, Yee IM, Giovannoni G, et al. Association of infectious mononucleosis with multiple sclerosis. A population-based study. *Neuroepidemiology* 2009;32:257-62.
- [42] Hjalgrim H, Askling J, Rostgaard K. Characteristics of Hodgkin's lymphoma after infectious mononucleosis. *N Engl J Med* 2003;349:1324-32.
- [43] Balfour Jr HH, Holman CJ, Hokanson KM, Lelonek MM, Giesbrecht JE, White DR, et al. A prospective clinical study of Epstein-Barr virus and host interactions during acute infectious mononucleosis. *J Infect Dis* 2005;192:1505-12.
- [44] Cameron B, Bhargava M, Burrows J, Fazou C, Wakefield D, Hickie I, et al. Prolonged illness after infectious mononucleosis is associated with altered immunity but not with increased viral load. *J Infect Dis* 2006;193:664-71.
- [45] Silins SL, Sherritt MA, Silleri JM, Cross SM, Elliott SL, Bhargava M, et al. Asymptomatic primary Epstein-Barr virus infection occurs in the absence of blood T-cell repertoire perturbations despite high levels of systemic viral load. *Blood* 2001;98:3739-44.
- [46] Thorley-Lawson DA. Epstein-Barr virus: exploiting the immune system. *Nat Rev Immunol* 2001;1:75-82.
- [47] Aslan N, Watkin LB, Gil A, Mishra R, Clark FG, Welsh RM, et al. Severity of acute infectious mononucleosis correlates with cross-reactive influenza CD8 T-cell receptor repertoire. *mBio* 2017;8, e01841-17.
- [48] Rosén A, Gergely P, Jondal M, Klein G, Britton S. Polyclonal Ig production after Epstein-Barr virus infection of human lymphocytes in vitro. *Nature* 1977;267:52-4.
- [49] Cohen JL. Epstein-barr virus vaccines. *Clin Transl Immunol* 2015; 4:e32.
- [50] Latour S, Winter S, Latour S. Inherited immunodeficiencies with high predisposition to Epstein-Barr virus-driven lymphoproliferative diseases. *Front Immunol* 2018;9:1103.
- [51] Zhang K, Wakefield E, Marsh R. Lymphoproliferative disease, X-linked. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mefford HC, Stephens K, Amemiya A, Ledbetter N, editors. *GeneReviews® [Internet]*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017.
- [52] Ishimura M, Eguchi K, Shiraiishi A, Sonoda M, Azuma Y, Yamamoto H, et al. Systemic Epstein-Barr virus-positive T/NK lymphoproliferative diseases with SH2D1A/XIAP hypomorphic gene variants. *Front Pediatr* 2019;7:183.

- [53] Sawada A, Inoue M, Kawa K. How we treat chronic active Epstein-Barr virus infection. *Int J Hematol* 2017;105:406–18.
- [54] Arai A. Advances in the study of chronic active Epstein-Barr virus infection: clinical features under the 2016 WHO classification and mechanisms of development. *Front Pediatr* 2019;7:14.
- [55] Walensky RP, Rosenberg ES, Ferraro MJ, Losina E, Walker BD, Freedberg KA. Investigation of primary human immunodeficiency virus infection in patients who test positive for heterophile antibody. *Clin Infect Dis* 2001;33:570–2.
- [56] Vezina HE, Balfour HH, Weller DR, Anderson BJ, Brundage RC. Valacyclovir pharmacokinetics and exploratory pharmacodynamics in young adults with Epstein-Barr virus infectious mononucleosis. *J Clin Pharmacol* 2010;50:734–42.
- [57] van Zyl DG, Mautner J, Delecluse HJ. Progress in EBV vaccines. *Front Oncol* 2019;9:104.
- [58] Cohen JL. Vaccine development for Epstein-Barr virus. *Adv Exp Med Biol* 2018;1045:477–93.
- [59] Rühl J, Leung CS, Münz C. Vaccination against the Epstein-Barr virus. *Cell Mol Life Sci* 2020;1–10.
- [60] Tsao SW, Tsang CM, Lo KW. Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2017;372(1732).
- [61] Naseem M, Barzi A, Brezden-Masley C, Puccini A, Berger MD, Tokunaga R, et al. Outlooks on Epstein-Barr virus associated gastric cancer. *Cancer Treat Rev* 2018;66:15–22.
- [62] Carrasco-Avino G, Riquelme I, Padilla O, Villaseca M, Aguayo FR, Corvalan AH. The conundrum of the Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in the Americas. *Oncotarget* 2017;8:75687–98.
- [63] Lo AK, Dawson CW, Lung HL, Wong KL, Young LS. The therapeutic potential of targeting BARF1 in EBV-associated malignancies. *Cancers* 2020;12:1940.
- [64] Chen YP, Chan AT, Le QT, Blanchard P, Sun Y, Ma J. Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet* 2019;394:64–80.
- [65] Lu T, Guo Q, Lin K, Chen H, Chen Y, Xu Y, et al. Circulating Epstein-Barr virus microRNAs BART7-3p and BART13-3p as novel biomarkers in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Sci* 2020;111:1711–23.
- [66] Münz C. Redirecting T cells against Epstein-Barr virus infection and associated oncogenesis. *Cells* 2020;9:1400.
- [67] Shannon-Lowe C, Rickinson AB, Bell AI. Epstein-Barr virus-associated lymphomas. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2017;372:20160271.
- [68] Molyneux EM, Rochford R, Griffin B, Newton R, Jackson G, Menon G, et al. Burkitt's lymphoma. *Lancet* 2012;379:1234–44.
- [69] Lupo J, Germi R, Lancar R, Algarte-Genin M, Hendel-Chavez H, Taoufik Y, et al. Epstein-Barr virus biomarkers have no prognostic value in HIV-related Hodgkin lymphoma in the modern combined antiretroviral therapy era. *AIDS* 2019;33:993–1000.
- [70] Kanakry JA, Li H, Gellert LL, Lemas MV, Hsieh WS, Hong F, et al. Plasma Epstein-Barr virus DNA predicts outcome in advanced Hodgkin lymphoma: correlative analysis from a large North American cooperative group trial. *Blood* 2013;121:3547–53.
- [71] Lanoy E, Spano JP, Bonnet F. The spectrum of malignancies in HIV-infected patients in 2006 in France: the ONCOVIH study. *Int J Cancer* 2011;129:467–75.
- [72] Dietrick D, Habermann TM. Post-transplantation lymphoproliferative disorders in adults. *N Engl J Med* 2018;378:549–62.
- [73] Lupo J, Thiebaut-Bertrand A, Epaulard O, Morand P, Germi R. Epstein-Barr virus and post-transplantation lymphoproliferative disorder. *Rev Francoph Lab* 2019;515:26–35.
- [74] Allen UD, Preiksaitis JK, AST Infectious Diseases Community of Practice. Post-transplant lymphoproliferative disorders, Epstein-Barr virus infection, and disease in solid organ transplantation: guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant* 2019:e13652.
- [75] Styczynski J, van der Velden W, Fox CP. Management of Epstein-Barr virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica* 2016;101:803–11.
- [76] Semenova T, Lupo J, Alain S, Perrin-Confort G, Grossi L, Dimier J, et al. Multicenter evaluation of whole-blood Epstein-Barr viral load standardization using the WHO International Standard. *J Clin Microbiol* 2016;54:1746–50.
- [77] Lindsay J, Yong MK, Greenwood M, Kong DC, Chen SC, Rawlinson W, et al. Epstein-Barr virus related post-transplant lymphoproliferative disorder prevention strategies in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Rev Med Virol* 2020;30:e2108.
- [78] Germi R, Guigue N, Lupo J, Semenova T, Grossi L, Vermeulen O, et al. Methylation of Epstein-Barr virus Rta promoter in EBV primary infection, reactivation and lymphoproliferation. *J Med Virol* 2016;88:1814–20.
- [79] Shamay M, Kanakry JA, Low JS, Horowitz NA, Journo G, Ahuja A, et al. CpG methylation in cell-free Epstein-Barr virus DNA in patients with EBV-Hodgkin lymphoma. *Blood Adv* 2020;4:1624–9.
- [80] San-Juan R, Fernández-Ruiz M, Ruiz-Ruigómez M, López-Medrano F, Ruiz-Merlo T, Andrés A, et al. A new clinical and immunovirological score for predicting the risk of late severe infection in solid organ transplant recipients: the CLIV score. *J Infect Dis* 2020;222:479–87.
- [81] Habib M, Buisson M, Lupo J, Agbalika F, Socié G, Germi R, et al. Infection investigated by detection of soluble Epstein-Barr virus ZEBRA in the serum of patients with PTL. *Sci Rep* 2017;7:10479.
- [82] Hassan J, Dean J, De Gascun CF, Riordan M, Sweeney C, Connell J, et al. Plasma EBV microRNAs in paediatric renal transplant recipients. *J Nephrol* 2018;31:445–51.
- [83] Martinez OM. Biomarkers for PTL diagnosis and therapies. *Pediatr Nephrol* 2020;35:1173–81.
- [84] AlDabbagh MA, Gitman MR, Kumar D, Humar A, Rotstein C, Hussain S. The role of antiviral prophylaxis for the prevention of Epstein-Barr virus-associated posttransplant lymphoproliferative disease in solid organ transplant recipients: a systematic review. *Am J Transplant* 2017;17:770–81.
- [85] Vickers MA, Wilkie GM, Robinson N. Establishment and operation of a good manufacturing practice-compliant allogeneic Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic cell bank for the treatment of EBV-associated lymphoproliferative disease. *Br J Haematol* 2014;167:402–10.
- [86] Pascual J, Royuela A, Fernández AM, Herrero I, Delgado JF, Solé A, et al. Role of mTOR inhibitors for the control of viral infection in solid organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2016;18:819–31.
- [87] DeStefano CB, Desai SH, Shenoy AG, Catlett JP. Management of post-transplant lymphoproliferative disorders. *Br J Haematol* 2018;182:330–43.
- [88] Toussiot E, Roudier J. Epstein-Barr virus in autoimmune diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008;22:883–96.
- [89] Niller HH, Wolf H, Minarovits J. Regulation and dysregulation of Epstein-Barr virus latency: implications for the development of autoimmune diseases. *Autoimmunity* 2008;41:298–328.
- [90] Salvetti M, Giovannoni G, Aloisi F. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2009;22:201–6.
- [91] Ascherio A, Munger KL. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: epidemiological evidence. *Clin Exp Immunol* 2010;160:120–4.
- [92] Lünemann JD, Tintoré M, Messmer B, Strowig T, Rovira A, Perkal H, et al. Elevated Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen-1 immune responses predict conversion to multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2010;67:159–69.
- [93] Ingram G, Bugert JJ, Loveless S, Robertson NP. Anti-EBNA-1 IgG is not a reliable marker of multiple sclerosis clinical disease activity. *Eur J Neurol* 2010;17:1386–9.
- [94] Jaquière E, Filek S, Schluep M, Meylan P, Lysandropoulos A, Pantaleo G, et al. Intrathecal immune responses to EBV in early MS. *Eur J Immunol* 2010;40:878–87.
- [95] Peferoen LA, Lamers F, Lodder LN, Gerritsen WH, Huitinga I, Melief J, et al. Epstein Barr virus is not a characteristic feature in the central nervous system in established multiple sclerosis. *Brain* 2010;133(Pt5):e137.
- [96] Serafini B, Rosicarelli B, Franciotta D, Magliozzi R, Reynolds R, Cinque P, et al. Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain. *J Exp Med* 2007;204:2899–912.
- [97] Serafini B, Severa M, Columba-Cabezas S, Rosicarelli B, Veroni C, Chiappetta G, et al. Epstein-Barr virus latent infection and BAFF expression in B cells in the multiple sclerosis brain: implications for viral persistence and intrathecal B-cell activation. *J Neuropathol Exp Neurol* 2010;69:677–93.
- [98] Ruprecht K, Ruprecht K. The role of Epstein-Barr virus in the etiology of multiple sclerosis: a current review. *Expert Rev Clin Immunol* 2020;16:1143–57.

J. Lupo, MCU-PH, PhD, PharmD.
 A. Filippova, Doctorante, MD.
 P. Morand, PU-PH, PhD, MD.
 R. Germl, MCU-PH, PhD, PharmD (rgerml@chu-grenoble.fr).
 Université Grenoble-Alpes/Institut de biologie structurale, UMR 5075 CEA/CNRS/UGA, 71, avenue des Martyrs, 38000 Grenoble, France.
 Laboratoire de virologie, CHU de Grenoble-Alpes, CS 10217, 38043 Grenoble cedex 09, France.

Toute référence à cet article doit porter la mention : Lupo J, Filippova A, Morand P, Germl R. Virus d'Epstein-Barr et maladies associées. EMC - Maladies Infectieuses 2020;0(0):1-15 [Article 8-070-K-10].

Disponibles sur www.em-consulte.com



II. Données générales sur l'angioœdème

1. Historique

L'angioœdème sous le terme « urticaire géante » a été décrit pour la première fois en 1876 à Londres par le Docteur J.L Milton (Milton, 1876). En 1882, le médecin et chirurgien allemand H. Quincke a décrit des "œdèmes aigus circonscrits", d'où son nom : l'œdème de Quincke. Il a été suggéré que la genèse de l'œdème avait été attribuée à des troubles vasomoteurs localisés dans le derme et l'hypoderme, qui provoquent une dilatation des capillaires avec augmentation de leur perméabilité (Quincke, 1882). Six ans plus tard, le médecin W. Osler a décrit l'autre forme d'angioœdème non associée à une urticaire et l'a nommée « œdème angioneurotique ». Il a observé des épisodes d'œdème transitoire sur 5 générations d'une même famille (Osler, 1888). C'est en 1963 que V.H Donaldson et al. mettent en évidence pour la première fois un déficit en inhibiteur de la C1 estérase (C1Inh) dans l'angioœdème (Donaldson et al. 1963). En 1972, J.D Caldwell et al. présentent un patient avec un angioœdème dû à un déficit acquis en C1Inh au décours d'une maladie lymphoproliférative (Caldwell et al. 1972). En 2000, K. Bork et al. décrivent un angioœdème héréditaire de type III associé à une activité normale de l'inhibiteur C1 prédominant chez les femmes en raison d'une certaine sensibilité aux œstrogènes (Bork et al. 2000).



Figure 1. Heinrich Quincke

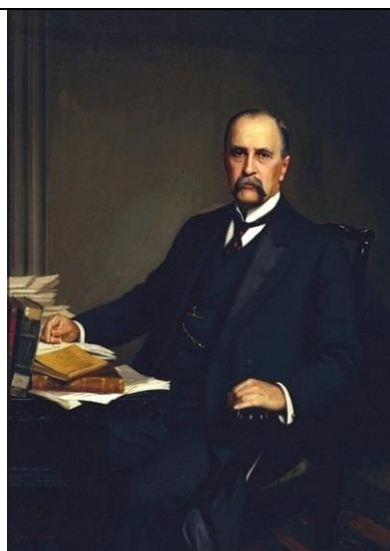


Figure 2. William Osler

2. Définition

Selon un réseau formé par l'European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Global Allergy and Asthma European Network, European Dermatology Forum, and World Allergy Organization (EAACI / GA²LEN / EDF / WAO), l'urticaire se définit par un groupe de maladies caractérisées par l'apparition de plaques urticariennes et/ou d'angioœdème (Zuberbier et al. 2018).

L'angioœdème (AE) est un gonflement transitoire et localisé de la peau, des tissus sous-cutanés et/ou des muqueuses, d'origine vasculaire. Les médiateurs vasoactifs tels que l'histamine et la bradykinine jouent un rôle principal dans son apparition. Habituellement, les symptômes d'œdème persistent en quelques heures à quelques jours et dans la plupart des cas ils régressent assez rapidement sans séquelle en fonction du type d'angioœdème. Une atteinte de la muqueuse gastro-intestinale peut provoquer des douleurs épigastriques ou abdominales. Dans les cas graves, l'implication dans le processus des voies respiratoires peut être mortelle par l'asphyxie en l'absence de traitement approprié. L'angioœdème peut être isolé ou s'accompagner d'urticaire développée par définition aux dépens de couches superficielles du derme (Greaves et al. 1991).

3. Classification

Une classification de l'angioœdème est basée sur les médiateurs ou sur les autres mécanismes qui sont impliqués dans la pathogenèse des AE (*Figure 3*). Selon cette classification on distingue l'AE histaminique (AEHi) et l'AE bradykinique (AEB).

Les AEHi sont typiquement associés à une urticaire (œdème des couches superficielles de la peau) et ils peuvent être de 2 origines : allergique ou non allergique (Kanani et al. 2018). Les AEB ne sont jamais associés à une urticaire superficielle et selon les étiologies on en distingue 2 types : l'angioœdème héréditaire (AEH) et l'angioœdème acquis (AEA). Selon l'Académie Européenne d'Allergologie et d'Immunologie Clinique (EAACI) il existe 3 types d'angioœdèmes héréditaires et 4 types d'angioœdèmes acquis (Kazandjieva & Christoff, 2019) :

Angioœdème héréditaire :

- I) AE héréditaire de type I se caractérise par une déficience de l'inhibiteur de la C1 estérase d'origine génétique (mutation sur le gène SERPING1 (gène du C1Inh))
- II) AE héréditaire de type II avec le taux normal de C1Inh mais non fonctionnelle

- III) AE héréditaire dus à une mutation du facteur XII (le taux et l'activité fonctionnelle de C1Inh sont normaux)

Angioedème acquis :

- I) AE acquis de type I peut apparaître en raison de la consommation excessive du C1Inh, en liaison avec des maladies lymphoprolifératives ou auto-immunes
- II) AE acquis de type II lié à la production des auto-anticorps contre l'inhibiteur de la C1 estérase, ce qui conduit à son inactivation
- III) AE acquis apparaît après un traitement par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
- IV) AE acquis idiopathiques (histaminergique et non histaminergique)

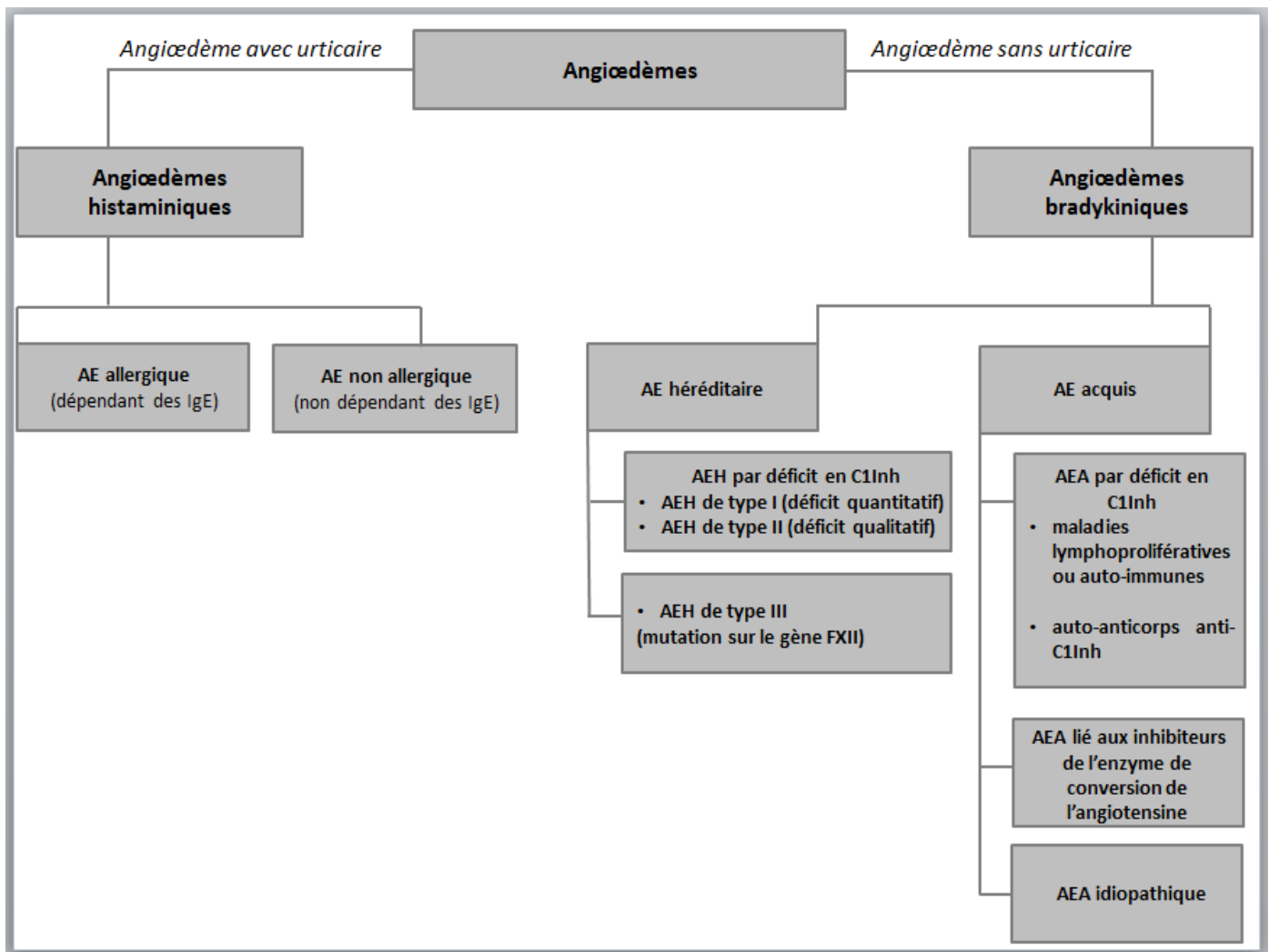


Figure 3. Classification des angioedèmes histaminiques et bradykiniques (selon Kanani et al. 2018; Kazandjieva & Christoff, 2019)

4. Épidémiologie

Selon l'Organisation Mondiale de l'Allergie (WAO) en 2015, 20% de la population générale présente à un moment de sa vie une manifestation d'urticaire et/ou l'angioœdème (Mansi et al. 2015). L'urticaire est présente seule chez 30-40% des patients, l'angioœdème est présent sans l'urticaire chez 10-20% des patients et plus d'un tiers des patients présentent des manifestations simultanées d'AE et d'urticaire (Antia et al. 2018). Selon les données de la littérature, la prévalence de l'angioœdème héréditaire varie de 1/10 000 à 1/50 000 dans la population générale (Long et al. 2019). L'angioœdème héréditaire est une maladie qui survient dans 75% des cas suite à une transmission sous forme d'autosomale dominante et dans 25% suite à l'apparition de novo de mutations génétiques (Azzam et al. 2015). L'AE acquis lié à un déficit du C1Inh est très rare avec une prévalence qui varie entre 1/100 000 et 1/500 000 (Otani et al. 2017). Dans près de la moitié des cas, la première crise d'angioœdème héréditaire survient dans l'enfance (jusqu'à 10 ans) avec la persistance ultérieure des symptômes tout au long de la vie (Pier & Bingemann, 2020).

Il a été constaté que le risque de mortalité chez les patients atteints d'AE bradykininque est 45 fois plus élevé que chez les patients atteints d'AE histaminique (Crochet et al. 2019).

5. Étiologie de l'angioœdème et son association avec les virus

Les facteurs déclenchants de l'apparition d'urticaire ou d'angioœdème sont nombreux mais il est parfois difficile d'authentifier la cause exacte. Les principales causes possibles sont rapportées dans le *Tableau 1* (Bork, 2014; Frigas et al. 2009; Petitpierre et al. 2008).

L'association entre les infections virales (la mononucléose infectieuse, l'hépatite B) et l'urticaire/angioœdème a été mentionnée en 1984 par le Dr A.I Levinson (Levinson, 1984).

De nombreux cas d'urticaire aiguë sont causés par des maladies virales ou autres maladies infectieuses. La cause la plus fréquente d'urticaire aiguë est les infections virales des voies respiratoires supérieures causées par le rhinovirus ou le rotavirus, en particulier dans la population pédiatrique. Les autres infections qui provoquent cette maladie comprennent : la mononucléose infectieuse, l'infection herpétique, les infections à mycoplasme, l'hépatite B, et la pharyngite streptococcique du groupe A (Frigas & Park, 2009). Mareri A et al. ont rapporté par PCR et/ou sérologie la fréquence plus importante d'infections par certains herpès virus humains (EBV, HSV-1, CMV et HHV-6) dans une population d'enfants souffrant d'urticaire aiguë ou récurrente par rapport à une population contrôle sans manifestations d'urticaire (Mareri et al. 2013). D'autres types d'urticaire (froide, cholinergique, polymorphe et

chronique) ont également été présentés dans le cadre de l'association avec des herpèsvirus humains (EBV, HSV-1/2, HHV-6, CMV) (Doeglas et al. 1986; Arias-Santiago et al. 2009; Chin et al. 2013; Zawar et al. 2010; Borghesi et al. 2013; el Sayed et al. 1995).

Le parvovirus B19, les norovirus, les virus des hépatites A, B, C ont été rapportés comme pouvant provoquer de l'urticaire/angioedème (Imbalzano et al. 2016).

Une étude a rapporté les causes d'angioedème non accompagné d'urticaire (Zingale et al. 2006). Parmi ces causes, les infections telles qu'un granulome dentaire, une sinusite, une infection des voies urinaires, une sialoadénite et les infections à herpèsvirus (HSV-1, VZV) sont survenues dans la moitié des cas. D'autres « case reports » ont décrit des cas d'angioedème aigu dans le contexte d'une infection par le HSV de type 1 (Youngnak-Piboonratanakit et al. 2008; Dougherty et al. 2011).

Quelques études ont démontré que les récurrences fréquentes des crises d'œdème abdominal chez les patients atteints de l'angioedème héréditaire ont été accompagnées d'une infection à *Helicobacter pylori* (Visy et al. 2007).

Weidenbach H et al. ont décrit une première poussée d'angioedème héréditaire au décours d'une mononucléose infectieuse (Weidenbach et al. 1993) et il a été rapporté qu'un haut titre d'anticorps EBNA-1 contre l'EBV était un facteur de risque d'atteinte des voies respiratoires supérieures lors d'attaques d'angioedème héréditaire (Csuka et al. 2012).

Le lien entre l'angioedème acquis avec déficit en C1Inh et le virus de l'immunodéficience humaine a été également mentionné (Otani & Banerji, 2017).

L'urticaire aiguë et l'angioedème peuvent apparaître dans le cadre de la COVID-19. Dans une revue de la littérature, Allegra A et al. ont colligés 18 articles comportants 114 cas de patients présentant une urticaire apparue au décours de cas COVID-19 (Allegra et al. 2021). La première mention d'angioedème isolé dans le contexte de COVID-19 a été présentée par des médecins français (Royer et al. 2021). L'apparition de l'urticaire avec l'angioedème chez un patient deux jours avant les premiers symptômes de l'infection au COVID-19 a été décrite par le Dr K. Hassan en 2020. Il a suggéré d'utiliser l'apparition de l'urticaire comme indicateur de diagnostic précoce possible (Hassan, 2020). Grumach AS et al. ont montré que les patients souffrant d'angioedème héréditaire ne présentaient pas de surrisque de développer des attaques d'angioedème plus sévères au décours d'une infection à SARS CoV2 ni de surrisque de développer une atteinte COVID-19 sévère (Grumach et al. 2021). Les résultats

étaient similaires à l'étude présentée par des collègues français qui a été réalisée sur la base du Centre de Référence National des Angioédèmes à Kinines (CREAK) (Belbézier et al. 2021).

Tableau 1. Les facteurs déclenchants de l'apparition d'urticaire ou d'angioédème (Bork, 2014; Frigas et al. 2009; Petitpierre et al. 2008)

Urticaire	les aliments (lait, poisson, fruits de mer, noix) ; les médicaments (les antibiotiques de la famille des bêtalactames, les médicaments anti-tumoraux, les anti-inflammatoires acides et autres anti-inflammatoires non stéroïdiens) ; les infections ; les mycoplasmes et bactéries (le groupe du streptocoque) ; les piqûres d'insectes ; le latex ; l'exercice physique ; l'exposition au froid ; les opiacés ; les produits de contraste iodés ; la pression ; la vibration; absence de cause identifiée
Angioédème héréditaire avec un déficit en C1Inhibiteur	les médicaments (les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine convertase II) ; le traumatisme ; la pression ; le stress psychologique ; la menstruation ; l'ovulation ; les maladies infectieuses ; les œstrogènes en contraceptifs ; le traitement hormonal substitutif
Angioédème héréditaire avec C1Inhibiteur normale	les contraceptifs oraux ; la grossesse ; l'hormonothérapie
Angioédème sur déficit acquis en C1Inhibiteur	les maladies lymphoprolifératives (le gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI) et les tumeurs malignes des lymphocytes B) ; les autoanticorps anti-C1Inh ; le virus de l'immunodéficience humaine ; la macroglobulinémie de Waldenström ; le lupus érythémateux systémique ; le syndrome de Churg-Strauss ; la xanthomatose ; l'hépatite B ; les autres infections
Angioédème associé aux IECA et aux ARA-II	les médicaments (les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA)) les antagonistes du récepteur de l'angiotensine II (ARA-II)
Angioédème idiopathique	absence de cause identifiée; une étiologie auto-immune est évoquée

6. La pathogenèse de l'angioédème histaminique et bradykinique

Il existe deux grands mécanismes physiopathologiques connus des angioédèmes, qui sont associés à deux médiateurs principaux (histamine et bradykinine) de perméabilité vasculaire accrue.

Dans la plupart des cas, les angioédèmes sont liés à une libération d'histamine qui peut être médiée par des mécanismes immunitaires dépendants des IgE spécifiques (AEHi allergique) ou indépendants des IgE spécifiques (AEHi non allergique).

L'angioédème histaminique allergique se produit en raison de la dégranulation massive des mastocytes qui libèrent l'histamine et les autres médiateurs de l'inflammation (tryptase, sérotonine, leucotriènes, chimiokines, prostaglandines) dans les tissus et le sang. L'histamine se fixe sur les récepteurs H1 de l'endothélium vasculaire, entraînant la libération de

monoxyde d'azote (NO) qui à son tour provoque une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité vasculaire et un œdème (Hacard et al. 2015; Buttgereit & Maurer, 2019).

L'angioœdème histaminique non allergique est indépendant d'une réponse immunitaire humorale. Il est associé à une activation des mastocytes/basophiles non IgE-dépendante. Les substances endogènes, tels que les neuropeptides (substance P), les anaphylatoxines du complément (C3a et C5a), les chimiokines (MCP-1,2,3,4 MIP-1a, RANTES, IL-8) agissent directement sur les cellules endothéliales ou stimulent les multiples récepteurs sur les surfaces des mastocytes/basophiles (*Figure 4*) (Fernandez, 2012).

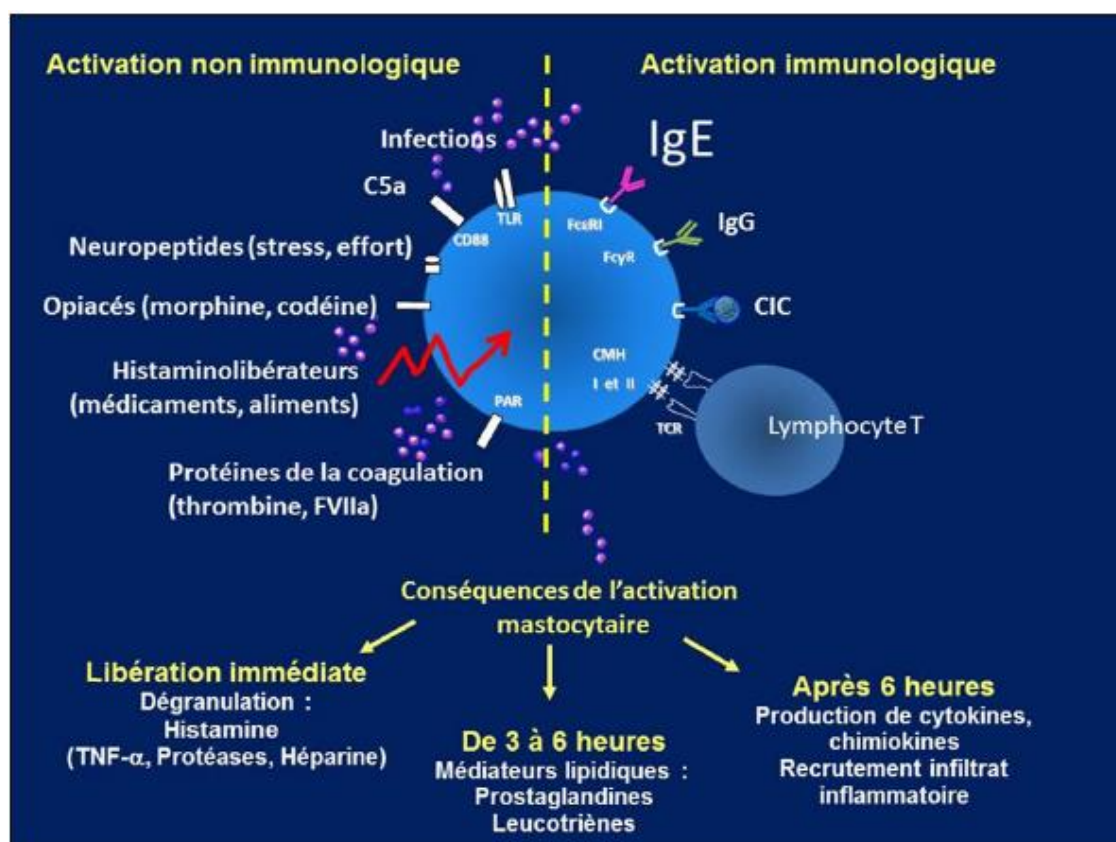


Figure 4. Mécanisme d'activation mastocytaire au cours des angioœdèmes et urticaires (d'après Hacard et al. 2015)

L'angioœdème bradykinique survient par la production excessive de bradykinine. La bradykinine est le peptide vasoactif du système kinine/kallicréine. La bradykinine se forme dans le sang sous l'action de la kallikréine et elle est inactivée par les kininases. Sa production excessive peut être secondaire à une augmentation de l'activité kininogénase (facteur XII et kallikréine) ou à une diminution de l'activité kininase. L'inhibiteur C1 est une protéine sérique, qui régule la voie classique du complément. Normalement, le C1Inh empêche la transition de la précallikréine en kallikréine, du plasminogène en plasmine et l'activation du

facteur XII du système de coagulation sanguine. L'activité kininogénase devient incontrôlée en cas de déficit ou de dysfonctionnement de l'inhibiteur de la C1 estérase. Dans ces cas le facteur XII (le facteur Hageman) à la surface des cellules endothéliales vasculaires active la voie kallicréine–kinine et la plasmine. La kallicréine activée décompose le kininogène de haut poids moléculaire en libérant de la bradykinine. La bradykinine se fixe sur les récepteurs vasculaires B2 des cellules endothéliales provoquant la perte de l'intégrité vasculaire, une augmentation de perméabilité vasculaire avec une fuite liquidienne dans les tissus et en conséquence un angioœdème. En outre, la production de la bradykinine ne peut pas être dégradée en cas de diminution de l'activité kininase telle que l'enzyme de conversion (EC) de l'angiotensine, l'aminopeptidase P (APP) et la carboxypeptidase N (CBPN) (*Figure 5*) (Bouillet et al. 2011).

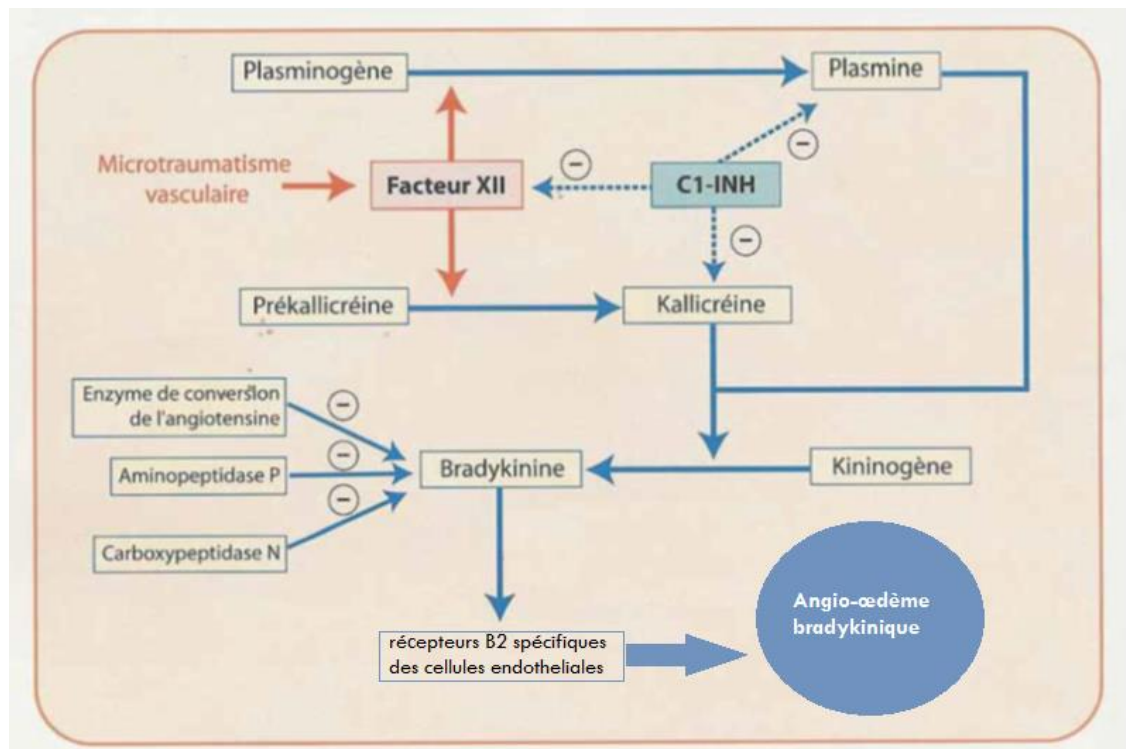


Figure 5. Physiopathologie de l'angioœdème bradykinique (d'après Bouillet et al. 2011)

7. Présentation clinique

Les œdèmes d'origine histaminique et bradykinique ont des caractéristiques cliniques spécifiques qui permettent leur distinction (*Tableau 2*).

L'angioœdème histaminique commence rapidement et dure en général moins de 24 heures. Il est toujours accompagné d'urticaire et de prurit. Les lésions urticariennes peuvent être de différentes formes (arrondie, polymorphe, irrégulière) et de différentes tailles (de quelques millimètres à quelques centimètres). L'atteinte digestive peut exister mais elle est très rare. L'AEHi peut apparaître sur les différentes parties du corps. L'anamnèse doit rechercher des épisodes antérieurs d'urticaire, des antécédents personnels ou familiaux d'atopie, des facteurs déclenchants. Le traitement par les antihistaminiques est toujours efficace dans ce cas (Boccon-Gibod et al. 2014; Muller, 2004).

Les angioœdèmes bradykiniques héréditaires ou acquis s'installent plus lentement et les symptômes peuvent durer quelques jours. Habituellement ils ne sont pas accompagnés d'une urticaire et du prurit mais ils peuvent provoquer un œdème dans les parois de l'intestin et de l'estomac et très souvent les patients ont des douleurs abdominales avec des symptômes mimant une urgence digestive chirurgicale aboutissant parfois à des opérations inutiles (Frigas & Nzeako, 2002). L'anamnèse peut révéler une histoire familiale, un lien avec les inhibiteurs d'enzyme de conversion de l'angiotensine. Les angioœdèmes bradykiniques ne répondent pas au traitement par les antihistaminiques, les corticoïdes ou l'adrénaline (Longhurst et al. 2019; Boccon-Gibod et al. 2014; Muller BA, 2004).

Tableau 2. Différences cliniques entre un angioœdème histaminique et un angioœdème bradykinique (Boccon-Gibod et al. 2014; Muller, 2004)

Angioœdèmes	Histaminique	Bradykinique
Début	rapidement	lentement
Durée des symptômes	< de 24 heures (jusqu'à 72h)	>24 h (jusqu'à 2-3 jours)
Urticaire et prurit associée	fréquente	absente
Atteinte digestive	exceptionnelle	fréquente
Crises douloureuses abdominales	non	oui
Anamnèse orientant	oui	oui
Localisation (plus souvent)	visage (lèvres et paupières) extrémités des membres (mains, pieds) tronc, cou, organes génitaux externes, muqueuses buccales, pharyngées, voile du palais, langue, luette, larynx	visage (lèvres et paupières), extrémités des membres (mains) siège, organes génitaux, organes abdominaux, voies aériennes supérieures (larynx)
Réponse favorable au traitement par antihistaminiques et corticostéroïdes	oui	non

8. Diagnostic des angioédèmes

Différents examens peuvent être proposés selon la cause suspectée et la physiopathologie des angioédèmes.

Conformément à EAACI/ GA²LEN/ EDF/ WAO (European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Global Allergy and Asthma European Network, European Dermatology Forum, and World Allergy Organization) en cas d'angioédème histaminique, il est nécessaire d'effectuer un examen minutieux des antécédents, un examen physique, et de prescrire les analyses et les tests cutanés permettant de mettre en évidence un allergène.

Pour diagnostiquer l'urticaire chronique, EAACI/ GA²LEN/ EDF/ WAO a mis au point une liste de questions spéciales pour les patients, ainsi que des tests qui sont effectués sur la base de leurs dossiers médicaux (Zuberbier et al. 2018; Antia et al. 2018).

Dans le cas d'une suspicion d'angioédème bradykinique, une exploration de C1Inh avec son dosage fonctionnel et pondéral doit être réalisée aussi qu'un dosage du facteur C4 du complément. Selon les recommandations du CREAK pour confirmer le déficit en C1Inh, ces valeurs doivent avoir des niveaux inférieurs à 50% de la norme dans 2 prélèvements distincts, suivis de la mise en évidence de son caractère héréditaire ou acquis. Pour confirmer le diagnostic de l'angioédème héréditaire il est nécessaire de chercher une mutation sur le gène SERPING1, cependant pour l'angioédème acquis il faut mesurer le taux de C1q et chercher également la présence d'auto-anticorps de C1Inh. Un angioédème héréditaire peut être présent également sans déficit de C1Inh. Dans ce cas, il est recommandé de rechercher des mutations dans les gènes FXII (facteur Hageman activé) et PLG (plasminogen) (*Figure 6*). Les 3 types de données sont nécessaires afin d'établir un diagnostic définitif : cliniques, biologiques et génétiques (*Tableau 3*). En outre l'évaluation de l'état de la protéine et du taux de certains biomarqueurs (D-Dimères) peut également aider au diagnostic (Bouillet et al. 2019; Deroux et al. 2016).

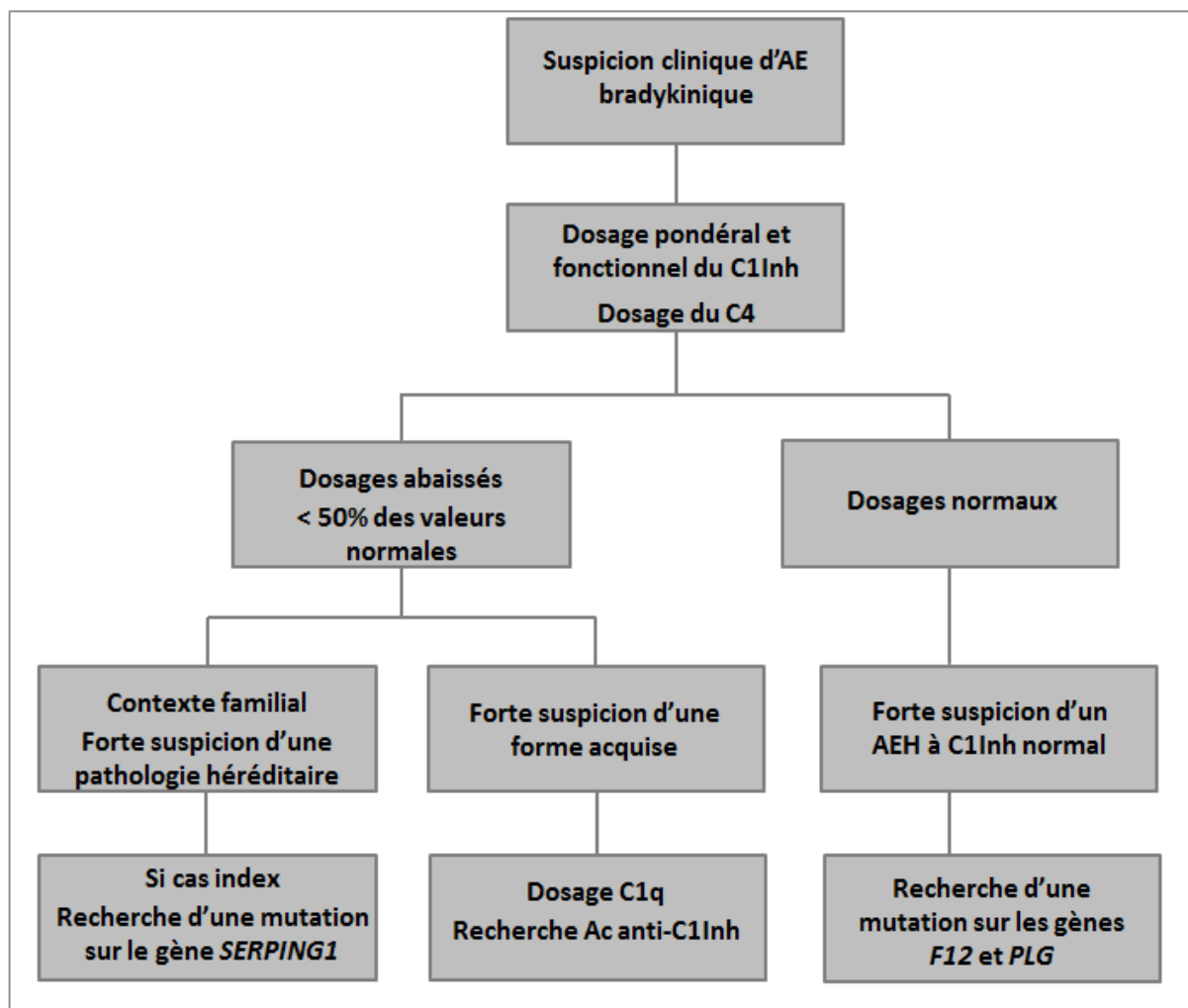


Figure 6. Démarche diagnostique biologique des angioœdèmes bradykiniques.

AEH: AE héréditaire ; AEA: AE acquis ; F12: facteur 12 ; PLG: plasminogène (d'après Bouillet et al. 2019)

Tableau 3. Diagnostic biologique des angioœdèmes bradykiniques. Pourcentage des valeurs de référence du laboratoire (d'après Bouillet et al. 2019)

	Déficit en C1Inh			C1Inh normal	
	AEH type I	AEH type II	AEA	AEH (type III)	AE aux IEC
Concentration C1Inh	< 50 %	Normale	< 50 %	Normale	Normale
Fonction C1Inh	< 50 %	< 50 %	< 30 %	Normale	Normale
Concentration C1q	Normale	Normale	< 50 % (70 % des cas)	Normale	Normale
Concentration C4	< 50 %	< 50 %	< 50 %	Normale	Normale
Anticorps anti-C1Inh	Absent	Absent	Présent (70 % des cas)	Absent	Absent
Mutation	<i>SERP/NG1</i> (95 % des cas)	<i>SERPING1</i> (95 % des cas)	Absent	Gènes <i>F12</i> et <i>PLG</i>	Absent

AEH : angioœdème héréditaire ; AEA : angioœdème acquis ; IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

9. Généralités sur le traitement de l'angioedème

9.1. Le traitement de l'angioedème histaminique :

En 2018, un processus thérapeutique a été proposé par les réseaux EAACI/ GA²LEN/ EDF/ WAO. En premier lieu, il convient d'arrêter l'exposition de l'allergène (médicaments, nourritures, facteurs physiques, infections). Ensuite, quatre lignes thérapeutiques successives peuvent être proposées selon la réponse au traitement (*Figure 7*) (Kanani et al. 2018).

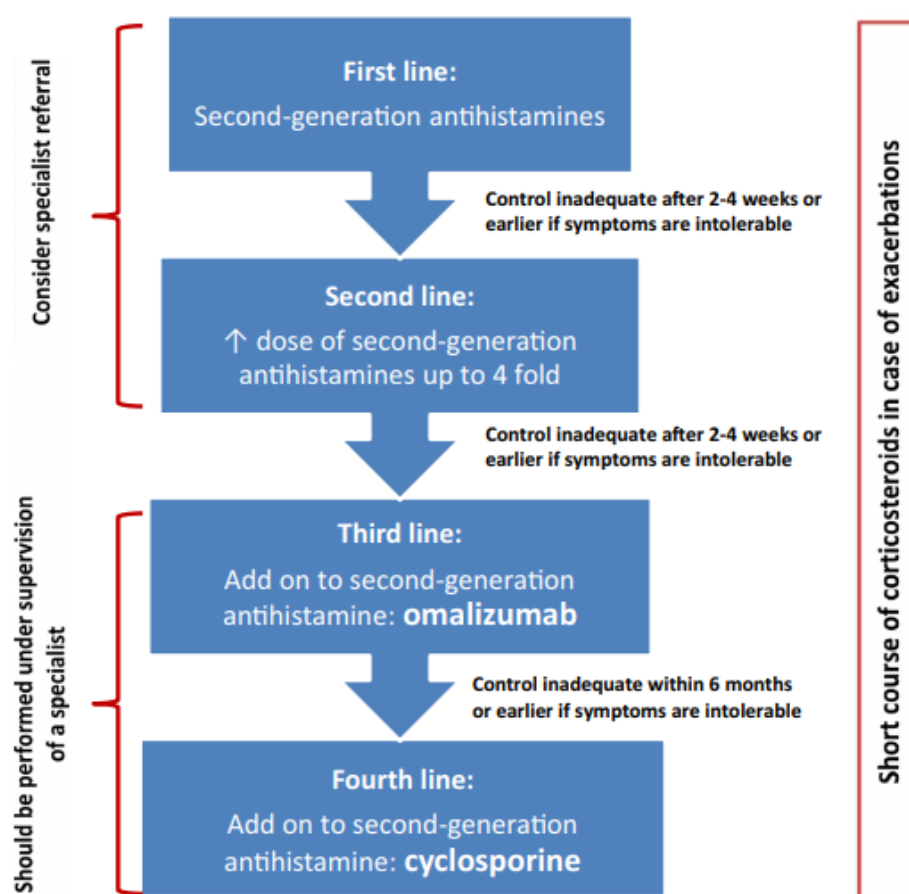


Figure 7. Algorithme simplifié (étape par étape) du traitement de l'urticaire (Kanani et al. 2018).

9.2. Le traitement de l'angioedème bradykinique :

Banerji A, et al. ont décrit les grands principes de la prise en charge personnalisée des patients atteints d'angioedème héréditaire (Discover, Discuss, Decide) (Banerji et al. 2021).

Dans une récente revue de la littérature consacrée aux principes de base du traitement des patients atteints d'angioedème héréditaire avec ou sans déficit en inhibiteur C1, Valerieva A et al. ont présenté des médicaments pour le traitement des crises d'AEH ainsi que des médicaments pour le traitement préventif (*Tableau 4*) (Valerieva et al. 2021).

Tableau 4. Les médicaments pour le traitement de l'angioedème héréditaire (selon Valerieva A, et al. 2021)

Medication (Trade name and company)	Mechanism of action	Approved indication	Regulatory status	Dose and route of administration	Potential side effects
Plasma-derived nanofiltered C1-INH (Cinryze, Takeda)	Replaces C1-INH	Acute treatment (on-demand therapy) Short-term prophylaxis Long-term prophylaxis	Australia (≥ 12 years) EU (≥ 2 years) Australia (≥ 12 years) EU (≥ 2 years) Approved by FDA and EMA (U.S. and Europe) for patients ≥ 6 years; Australia, Canada (≥ 12 years)	≥ 12 years: 1000 U IV 2-11 years: 1000 U (> 25 kg body weight) 500 U (< 25 kg body weight) ≥ 12 years: 1000 U IV 2-11 years: 1000 U (> 25 kg body weight) 500 U (< 25 kg body weight) Pediatric (6-11 years): 500 IU every 3-4 days IV Adolescents and adults: 1000 U IV every 3-4 days	Common: hypersensitivity, rash, pruritus, erythema, injection site reactions, vomiting, dizziness Theoretical: transmission of infectious agent, thromboembolic events
Plasma-derived nanofiltered C1-INH (Berinert, CSL Behring)	Replaces C1-INH	Acute treatment (on-demand therapy) Short-term prophylaxis	Australia, Canada, EU, U.S. (adult and pediatric) EU (adult and pediatric)	20 U/kg IV Adults: 1000 U IV Pediatrics: 15-30 U/kg body weight IV	Rare: injection site reactions, hypersensitivity Theoretical: transmission of infectious agent, thromboembolic events
Plasma-derived nanofiltered C1-INH (Haegarda, Berinert 2000/3000, Berinert SC, CSL Behring)	Replaces C1-INH	Long-term prophylaxis	Australia, Canada, EU (≥ 12 years), U.S. (≥ 6 years)	60 U/kg body weight twice weekly (every 3-4 days)	Very common: injection site reactions, nasopharyngitis Common: Hypersensitivity, pruritus, rash and urticaria, dizziness Theoretical: transmission of infectious agents, thromboembolic events
Recombinant human C1-INH (Ruconest, Pharming)	Replaces C1-INH	Acute treatment (on-demand therapy)	EU (≥ 2 years), U.S. (≥ 12 years)	50 U/kg IV (< 84 kg) 4200 U IV (≥ 84 kg)	Uncommon: risk of anaphylaxis in rabbit-sensitized individuals Common: headache, nausea, and diarrhea
Ecaltantide (Kalbitor, Takeda)	Selective, reversible inhibitor of plasma kallikrein	Acute treatment (on-demand therapy)	U.S. (≥ 12 years)	30 mg SC injection	Most common: headache, nausea, fatigue, diarrhea, upper respiratory tract infection, injection site reactions, nasopharyngitis, vomiting, pruritus, upper abdominal pain, and pyrexia Uncommon: anaphylaxis
Icatibant (Firazyr, Takeda)	Bradykinin B2 receptor antagonist	Acute treatment (on-demand therapy)	U.S. (≥ 18 years) Australia, Canada, EU (≥ 2 years)	Adults: 30 mg SC Pediatric: 12-25 kg, 10 mg SC; 26-40 kg, 15 mg SC; 41-50 kg, 20 mg SC; 51-65 kg, 25 mg SC; > 65 kg, 30 mg SC	Very common: injection site reactions
Lanadelumab (Takhzyro, Takeda)	Fully human monoclonal antibody that inhibits plasma kallikrein	Long-term prophylaxis	Australia, Canada, EU, U.S. (≥ 12 years)	300 mg SC injection every 2 weeks A dosing interval of 300 mg every 4 weeks may be considered if the patient is well controlled (e.g., attack-free) for more than 6 months	Common: injection site reactions Rare: risk of anaphylaxis
Berotralstat (Orladeyo, Biocryst Pharmaceuticals)	Oral inhibitor of plasma kallikrein	Long-term prophylaxis	U.S. (≥ 12 years)	150 mg capsule taken orally once daily with food In patients with moderate or severe hepatic impairment, chronic administration of P-glycoprotein inhibitors or BCRP inhibitors (e.g., cyclosporine): 110 mg capsule taken orally once daily with food	Common: abdominal pain, vomiting, and diarrhea

BCRP, breast cancer resistance protein; C1-INH, C1 inhibitor; EMA, European Medicines Agency; EU, European Union; FDA, Food and Drug Administration; SC, subcutaneous; U.S., United States

9.3. L'algorithme lors de cas d'urgence

Les recommandations pour le diagnostic d'urgence et le traitement de l'œdème des voies aériennes supérieures causés par l'angioœdème ont été proposées en 2015 par le Centre National de Référence des Angioœdèmes en France (Figure 8). Une administration d'adrénaline est nécessaire lors de formes graves (Floccard et al. 2017).

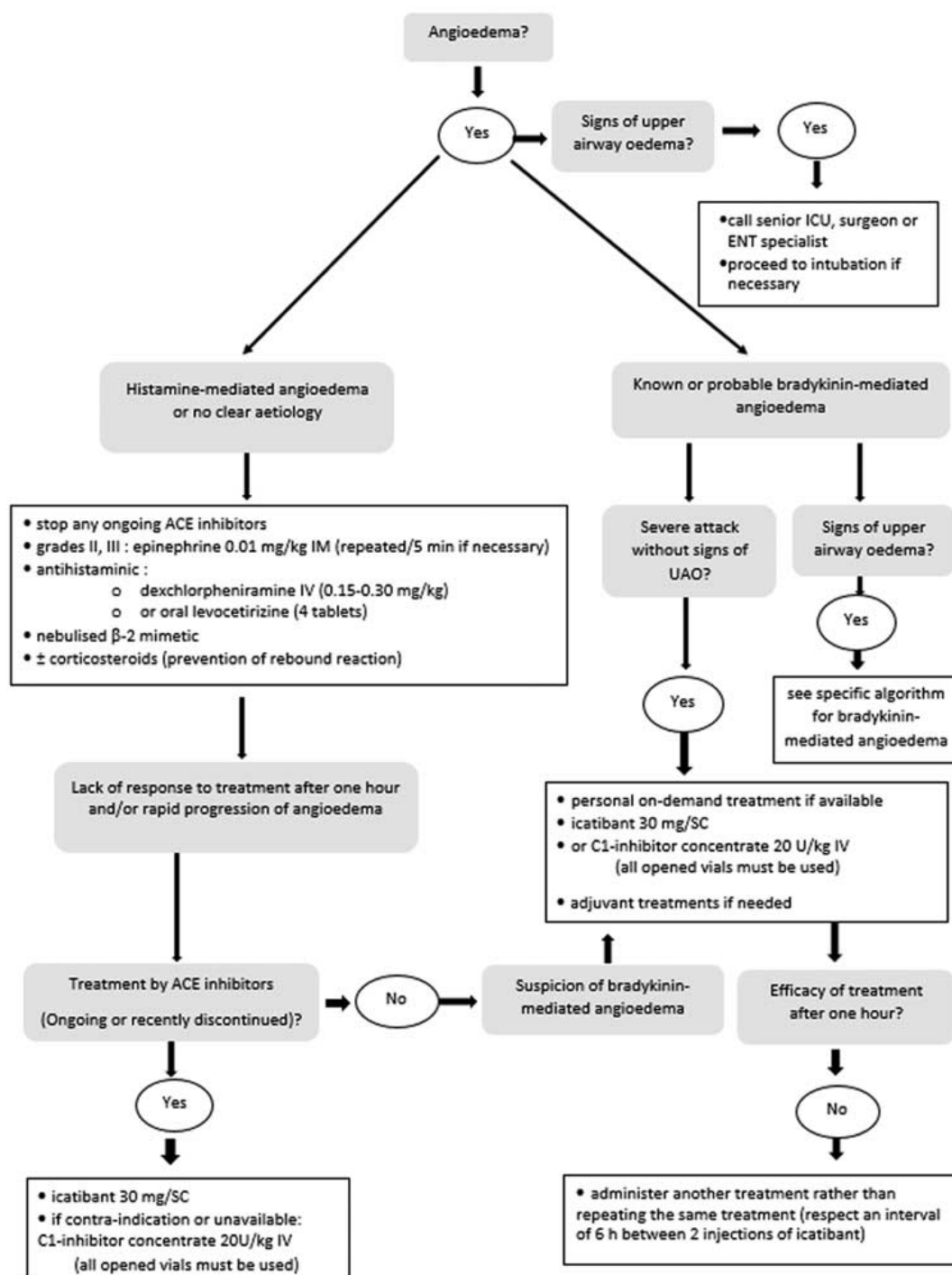


Figure 8. Algorithme de la prise en charge globale de l'angioœdème chez les adultes par le service des urgences (Floccard et al. 2017)

10. Le traitement préventif

10.1. Prophylaxie à court terme :

La prévention à court terme est indiquée chez les patients atteints de l'angioedème héréditaire avec le déficit en C1Inh. Cette prévention est utile avant les situations (interventions médicales ou chirurgicales et extraction dentaire) qui peuvent provoquer une crise. Dans ce cas, le médicament de choix est un concentré de C1Inh (Berinert ou Cinryze), qui doit être administré de 1 à 12 heures avant la procédure. Le plasma frais congelé ou l'androgène atténué (Danazol) peuvent être prescrit en l'absence d'inhibiteur de C1 (Busse & Christiansen, 2020).

10.2. Prophylaxie à long terme :

La prévention à long terme est nécessaire pour réduire la fréquence et la gravité des épisodes de l'angioedème héréditaire. Les principaux médicaments sont le concentré de C1Inh dérivé du plasma (intraveineux ou sous-cutané) et l'inhibiteur d'anticorps monoclonaux de la kallikréine plasmatique (Lanadelumab) pour les patients ayant un déficit en inhibiteur C1. La thérapie hormonale (Noréthistérone) ou les agents antifibrinolytiques (Lysteda) peuvent être utilisés en cas d'angioedème héréditaire avec des niveaux normaux d'inhibiteurs de C1. Les patients doivent être surveillés régulièrement par un médecin, pour déterminer l'efficacité du traitement, ainsi que l'apparition d'effets secondaires (Busse & Christiansen, 2020).

Bibliographie

- Allegra A, Asero R, Giovannetti A, Isola S, Gangemi S. Urticaria and coronavirus infection: a lesson from SARS-CoV-2 pandemic. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2021 Mar;53(2):51-54.
- Antia C, Baquerizo K, Korman A, Bernstein JA, Alikhan A. Urticaria: A comprehensive review: Epidemiology, diagnosis, and work-up. *J Am Acad Dermatol*. 2018 Oct;79(4):599-614.
- Arias-Santiago SA, Almazán-Fernández FM, Burkhardt-Pérez P, Naranjo-Sintes R. Urticaria a frigore asociada a mononucleosis por virus de Epstein-Barr [Cold urticaria associated with Epstein barr virus mononucleosis]. *Actas Dermosifiliogr*. 2009;100(5):435-436.
- Azzam R, Boutros J, Irani C. Hereditary angioedema: A Literature Review and National Management Guidelines. *J Med Liban*. 2015 Apr-Jun;63(2):97-101. Review
- Banerji A, Anderson J, Johnston DT. Optimal Management of Hereditary Angioedema: Shared Decision-Making. *J Asthma Allergy*. 2021 Feb 9;14:119-125.
- Belbézier A, Arnaud M, Boccon-Gibod I, Pelletier F, McAvoy C, Gobert D, Fain O, Du-Thanh A, Launay D, Lupo J, Bouillet L. COVID-19 as a trigger of acute attacks in people with hereditary angioedema. *Clin Exp Allergy*. 2021 Mar 26
- Boccon-Gibod I, Bouillet L. Les angioédèmes dans l'urticaire [Angioedema and urticaria]. *Ann Dermatol Veneréol*. 2014 Nov;141 Suppl 3:S586-95. French.
- Boehmer PE, Nimonkar AV. Herpès virus replication. *IUBMB Life*. 2003 Jan;55(1):13-22.
- Borghesi A, Cipelletti P, Maragliano R, Manzoni P, Stronati M. Human herpesvirus-6 associated neonatal urticaria multiforme. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2013;98(5):F450
- Bork K, Barnstedt SE, Koch P, Traupe H. Hereditary angioedema with normal C1Inhibitor activity in women. *Lancet* 2000;356:213–217.
- Bork K. Angioedema. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2014 Feb;34(1):23-31.
- Bouillet L, Defendi F, Hardy G, Cesbron JY, Boccon-Gibod I, Deroux A, Mansard C, Launay D, Gompel A, Floccard B, Jaussaud R, Beaudouin E, Armengol G, Olliver Y, Gayet S, Du Than A, Sailer L, Guez S, Sarrat A, Sorin L, de Moreuil C, Pelletier F, Javaud N, Marmion N, Fain O, Fauré J, Dumestre-Pérard C. Diagnostic biologique des angioédèmes bradykiniques : les recommandations du CREAK. *Presse Med*. 2019 Jan;48(1 Pt 1):55-62. French
- Bouillet L, Boccon-Gibod I, Massot C. Les angioédèmes bradykiniques héréditaires ou acquis. *La Revue de Médecine Interne*. Volume 32, Issue 4, April 2011, Pages 225-231.
- Busse PJ, Christiansen SC. Hereditary Angioedema. *N Engl J Med*. 2020 Mar 19;382(12):1136-1148.

Buttgereit T, Maurer M. Klassifikation und Pathophysiologie von Angioödemem [Classification and pathophysiology of angioedema]. *Hautarzt*. 2019;70(2):84-91.

Caldwell JR, Ruddy S, Schur PH, Austen KF. Acquired C1 inhibitor deficiency in lymphosarcoma. *Clin Immunol Immunopathol* 1972;1:39–52.

Chin YY, Chang TC, Chang CH. Idiopathic pure sudomotor failure and cholinergic urticaria in a patient after acute infectious mononucleosis infection. *Clin Exp Dermatol*. 2013;38(2):156-159.

Crochet J, Lepelley M, Yahiaoui N, et al. Bradykinin mechanism is the main responsible for death by isolated asphyxiating angioedema in France. *Clin Exp Allergy*. 2019; 49:252–254.

Csuka D, Varga L, Farkas H, Füst G. Strong correlation of high EBNA-1-IgG levels with edematous attacks involving upper airway mucosa in hereditary angioedema due to C1Inhibitor deficiency. *Mol Immunol*. 2012;49(4):649-654.

Deroux A, Dumestre-Perard C, Khalil-Mgharbel A, Maignan M, Boccon-Gibod I, Fevre MC, et al. BIOBRAD study: the search for biomarkers of Bradykinin-Mediated Angio-Oedema attacks. *Int Arch Allergy Immunol* 2016;170:108–14.

Doeglas HM, Rijnten WJ, Schröder FP, Schirm J. Cold urticaria and virus infections: a clinical and serological study in 39 patients. *Br J Dermatol*. 1986;114(3):311-8.

Donaldson VH, Evans RR. A biochemical abnormality in hereditary angioneurotic edema: absence of inhibitor of C'1 esterase. *Am J Med* 1963;35:37-44.

Dougherty AL, Rashid RM, Bangert CA. Angioedema-type swelling and herpès simplex virus reactivation following hyaluronic acid injection for lip augmentation. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(1):e21-e22.

el Sayed F, Marguery MC, Periole B, Bayle P, Bazex J. Urticarial manifestations associated with herpès simplex virus type 2. *Genitourin Med*. 1995;71(3):196.

Fernandez S. Oedème de Quincke et Anaphylaxie. *rev prat*. 2012;62:829.

Floccard B, Javaud N, Deroux A, Boccon-Gibod I, Fain O, Amarger S, Blanchard-Delaunay C, Jeandel PY, Marmion N, Ollivier Y, Pralong P, Gayet S, Du-Thanh A, Pelletier F, Sailler L, Robinson P, Launay D, Bouillet L; French Reference Centre for Angioedema (CREAK). Diagnosis and treatment of upper airway oedema caused by acute angio-oedema in the emergency department: a French consensus statement. *Eur J Emerg Med*. 2017 Oct;24(5):318-325.

Frigas E, Nzeako UC. Angioedema. Pathogenesis, differential diagnosis, and treatment. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2002 Oct;23(2):217-31.

Frigas E, Park MA. Acute urticaria and angioedema: diagnostic and treatment considerations. *Am J Clin Dermatol*. 2009;10(4):239-50.

Greaves MW, Lawlor F. Angioedema: manifestations and management. *J Am Acad Dermatol* 1991;25:155-65.

Grinde B. Herpèsviruses: latency and reactivation – viral strategies and host response. *J Oral Microbiol*. 2013 Jan;5(1):22766.

Grumach AS, Goudouris E, Dortas Junior S, Marcelino FC, Alonso MLO, Martins RO, Arpon MA, Valle SOR. COVID-19 affecting hereditary angioedema patients with and without C1 inhibitor deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021 Jan;9(1):508-510.

Hacard F, Nosbaum A, Bensaid B, Nicolas JF, Augey F, Goujon C, Bérard F. Angioedème histaminique et urticaire chronique [Histaminergic angioedema and chronic urticaria]. *Presse Med*. 2015 Jan;44(1):37-42. French.

Hassan K. Urticaria and angioedema as a prodromal cutaneous manifestation of SARS-CoV-2 (COVID-19) infection. *BMJ Case Rep*. 2020 Jul 7;13(7):e236981.

Imbalzano E, Casciaro M, Quartuccio S, et al. Association between urticaria and virus infections: A systematic review. *Allergy Asthma Proc*. 2016;37(1):18-22.

Kanani A, Betschel SD, Warrington R. Urticaria and angioedema. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2018;14(Suppl 2):59. Published 2018 Sep 12.

Kazandjieva J, Christoff G. Angioedema as a systemic disease. *Clin Dermatol*. 2019;37(6):636-643.

Levinson AI. Urticaria and angioedema. Current approach to common problems. *Postgrad Med*. 1984 Jul;76(1):183-92.

Long BJ, Koyfman A, Gottlieb M. Evaluation and Management of Angioedema in the Emergency Department. *West J Emerg Med*. 2019;20(4):587-600.

Longhurst HJ, Bork K. Hereditary angioedema: an update on causes, manifestations and treatment. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2019 Jul 2;80(7):391-398.

Mansi M, Zanichelli A, Coerezza A, Suffritti C, Wu MA, Vacchini R, et al. Presentation, diagnosis and treatment of angioedema without wheals: a retrospective analysis of a cohort of 1058 patients. *J Intern Med* 2015;277:585-93.

Mareri A, Adler SP, Nigro G. Herpèsvirus-associated acute urticaria: an age matched case-control study. *PLoS One*. 2013;8(12):e85378. Published 2013 Dec 27.

Milton JL. On Giant Urticaria. *Edinb Med J*. 1876 Dec;22(6):513-526.

Muller BA. Urticaria and angioedema: a practical approach. *Am Fam Physician*. 2004 Mar 1;69(5):1123-8.

Osler W. Hereditary angio-neurotic edema. *Am J Med Sci* 1888;95:362-7.

Otani IM, Banerji A. Acquired C1 Inhibitor Deficiency. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2017 Aug;37(3):497-511.

Petitpierre S, Bart PA, Spertini F, Leimgruber A. The multiple etiologies of angioedema. *Rev Med Suisse*. 2008 Apr 23;4(154):1030-4, 1036-8.

Pier J, Bingemann TA. Urticaria, Angioedema, and Anaphylaxis. *Pediatr Rev*. 2020 Jun;41(6):283-292.

Quincke H. Concerning the acute localized oedema of the skin. *Monatsh Prakt Dermat* 1882;I:129-31.

Royer PY, Zayet S, Jacquin-Porretaz C, Kadiane-Oussou NJ, Toko L, Gendrin V, Klopfenstein T. Angioedema and COVID-19: A New Dermatological Manifestation? *Infect Dis Rep*. 2021 Jan 1;13(1):23-25.

Valerieva A, Nedeva D, Yordanova V, Petkova E, Staevska M. Therapeutic management of hereditary angioedema: past, present, and future. *Balkan Med J*. 2021 Mar;38(2):89-103.

Visy B, Füst G, Bygum A, Bork K, Longhurst H, Bucher C, Bouillet L, Cicardi M, Farkas H. *Helicobacter pylori* infection as a triggering factor of attacks in patients with hereditary angioedema. *Helicobacter*. 2007 Jun;12(3):251-7.

Weidenbach H, Beckh KH, Lerch MM, Adler G. Precipitation of hereditary angioedema by infectious mononucleosis. *Lancet*. 1993 Oct 9;342(8876):934.

Youngnak-Piboonratanakit P, Takahashi Y, Nakajima Y, & Omura K. (2008). Akutni angioedem i urtikarija vezana za infekciju virusom herpes simplex. *Acta stomatologica Croatica*, 42(1), 64-71.

Zawar V, Godse K, Sankalecha S. Chronic urticaria associated with recurrent genital herpes simplex infection and success of antiviral therapy--a report of two cases. *Int J Infect Dis*. 2010;14(6):e514-e517.

Zingale LC, Beltrami L, Zanichelli A, Maggioni L, Pappalardo E, Cicardi B, et al. Angioedema without urticaria: a large clinical survey. *CMAJ*. 2006;175(9):1065-70.

Zuberbier T, Aberer W, Asero R, Abdul Latiff AH, Baker D, Ballmer-Weber B, Bernstein JA, Bindslev-Jensen C, Brzoza Z, Buense Bedrikow R, Canonica GW, Church MK, Craig T, Danilycheva IV, Dressler C, Ensina LF, Giménez-Arnau A, Godse K, Gonçalo M, Grattan C, Hebert J, Hide M, Kaplan A, Kapp A, Katelaris CH, Kocatürk E, Kulthanan K, Larenas-Linnemann D, Leslie TA, Magerl M, Mathelier-Fusade P, Meshkova RY, Metz M, Nast A, Netti E, Oude-Elberink H, Rosumeck S, Saini SS, Sánchez-Borges M, Schmid-Grendelmeier, Staubach P, Sussman G, Toubi E, Vena GA, Vestergaard C, Wedi B, Werner RN, Zhao Z, Maurer M. The EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy*. 2018 Jul;73(7):1393-1414.



PARTIE EXPÉRIMENTALE



Article N° 1 – “Caractérisation virologique de la réactivation des herpèsvirus humains (EBV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, CMV, VZV) et du torque teno virus dans l’angioédème”

Dans la littérature, la caractérisation des infections à herpèsvirus au décours des crises d’angioédèmes (AE) bradikiniques ou histaminiques n’était pas bien décrite hormis quelques cas rapportant de crises d’angioédèmes au décours d’une primo-infection ou d’une récurrence liée à un des 8 herpèsvirus humains essentiellement l’HSV-1, le VZV et l’EBV. En 2012, une étude de Csuka D, et al. concernant 107 patients avec un angioédème héréditaire dû à un déficit en inhibiteur de C1 montrait des taux d’anticorps sériques anti-EBNA1 (Epstein–Barr nuclear antigen 1) élevés à l’instar de ce qui a été décrit dans certaines maladies dysimmunitaires liées à l’EBV comme la sclérose en plaque. Cette étude a également montré que les titres élevés d’anticorps étaient corrélés à une fréquence plus élevée des manifestations cliniques respiratoires lors des crises d’AE. A notre connaissance, aucune étude n’avait étudié à la fois la présence et la quantification des génomes viraux et des anticorps des principaux herpèsvirus humains lors des crises d’AE. Notre hypothèse générale était que l’histoire naturelle des herpèsvirus est modifiée chez les patients atteints d’angioédème.

Nous avons évalué la charge virale ADN de six virus EBV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, CMV et VZV dans des échantillons de sang total, de salive et de sérum prélevés chez des patients en crise d’angioédème (à J0) et dans une population contrôle d’individus sains. Nous avons également évalué les titres d’anticorps dirigés contre ces virus chez ces mêmes patients. Pour 7 patients nous avons pu suivre la charge virale d’EBV dans le sang et la salive à J0, J2 et J7. Nous avons également quantifié la présence du torque teno virus (TTV) dans le sang et la salive puisque ce virus ubiquitaire a été décrit comme un marqueur indirect de l’état immunitaire des individus.

28 patients présentant une crise d’AE bradikinique (n=16) ou histaminique (n=12) appartenant à la cohorte grenobloise BioBrad du Centre de Référence des Angioédèmes à Kinines (CREAK) de Grenoble ont été inclus rétrospectivement pour les analyses virologiques. 27 volontaires sains du laboratoire ont également bénéficié d’un prélèvement de sang et de salive. Tous les tests moléculaires et sérologiques ont été effectués avec des kits commerciaux en suivant les préconisations des fournisseurs.

La fréquence de la détection de l’EBV dans la salive et le sang était légèrement plus élevée dans le groupe AE par rapport au groupe témoin de même que la charge virale dans le

sang total et le taux d'IgG sérique anti-EBNA1. La même tendance non statistiquement significative était retrouvée pour la détection de HSV-1 dans la salive entre le groupe AE et le groupe témoin. Aucune différence n'était retrouvée pour les virus HSV-2, HHV-6, CMV et VZV hormis un titre significativement plus élevé d'IgG anti-VZV dans le groupe AE (titre médian = 1758 AU/mL vs 1095 AU/mL, $p = 0,013$). La détection dans la salive du TTV était significativement plus fréquente dans le groupe AE (86,9% vs 59,2%, $p = 0,029$).

En conclusion notre étude suggère une réactivation de certains herpèsvirus (EBV et HSV-1) dans la salive lors des crises d'AE mais le nombre de patients est trop faible pour une conclusion formelle sur cette réactivation. Cette étude montre que le TTV est réactivé dans la salive des patients présentant une crise d'AE.

“Characterization of herpesviruses (EBV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, CMV, VZV) and torque teno virus reactivation in the angioedema crisis”

Authors : Anastasiia Filippova ^{1,2,3}, Julien Lupo ^{1,2}, Gauthier Caillard ², Irina Malova ³, Alban Deroux ², Laurence Bouillet ², Laurence Grossi ^{1,2}, Patrice Morand ^{1,2}, Raphaële Germi ^{1,2}

1 - Institute of Structural Biology, University of Grenoble-Alpes, Grenoble, France;

2 – Grenoble Alpes University Hospital, Grenoble, France;

3 - Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

Abstract:

Objective:

Angioedema (AE), a potentially life-threatening disease, occurs in 10-20% people at least once in a lifetime sometimes triggering by viral infections. The consequences of AE attacks on human persistent infections are unknown. This study assessed virological and serological marker of 6 human herpesvirus (EBV, HSV-1/2, HHV-6, CMV and VZV) and Torquetenovirus (TTV) in saliva, whole blood and serum of patients with a bradykinin or histamine AE attack.

Methods:

Total whole blood, serum and saliva of 28 patients at the beginning of an AE crisis and 27 healthy volunteers were examined using qPCR. Quantifications of DNA viral loads and serological assays were carried out with commercially available assays routinely used in the laboratory.

Results:

The frequency of EBV reactivation in saliva and blood of the study group on the day of the angioedema crisis was slightly higher but not statistically significant than in control group (saliva detection = 52% vs 39%, $p = 0.374$; blood detection = 26% vs 17%, $p = 0.474$, respectively). The viral load was slightly higher in the blood of patients compared to controls (mean = 1691 vs 734 copies/mL, $p = 0.476$) but not statistically significant. The levels of EBV anti-VCA IgG and anti-EBNA-1 IgG in the AE group also tended to be higher compared to the control group (median 383 vs 248 AU/mL $p = 0.322$; 258 vs 193 AU/mL $p = 0.432$). Angioedema attack was associated with a higher frequency of HSV-1 reactivation in saliva and a higher saliva viral load but not statistically significant, compared to healthy subjects (22% vs 0%, $p = 0.112$; mean 5330 vs 0 copies/mL, $p = 0.071$). A higher and statistically significant level of anti-VZV IgG in AE group than in healthy subjects (median = 1758 AU/ml vs 1095 AU/ml) ($p = 0.013$) was observed. No significant difference was reported for others herpesvirus infections. The frequency of TTV detection in saliva was significantly higher in the AE group than in healthy volunteers ($p = 0.029$) but without difference in viral load.

Conclusions:

Although our study suggested that some human herpesvirus (at least EBV and HSV) could be reactivated in saliva during an AE attack, the number of patients and controls was too weak to reach a firm conclusion about the frequency of herpesvirus reactivation during AE. This study also confirms that TTV could be reactivated in chronic recurrent diseases in various body fluids.

Keywords: angioedema, herpesviruses, Epstein-Barr Virus

INTRODUCTION

Angioedema (AE) is a clinical syndrome characterized by abrupt, non-inflammatory localized and short-lived oedema of the subcutaneous tissue and/or mucosal membranes subsequent to increased vascular permeability induced by vasoactive mediators such as histamine and bradykinin. It most commonly occurs with urticarial wheals but may occur in isolation. Most often, AE affects the face, tongue, lips, and eyelids and is self-limited but in some cases, AE can progress to life-threatening upper airway oedemas with acute asphyxiation (Bernstein et al., 2017; Memon et al., 2021). In the United-States, it accounts for 80,000 to 112,000 emergency department visits per year (Long et al., 2019).

A number of different factors may cause AE: foods, drugs, stings, inhalants, physical factors, molecular genetic basis, B-cell lymphoproliferative disorders, autoimmune connective tissue diseases, infectious agents including human herpesviruses such as herpes simplex virus (HSV), varicella zona virus (VZV) and Epstein-Barr virus (EBV) (Youngnak-Piboonratanakit et al., 2008; Zingale et al., 2006; Minh et al., 1983; Kaplan et al., 2005; Weidenbach et al., 1993; Csuka et al., 2012). The role of herpesviruses in the pathogenesis of AE as well as the consequences of AE on the natural history of these persistent and ubiquitous viruses remains poorly explored.

The aim of this study was to assess the DNA viral load of EBV and 5 other herpesviruses (CMV, HSV-1, HSV-2, VZV and HHV-6) in blood and saliva of patients during AE crisis in order to characterize the frequency of viral reactivation in comparison with healthy controls. In addition, because the Torque Teno Virus (TTV) is an ubiquitous DNA virus with variation in its natural history during autoimmune diseases or immunosuppression (Doberer et al., 2020; Fernández-Ruiz, 2020); we also assessed the viral load of TTV in saliva and blood from the patients and the controls.

MATERIAL AND METHODS

1.1 Patient cohort and samples.

The study involved 28 adult patients with AE crisis and 27 healthy adult volunteers (control group). Twelve patients presenting with histamine AE and sixteen with bradykinin AE [median age 57 years (37-62), 16 women and 12 men] were regularly followed at National Centre of Reference for AE in France (university hospital of Grenoble). The samples (whole blood, serum and saliva) were collected between 2012 and 2015 at the beginning of a

crisis of AE (D0), and were kept frozen at -80°C. For 7 patient's saliva and blood samples were also obtained on day 2 and day 7.

Samples of the controls [median age 34 years (26-45), 21 women and 6 men] were collected in 2018 from the staff of the virology laboratory of the university hospital. Controls were sampled only one time.

All patients and controls received complete information about the study and gave their written consent to use their samples for laboratory tests.

1.2 Quantification of the DNA load of the viruses.

At first stage, total DNA was extracted from saliva and serum samples by the automated nucleic acid extraction platform NucliSens EasyMag® (BioMérieux, Marcy l'étoile, France). DNA extraction from whole blood specimens was performed by the MagNAPure® extractor (Roche Life Science, Meylan, France), according to the manufacturers protocol.

At the next stage, DNA viral loads were determined by quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) using the high-performance LightCycler®480 Instrument II platform (Roche Life Science, Meylan, France). Quantitative real-time PCR reactions were performed using EBV, CMV, HHV-6, TTV R-GENE® assay (BioMérieux, Marcy l'étoile, France) and HSV-1/2/ VZV LightMix® kit (TIB Molbiol, Berlin, Germany).

qPCR reaction was carried out in accordance with the manufacturer's instructions in a final volume of 20 µL containing reaction mix for amplification and extracted DNA. The PCR program consisted of 45 temperature cycles: A denaturation step of 10 sec at 95°C, hybridation and elongation step 40 sec at 60°C. Quantification of the DNA viral load was carried out on the basis of a standard curve consisting of 4 quantification standards (QS1, QS2, QS3, QS4). The differentiation of HSV-1 and HSV-2 was based on a melting curve with melting points (T_m) corresponding to each type of herpes simplex virus (T_m 67°C for HSV-1 and T_m 60°C for HSV-2). The results are expressed in number of copies per mL.

All necessary controls have been carried out: extraction control, inhibition control and negative controls.

1.3 Serology.

For all subjects, the serological status for herpesviruses was determined with the chemiluminescent diagnostic system LIAISON® XL (DiaSorin, Italy) routinely used at the university laboratory. The serum antibody titer against EBV infection was determined using the LIAISON® VCA IgG, LIAISON® EBNA IgG and LIAISON® EBV IgM kits (DiaSorin, Italy). For the other herpesviruses LIAISON® HSV 1\2 IgG, LIAISON® CMV IgG II, CMV IgM II and LIAISON® VZV IgG kits (DiaSorin, Italy) were used. Antibody titers were calculated and expressed in arbitrary units (AU/mL). Analyses and serological interpretation (i.e. seronegative, primary infection, past infection) were performed according to the manufacturer recommendations.

1.4. Statistical analysis.

Because of the small number of patients, we used nonparametric statistical tests. The statistical comparison of the frequency of virus replication in the two groups was carried out using the *chi2 method* or an alternative *Fisher's exact test* when the samples were small. The comparison of DNA viral loads in biological fluids in the experimental and control groups was carried out using the *Mann and Whitney test*, *Student's t-test* and was presented on a boxplot. The DNA viral loads were expressed as copies per milliliter. The differences were considered as statistically significant if p-value were ≤ 0.05 .

Serological quantitative data of antibodies against viruses were compared in the two groups using the *Mann and Whitney test* and were statistically significant if p-value ≤ 0.05 .

RESULTS

2.1. EBV DNA detection, EBV DNA loads and antibodies titers against EBV in AE patients and controls (Table 1, Figure 1A, 1B).

EBV DNA qPCR was only performed in patients with a past EBV infection confirmed by the presence of anti-VCA IgG in the patient's serums.

Twenty-three saliva and 23 whole blood samples from patients at D0 of the AE crisis and 23 saliva and 23 whole blood samples from healthy volunteers were analyzed. Although the frequencies of EBV DNA detection in saliva and whole blood were higher in patients compared to controls (52% versus 39% and 26% vs 17%, respectively) (table 1), the difference was not statistically significant. No statistically significant difference between the

two groups was observed for the mean EBV DNA viral loads neither in saliva nor in whole blood even if the viral load was slightly higher in the blood of patients compared to controls (mean = 1691 vs 734 copies/mL, $p = 0.476$) (figure 1A, 1B). The serum samples of both groups were always negative for EBV DNA detection (data not shown).

The follow up of EBV DNA load in saliva and blood collected at D0, D2 and D7 from 7 AE patients did not show any statistically significant difference between D0, D2 and D7 (table 2, and figure 2).

In the 24 patients of AE group, 16 patients were positive for anti-VCA and anti-EBNA IgG, and 5 patients had only anti-VCA IgG without anti EBNA-1 IgG (two patients had uninterpretable result for EBNA IgG detection). One patient was EBV seronegative. In the control group, 21 individuals were positive for VCA and anti-EBNA IgG, 2 had patients had only anti-VCA IgG and 2 individuals were EBV seronegative. The anti-VCA IgM antibodies were negative in all patients. Although the difference was not statistically different, the median antibody titer of anti-VCA and anti-EBNA IgG were slightly higher in AE patients as compared with control: 383 versus 248 UA/mL and 258 versus 193 UA/mL, respectively. Interestingly the frequency of the serological profile “anti-VCA IgG positive / anti-EBNA IgG negative” was more frequent in the AE groups [$n= 5$ (21%)] as compared with the control group [$n=2$, (9%)].

2.2. DNA detections, DNA loads and antibodies titers against HSV 1/2, VZV, HHV-6 and CMV in AE patients and controls (Table 3).

The PCR detection of the 5 viruses DNA was performed only in patients with a past infection confirmed by positive detection of IgG antibodies.

Concerning the HSV1/2, the frequency of detection of HSV-1 in saliva was higher in AE patients as compared to the control group: $4/18 = 22\%$ versus $0/14 = 0\%$ but was not statistically significant. HSV-1 was never detected in whole blood or serum. HSV-2 was never detected in both groups neither in blood nor in saliva.

The HHV-6 was analyzed on 22 saliva samples and 24 whole blood samples from AE patients, as well as on 27 saliva samples and 24 whole blood samples from healthy volunteers. The frequency of detection of HHV-6 in saliva was nearly identical in the AE group (50%) and in the control group (48%). The frequency of detection of the virus in the blood in the AE

group (8.3%) and in the control group (4%), and the mean viral load in the control group (688;281 copies/mL) compared with the AE group (478;111 copies/mL) were not significantly different. No HHV-6 DNA was detected in any serum of the two groups.

CMV and VZV DNA were never detected neither in blood nor in saliva collected from the two groups.

No significant difference was observed for any serological markers except for VZV. The IgG antibodies against VZV were detected in 23 patients with AE and in 23 healthy people. The average value of antibodies directed against VZV in the AE group was statistically significantly higher compared to the control group: 1758 AU/mL vs 1095 AU/mL ($p = 0.013$).

2.3. DNA detections and DNA loads of the Torque Teno virus (TTV) in AE patients and controls.

Twenty-three saliva samples and 19 whole blood samples from patients, as well as 27 saliva samples and 23 whole blood samples from healthy volunteers were analyzed for TTV (Table 3). The frequency of TTV detection in saliva was statistically higher (86.9%) in AE group compared with the control group (59.2%) (p -value = 0.029). The frequency of TTV detection in whole blood was also higher in the AE group (89.4%) than in the control group (60.8%) but it was not statistically significant (p -value = 0.075). The mean viral load in saliva or blood tended to be higher in the control group than in the AE group but it was not statistically significant.

DISCUSSION

In this work, we studied the frequency of detection and the viral loads of herpesviruses DNA (EBV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, CMV, VZV) and TTV in saliva, whole blood and serum of patients at the beginning of an AE attack. We also assessed the antibody titers against these viruses in order to get molecular and serological markers of viral reactivations. To the best of our knowledge, this was the first study for a characterization of the state of these persistent viral infections during an AE attack.

Based on molecular and serological results that showed a trend to an increase of EBV DNA detection and viral load as well as antibodies titers, one could consider that EBV reactivated during an AE attack. The study of Csuka D et al., 2012 demonstrated a correlation

of high EBNA-1-IgG levels and frequency of upper airway attacks in 107 patients followed for hereditary AE with C1-inhibitor deficiency (Csuka et al., 2012) but did not explore the detection of viral DNA. We also observed an overall tendency of higher EBNA-1 IgG levels in patients with positive EBNA-1 IgG but we also noted that 21% of patients with AE lacked EBNA-1 IgG compared to only 9 % in healthy controls. In patient with a past EBV infection, this serological profile (i.e., positive anti-VCA IgG, negative anti-EBNA IgG) has been demonstrated as more frequent during immunodeficiency disorders. Thus, besides the high levels of anti-EBNA-1 IgG described by Csuka et al, it is possible that the lack of anti-EBNA-1 IgG reflects other modifications of the immunological background of AE.

Several studies reported AE attacks during clinical episodes of recurrent HSV-1 infections but none studied the detection of HSV DNA in clinical samples nor quantified the HSV viral loads (Minh et al., 1983; Zingale et al., 2006; Youngnak-Piboonratanakit et al., 2008). In this study, we observed a tendency, although not significant, of a more frequent detection of HSV-1 in saliva of AE patients compared to healthy controls.

Our study did not report tendencies or significant differences between AE patients and healthy controls about the characterization of HHV-6, CMV and VZV infections except for the levels of IgG against VZV, which were statistically significantly higher in the AE group. Off note, AE attacks have been described during clinical case of Herpes Zoster (Zingale et al., 2006; Sayhan et al., 2012).

Because detections and DNA TTV level in blood have been used as a marker of immune function in organ transplantation and in chronic disease; we wanted to characterize this infection during AE attacks. The frequency of DNA TTV detection in saliva but not in blood was significantly higher in the AE group than in the control group (87% versus 59%) (without significant differences for the viral loads). Interestingly the TTV has been recently described as a potential biomarker for SARS-CoV-2 infection with a correlation between TTV DNA load in saliva and RNA SARS CoV-2 load in nasopharyngeal samples. However TTV frequency of detection was similar between the SARS CoV-2 group and the controls (55% and 63% respectively) (Mendes-Correra et al., 2021).

Our study presents some important limitations, the small number of patients and the differences of age and sex ratio between the two groups and some missing data about viruses or antibodies detection in saliva or blood in the two groups.

CONCLUSIONS

Although our study suggested that some human herpesviruses (at least EBV and HSV) could be reactivated in saliva during an AE attack, the number of patients and controls was too weak to reach a firm conclusion about the frequency of herpesviruses reactivation during AE. Furthermore, we still not know if these reactivations could play a role of triggers of AE attack or would be only a consequence of AE attacks. This study also confirms that TTV could be reactivated in chronic recurrent diseases in various body fluids.

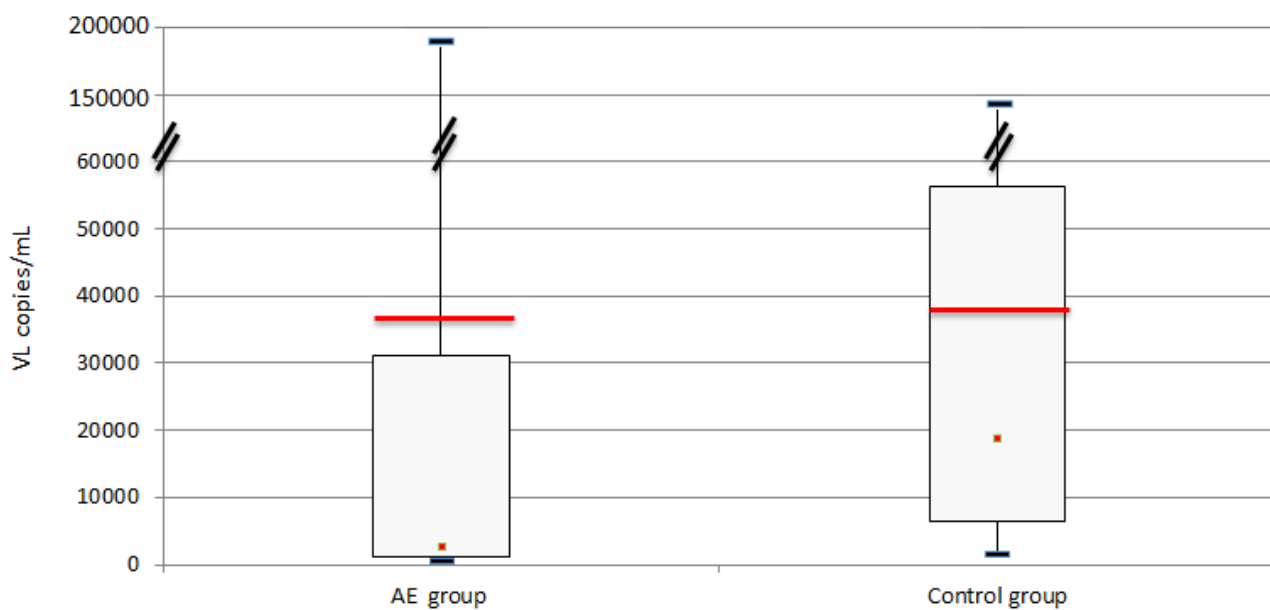


Figure 1A. EBV viral load (VL) in saliva

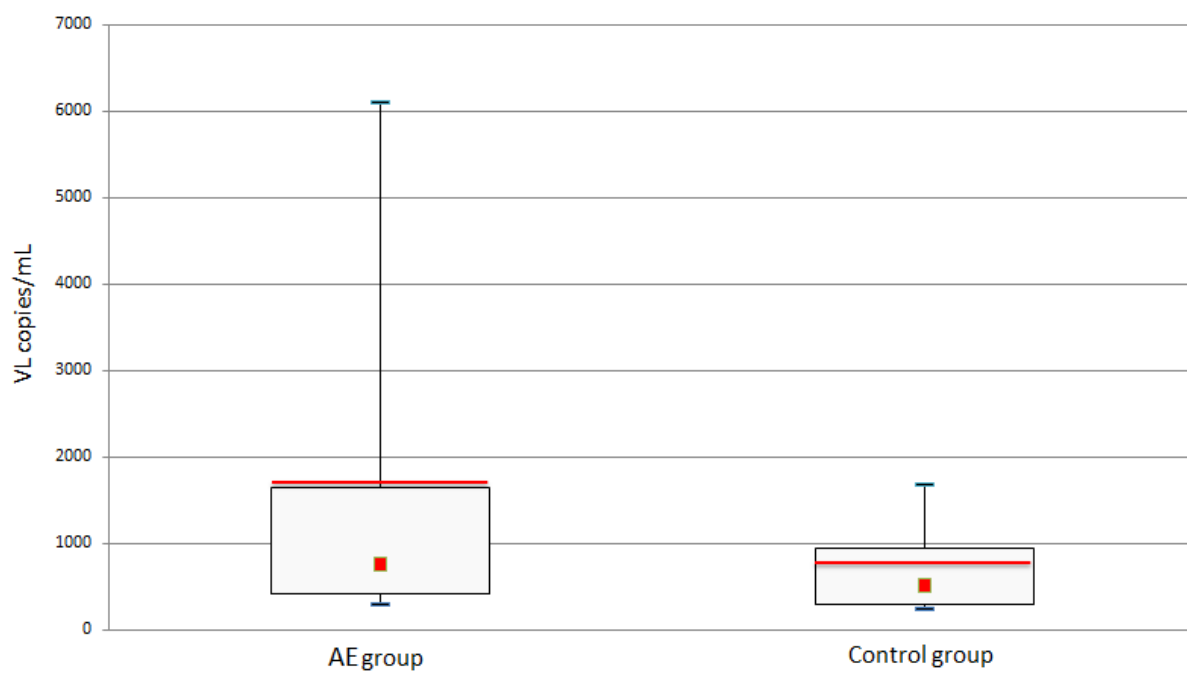


Figure 1B. EBV viral load (VL) in whole blood



Table 1. Frequency of reactivation, of viral load of EBV in various biological fluids and antibodies against the EBV in the AE group and in the control group

EBV		AE Group	Control Group	P value
EBV DNA in Saliva	number of analyzed saliva (only seropositive for IgG VCA)	23	23	
	number of positive saliva (reactivation)	12 (52%)	9 (39%)	0.374*
	mean viral load in saliva	35 920 copies/mL	37436 copies/mL	0.193 **
EBV DNA in whole blood	number of analyzed whole blood (only seropositive for IgG VCA)	23	23	
	number of positive whole blood (reactivation)	6 (26%)	4 (17%)	0.474*
	mean viral load in whole blood	1 691 copies/mL	734 copies/mL	0.476 **
VCA-IgG	number of analyzed sera	24	25	
	number of positive sera	23	23	
	number of negative sera	1	2	
	median of arbitrary unit/ml [IQ range]	383 [186-695]	248 [120-483]	0.322 **
EBNA-IgG	number of analyzed sera	24	25	
	number of EBNA-IgG positive	16	21	
	number of EBNA-IgG negative	6	4	
	uninterpretable	2	0	
	median of arbitrary unit/ml [IQ range]	258 [140-512]	193 [64-394]	0.432 **

AE, Angioedema

c/mL - copies/mL

[IQ range] - interquartile 25-75%

* Nonparametric qualitative tests (Chi-square test or Fisher's exact test)

** Nonparametric quantitative test (Mann-Whitney U test)

Table 2. Frequency of reactivation and viral load of EBV in 7 patients with AE on day 0, day 2, and day 7

Virus	EBV				
	day 0	day 2	P value (D0-D2)	day 7	P value (D0-D7)
Frequency of reactivation					
saliva	57%	28.5%	0.592*	43%	1*
whole blood	28.5%	14.3%	1*	28.5%	1*
Mean viral load					
saliva	27862 copies/mL	600 copies/mL	0.266**	116425 copies/mL	0.4**
whole blood	750 copies/mL	2700 copies/mL	0.722**	600 copies/mL	1**

AE, Angioedema

* Nonparametric qualitative tests (Chi-square test or Fisher's exact test)

** Nonparametric quantitative test (Mann-Whitney U test)

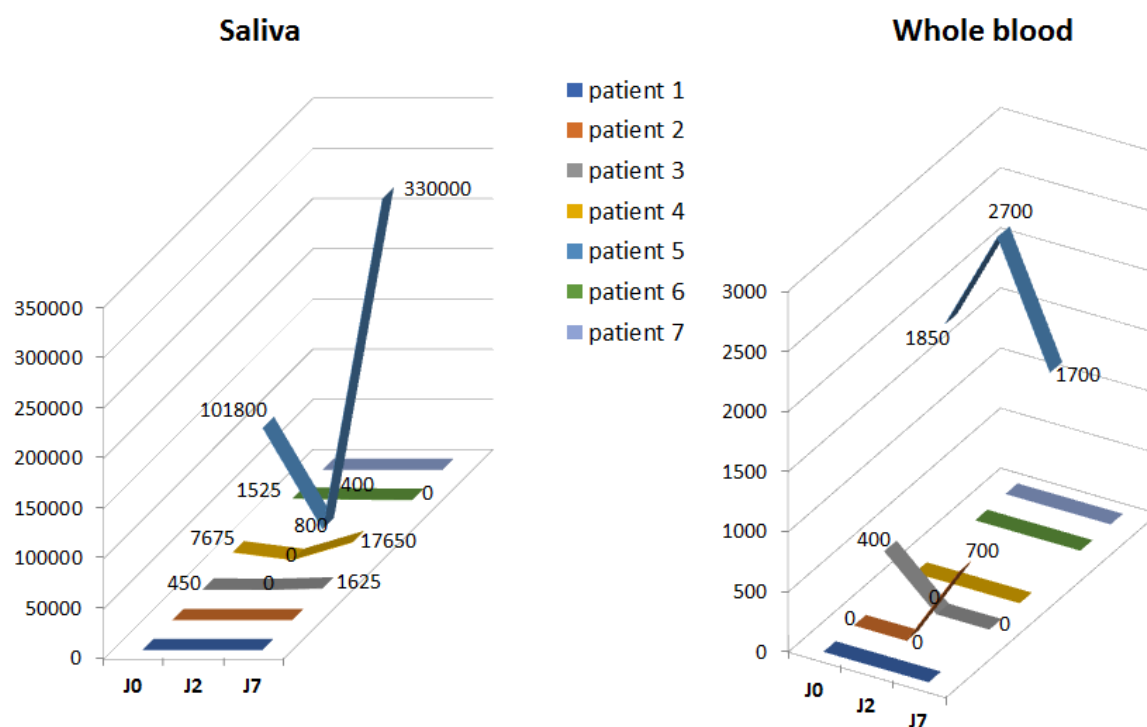


Figure 2. Viral load of EBV in saliva and blood in 7 patients with AE on D0, D2 and D7

Table 3. Frequency of reactivation and viral load of HSV, HHV-6, CMV and TTV in various biological fluids in the AE group and the control group

Virus		HSV-1			HHV-6			CMV			TTV		
		AE	CG	p	AE	CG	p	AE	CG	p	AE	CG	p
Saliva	number of analyzed saliva (only seropositive)	18	14		22	27		15	9		23	27	
	number of positive samples saliva «frequency of reactivation»	4 (22%)	0 (0%)	0.112*	11 (50%)	13 (48%)	0.897*	0 (0%)	0 (0%)	1*	20 (86.9%)	16 (59.2%)	0.029*
	mean viral load in saliva (c/mL)	5330	0	0.071**	478	688	0.562**	0	0	-	783	1976	0.081**
whole blood	number of analyzed whole blood (only seropositive)	-	-	-	24	24		15	9		19	23	
	number of positive whole blood	-	-	-	2 (8.3%)	1 (4%)	1*	0 (0%)	0 (0%)	1*	17 (89.4%)	14 (60.8%)	0.075*
	mean viral load in whole blood	-	-	-	111	281	1**	0	0	-	3232	6909	0.624**

AE angioedema

CG - Control Group

p – p value

C/mL - copies/mL

* Nonparametric qualitative tests (Chi-square test or Fisher's exact test)

** Nonparametric quantitative test (Mann-Whitney U test)

REFERENCES

- Bernstein JA, Cremonesi P, Hoffmann TK, Hollingsworth J. Angioedema in the emergency department: a practical guide to differential diagnosis and management. *Int J Emerg Med*. 2017 Dec;10(1):15.
- Csuka D, Varga L, Farkas H, Füst G. Strong correlation of high EBNA-1-IgG levels with edematous attacks involving upper airway mucosa in hereditary angioedema due to C1Inhibitor deficiency. *Mol Immunol*. 2012 Jan;49(4):649-54.
- Doberer K et al. Torque Teno Virus for Risk Stratification of Graft Rejection and Infection in Kidney Transplant recipients – A Prospective Observational Trial. *Am J Transplant* 2020
- Fernández-Ruiz M. Torque Teno virus load as a surrogate marker for the net state of immunosuppression: The beneficial side of the virome. *Am J Transplant*. 2020 Aug;20(8):1963-1964.
- Kaplan AP, Greaves MW. Angioedema. *J Am Acad Dermatol*. 2005 Sep;53(3):373-88; quiz 389-92.
- Long BJ, Koyfman A, Gottlieb M. Evaluation and Management of Angioedema in the Emergency Department. *West J Emerg Med*. 2019;20(4):587-600.
- Memon RJ, Tiwari V. Angioedema. 2021 Aug 11. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan–. PMID: 30860724.
- Mendes-Correa, M. C., Tozetto-Mendoza, T. R., Freire, W. S., Paiao, H., Ferraz, A., Mamana, A. C., Ferreira, N. E., de Paula, A. V., Felix, A. C., Romano, C. M., Braz-Silva, P. H., Leal, F. E., Grespan, R., Sabino, E. C., Costa, S. F., & Witkin, S. S. (2021). Torquetenovirus in saliva: A potential biomarker for SARS-CoV-2 infection?. *PloS one*, 16(8), e0256357.
- Minh D, Czink E, Füst G, Hollán SR. Acquired C1-esterase inhibitor deficiency and recurrent herpes infection in a patient with chronic lymphocytic leukemia. *Diagn Immunol*. 1983;1(2):68-71.
- Sayhan, M. B., Sezenler, E., Nalbur, I. H., Yagci, G., & Gezer, E. (2012). Herpès Zoster Ophthalmicus/Herpès Zoster Oftalmikus. *Akademik Acil Tip Olgu Sunumlari Dergisi*, 3(3), 74.
- Weidenbach H, Beckh KH, Lerch MM, Adler G. Precipitation of hereditary angioedema by infectious mononucleosis. *Lancet*. 1993 Oct 9;342(8876):934.
- Youngnak-Piboonratanakit P, Takahashi Y, Nakajima Y, Omura K. Acute Angioedema and Urticaria Associated with Herpès Simplex Infection. *Acta Stomatol Croat*. 2008;42(1):64-71.
- Zingale LC, Beltrami L, Zanichelli A, Maggioni L, Pappalardo E, Cicardi B, Cicardi M. Angioedema without urticaria: a large clinical survey. *CMAJ*. 2006 Oct 24;175(9):1065-70.

Article N° 2 – "L'angioedème associé à l'urticaire dans le service d'Allergologie et d'Immunologie Clinique de l'hôpital d'Irkoutsk N°10 : caractérisations anamnestiques, cliniques et biologiques"

Devant le manque d'études concernant la prévalence de l'angioedème (AE) associé à l'urticaire dans la ville d'Irkoutsk, nous avons mené une étude rétrospective à partir des dossiers médicaux des patients suivis dans le service d'Allergologie et d'Immunologie Clinique de l'hôpital d'Irkoutsk n°10. Cette étude comprenait une analyse rétrospective des éléments cliniques et biologiques de 113 dossiers (papiers) de patients atteints d'AE et urticaire aiguë/chronique pendant la période de janvier 2016 à décembre 2018, ainsi qu'une analyse de la fréquence de cette pathologie parmi les autres causes de consultations ou d'hospitalisations sur une période de 5 ans (2014-2018) regroupant 6002 dossiers informatisés de patients.

Pendant la période 2014-2018, l'AE est apparu comme la 4^e cause de venue dans le service (7,38% des venues) après l'asthme (47%), les toxicodermies (17,4%) et l'urticaire (13,7%). En 2014, l'AE représentait 9,1% des causes de venue dans le service alors qu'en 2018 il ne représentait plus que 4,8% des causes de venue. L'étude des 113 dossiers montre que dans les cas d'AE associés à une urticaire aiguë (UA) (n=73) ou une urticaire chronique (UC) (n= 40) on suspectait un facteur déclenchant unique ou multiple dans près de 70% des cas et aucun facteur déclenchant n'était retrouvé dans près de 30% des cas.

Dans le groupe AE+UA, 80% des patients n'avaient pas d'antécédents personnels allergiques et environ 50% avaient des antécédents familiaux de manifestations allergiques plutôt de type respiratoire. Dans le groupe AE+UC, 60% des patients n'avaient pas d'antécédents personnels d'allergie et environ 50% avaient des antécédents familiaux de manifestations allergiques plutôt de type dermatologique. Les comorbidités (ulcère gastrique, hypertension artérielle, dysthyroïdies, insuffisance rénale) étaient plus fréquentes dans le groupe AE+UC (77,5%) que dans le groupe AE+UA (53%). Les signes cliniques étaient typiques et se caractérisaient par des éruptions urticariennes, avec des démangeaisons et des brûlures, et un œdème touchant le plus souvent plusieurs zones simultanément (visage, cou, oreilles, lèvres, larynx, langue et pharynx).

Les paramètres de laboratoire montraient une augmentation des leucocytes et de la vitesse de sédimentation plus fréquente chez les patients atteints d'AE associé à une urticaire

aiguë (64% et 30%) par rapport au groupe AE+UC (40% et 15%). Les IgE totales étaient augmentées dans les deux groupes dans environ la moitié des cas.

Ангioneвротический отек: анамнестические и клинично-лабораторные взаимосвязи

А.И. Филиппова^{1,2}, профессор И.О. Малова¹, Л.А. Хашкина⁴, профессор П. Моран^{2,3}, д.м.н. Р. Жерми^{2,3}

¹ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Иркутск

²Университетская больница Гренобля, Франция

³Институт структурной биологии, Университет Гренобль Альпы, Франция

⁴ОГАУЗ «ИГКБ № 10», Иркутск

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: изучить частоту встречаемости ангионевротического отека (АО), ассоциированного с крапивницей, по материалам стационара г. Иркутска, а также проанализировать возможные причины развития этих заболеваний, семейную предрасположенность к ним, сопутствующую патологию и клинично-лабораторную характеристику пациентов.

Материал и методы: проведен ретроспективный анализ 113 историй болезни пациентов с диагнозом «АО и острая/хроническая крапивница», находившихся в круглосуточном или дневном стационаре в отделении аллергологии и иммунологии ОГАУЗ «ИГКБ № 10» в период с января 2016 г. по декабрь 2018 г., а также анализ частоты встречаемости данной патологии за 5 лет.

Результаты исследования: с 2014 по 2018 г. доля АО, сочетанного с крапивницей, среди других аллерго-иммунологических заболеваний составила 7,8%. Установлено, что частота встречаемости пациентов с данным заболеванием в указанном отделении снизилась в 1,9 раза — с 9,1 до 4,8%. Среди причин развития АО чаще отмечалось сочетание различных факторов (продукты-гистаминолибераторы, лекарственные препараты, неврогенные механизмы, сопутствующие заболевания желудочно-кишечного тракта и почек, контакт с синтетическими моющими средствами и др.), у 8,5% пациентов уточнить причины было невозможно. У большинства больных аллергологический анамнез был отрицательным, семейной предрасположенности к аллергическим заболеваниям и вредных привычек не выявлено, отмечалась сочетанная сопутствующая патология. Клиническая картина была типичной в виде уртикарных высыпаний, сопровождавшихся зудом и жжением, и отеков в излюбленных локализациях и, чаще всего, в нескольких локусах одновременно (лицо, шея, ушные раковины, губы, гортань, язык, зев). В лабораторных показателях часто отмечались лейкоцитоз, повышение СОЭ и высокий уровень IgE.

Заключение: по частоте встречаемости среди аллергологических заболеваний АО занял 4-е место. В течение 5 лет доля АО, сочетанного с крапивницей, снизилась в 1,9 раза. Наиболее часто АО провоцировали несколько факторов. У преобладающего числа больных выявлена сопутствующая сочетанная патология. В большинстве случаев клинические симптомы были типичными, с локализацией отеков в нескольких локусах одновременно. В анализах отмечались признаки воспаления.

Ключевые слова: аллергические заболевания, ангионевротический отек, острая крапивница, хроническая крапивница.

Для цитирования: Филиппова А.И., Малова И.О., Хашкина Л.А. и др. Ангионевротический отек: анамнестические и клинично-лабораторные взаимосвязи. *PMJ. Медицинское обозрение.* 2019;12:4–8.

ABSTRACT

Angioedema: anamnestic and clinical laboratory relations

A. Filippova^{1,2}, I.O. Malova¹, L.A. Khashkina⁴, P. Morand^{2,3}, R. Germe^{2,3}

¹Irkutsk State Medical University

²University Hospital of Grenoble, France

³Institute of Structural Biology, University Grenoble Alpes, France

⁴Irkutsk City Clinical Hospital № 10

Aim: to study the angioedema (AO) incidence, associated with urticaria, based on the materials of the hospital in Irkutsk, as well as to analyze the possible causes of these diseases progression, hereditary susceptibility to them, comorbidities and clinical laboratory characteristics of patients.

Patients and Methods: 113 patient histories diagnosed with AO and acute/chronic urticaria, who were at the day and night hospitalization in the Department of Allergy and Clinical Immunology of the Irkutsk City Clinical Hospital № 10 from the period from January 2016 to December 2018, were retrospectively analysed. Besides, the analysis of this pathology incidence over 5 years was performed.

Results: from 2014 to 2018, the AO percentage associated with urticaria was 7.8% among other allergic immunological diseases. It was found that this disease incidence in patients in a specified department decreased by 1.9 times — from 9.1% to 4.8%. A combination of various factors (histamine liberators, medicinal products, neurogenic mechanisms, concomitant diseases of the gastrointestinal tract and kidneys, contact with synthetic detergents, etc.) was more often noted among the AO progression causes; it was impossible to clarify the causes in 8.5% of patients. In most patients, the allergic history was negative, hereditary susceptibility to allergic diseases and bad health habits were not revealed, and there was combined comorbidity. The clinical picture was typical in the form of urticarial eruptions accompanied by itching and burning, and oedema in most popular sites, predominantly, in several loci at the same time (face, neck, ears, lips, larynx, tongue, pharynx). In laboratory parameters, leukocytosis, an increase in ESR and a high level of IgE were often noted.

Conclusion: AO took the 4th place according to the prevalence among allergic diseases. Within 5 years, the AO percentage associated with urticaria decreased by 1.9 times. Mostly, AO was provoked by several factors. Concomitant combined pathology was revealed in the prevailing number of patients. Commonly, the clinical symptoms were typical, with the localization of oedema in several loci at the same time. The tests showed signs of inflammation.

Keywords: allergic diseases, angioedema, acute urticaria, chronic urticaria.

For citation: Filippova A., Malova I.O., Khashkina L.A. et al. Angioedema: anamnestic and clinical laboratory relations. RMJ. Medical Review. 2019;12:4–8.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Ангионевротический отек (АО) — острая аллергическая реакция, представляющая в настоящее время актуальную проблему. У человека хотя бы раз в жизни может возникнуть крапивница. При этом только крапивница возникает в 50% случаев, острый АО в сочетании с крапивницей — в 40% и изолированный АО — в 10% [1].

Острая крапивница (ОК) характеризуется многократным возникновением волдырей, сопровождающихся или не сопровождающихся АО в течение 6 нед., а их рецидив, продолжающийся более 6 нед., считается хронической крапивницей (ХК) [2].

АО с крапивницей или без нее — это серьезное заболевание, которое помимо кожных проявлений может спровоцировать угрожающие для жизни человека состояния (анафилаксия с острой одышкой, симптомы шока, острые боли в животе) [3].

В Российской Федерации крапивница встречается довольно часто: распространенность ОК составляет 8–20%, а ХК поражает до 1,8% взрослого населения. При этом у каждого второго пациента с крапивницей регистрируется АО [4]. По данным зарубежных авторов, ОК поражает до 20% населения, а ХК — до 5% [5].

Крапивница возникает только на коже, тогда как АО поражает глубокие слои кожи, подкожно-жировую клетчатку и/или слизистые оболочки (включая верхние дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт). Излюбленной локализацией АО являются лицо (чаще губы и периорбитальная область), конечности и гениталии. Для тяжелых случаев характерен отек языка, горла, гортани. Высыпания при этих двух состояниях отличаются длительностью (при крапивнице — менее 24 ч, при АО — 24–48 ч), цветом (при крапивнице — красные, при АО — цвета кожи или розовые), зудом (при крапивнице — постоянный, при АО — непостоянный), болью и чувствительностью (при крапивнице — редко, при АО — часто) [1, 3].

Интерес представляет анализ распространенности крапивницы и АО в отдельных регионах страны. Анализ частоты госпитализации пациентов с диагнозом «острая крапивница и/или ангионевротический отек» проведен в Казани. За период с 2012 по 2014 г. число госпитализированных с данной патологией составило 2933, при этом в большинстве случаев ОК и АО были ассоциированы с лекарственными препаратами [6]. Распространенность отека Квинке и крапивницы в Томской области в 2006 г. составила 1,0–4,1% [7]. В Смоленске установлена тенденция к уменьшению частоты АО среди взрослого и детского населения (с 1,6% в 2010 г. до 0,4% в 2014 г.) [8]. В республике Башкортостан среди профессиональных аллергических дерматологов за 20-летний период (1995–2015) крапивница и отек Квинке занимали 2-е место (26,6%) после экземы верхних конечностей [9]. В Днепропетровской области в 2010 г. крапивница и отек Квинке заняли 3-е место

(18,3%) среди аллергических заболеваний [10]. По данным одного из стационаров Уфы, с 2009 по 2011 г. острая генерализованная крапивница встречалась у 42,9% пациентов, острый отек Квинке — у 18,3%, их сочетание — у 16,5% среди всех больных, поступивших с острыми аллергическими реакциями [11].

Информация о частоте встречаемости АО недоступна и может быть получена с помощью специального исследования. По городу Иркутску, как и по Иркутской области, мы не нашли подобных данных, в связи с чем было запланировано настоящее исследование.

Цель исследования: изучить частоту встречаемости АО, ассоциированного с крапивницей, по данным стационара г. Иркутска, а также проанализировать анамнестические и клинико-лабораторные данные.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пациенты с АО в г. Иркутске обращаются в несколько амбулаторных центров, но в силу острого процесса практически все они поступают в круглосуточный или дневной стационар аллергологического отделения ОГЛУЗ «ИГКБ № 10».

Официальная отчетность по заболеваемости, принятая в здравоохранении, не предполагает данного диагноза, поэтому официальные сведения о распространенности и заболеваемости АО как самостоятельной нозологической единицы, так и в сочетании с другими диагнозами отсутствуют, что обусловило выбор методики исследования в виде выкопировки данных из медицинской документации больных, госпитализированных в аллергологическое отделение больницы. Полученные сведения представляют собой частоту встречаемости заболевания среди взрослых, по данным специального исследования.

Исследован состав больных по виду аллергических заболеваний в отделении аллергологии и иммунологии ОГЛУЗ «ИГКБ № 10» за 5 лет (с 2014 по 2018 г.). Проведен ретроспективный анализ 113 историй болезни пациентов с диагнозом «ангионевротический отек и острая/хроническая крапивница», находившихся в круглосуточном или дневном стационаре в указанном отделении в период с января 2016 г. по декабрь 2018 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общее число пациентов, получивших лечение в круглосуточном и дневном стационаре отделения аллергологии и иммунологии ОГЛУЗ «ИГКБ № 10» за 2014–2018 г., составило 6002.

Среди аллергических заболеваний за 5 лет (рис. 1) наибольшую долю составили бронхиальная астма (47,08%), токсикодермия (17,43%), крапивница (13,73%), АО (7,38%). Остальные заболевания распределились в следующем по-

рядке: наследственная гипогаммаглобулинемия (3,41%), аллергический ринит (3,04%), аллергический контактный дерматит (2,47%), анафилактический шок (2,13%), атопический дерматит (1,98%), многоформная эритема (1,27%), синдром Лайелла (0,05%), сывороточная болезнь (0,03%).

За пятилетний период диагноз АО (в сочетании с крапивницей) был поставлен 437 больным. С 2014 по 2018 г. количество пациентов с данным диагнозом уменьшилось (табл. 1).

Группу пациентов с диагнозом АО и ОК/ХК (113 человек) составили 86 женщин (76,1%) и 27 мужчин (23,9%). Средний возраст пациентов с АО в сочетании с ОК составил $41,6 \pm 13,9$ года, в сочетании с ХК — $40,9 \pm 14,0$ года.

Анализ причин АО в сочетании с ОК показал, что 1-е место по частоте встречаемости занимала неуточненная этиология (у 24 человек — 32,8%), 2-е место — сочетанная этиология (у 18 человек — 24,6%): на фоне употребления продуктов гистаминолибераторов, полипрагмазии, заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) или почек, острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ). 17 человек (23,2%), анализируя причины развития АО в сочетании с ОК, назвали продукты-гистаминолибераторы (морепродукты, шоколад, орехи, алкоголь, мед, цитрусовые, пищевые добавки, сыр), 12 человек (16,4%) — лекарственную полипрагмазию (антибиотики, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, нестероидные противовоспалительные средства), 2 человека (3%) — укусы перепончатокрылых насекомых.

В группе пациентов с диагнозом АО в сочетании с ХК среди причин заболевания на 1-е место по частоте встречаемости вышел сочетанный генез (у 16 человек — 40%). Отмечено взаимодействие различных факторов: гистаминолибераторов, полипрагмазии, заболеваний ЖКТ, шитовидной железы, неврогенных причин, ОРВИ, холода, физической нагрузки. На 2-м месте оказалась неуточненная этиология (у 13 человек — 32,5%), 3-е место заняли известные причины (у 11 человек — 27,5%): продукты-гистаминолибераторы, лекарственная непереносимость, физический фактор, контакт с синтетическими моющими средствами.

Таким образом, анализ причинных факторов АО показал, что сочетание АО+ОК чаще всего развивалось на фоне неуточненной этиологии, тогда как АО+ХК — на фоне сочетанного генеза.

Анализ аллергологического анамнеза пациентов показал, что 57 пациентов (78,1%) с диагнозом АО+ОК не имели аллергических заболеваний в прошлом, 7 человек (9,6%) отметили наличие «диатеза» в детстве, 5 человек (6,8%) — атопического дерматита и 4 человека (5,5%) — поллиноза. При АО+ХК аллергической патологии в анамнезе не было у 24 человек (60,0%), остальные виды патологии отмечались в следующем порядке: бронхиальная астма у 6 (15,0%), атопический дерматит у 4 (10,0%), «диатез» в детстве у 3 (7,5%), аллергический ринит у 2 (5,0%), холодовая крапивница в детстве у 1 (2,5%). Таким образом, разнообразие аллергических заболеваний в анамнезе при АО+ХК было выражено в большей степени, чем при АО+ОК.

Мы проанализировали наличие семейной предрасположенности к аллергическим заболеваниям у пациентов с АО и крапивницей. У 37 больных (50,7%) с АО+ОК такая предрасположенность не выявлена. У 8 человек (11,0%) установлена семейная предрасположенность по одной линии родственников, имеющих заболевания кожи (экзема, аллергический контактный дерматит, атопический дер-

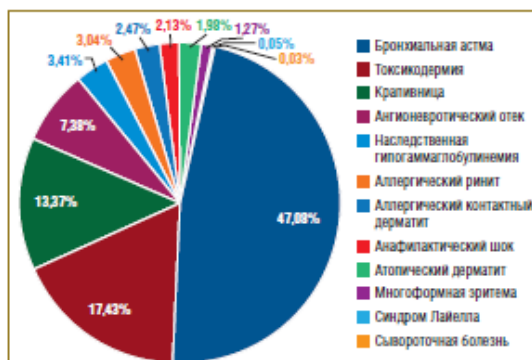


Рис. 1. Аллергические заболевания у пациентов отделения аллергологии и иммунологии ОГАУЗ «ИГКБ № 10» в 2014–2018 гг.

Таблица 1. Частота встречаемости пациентов с ангионевротическим отеком среди общего числа пациентов аллергологического отделения ОГАУЗ «ИГКБ № 10» на 100 исследуемых лиц

Год	Число всех пациентов аллергологического отделения	Число пациентов с ангионевротическим отеком	
		абс.	на 100 исследуемых лиц
2014	1654	151	9,1
2015	1171	104	8,8
2016	1125	99	8,8
2017	967	31	3,2
2018	1085	52	4,8

матит, крапивница), у 20 человек (27,4%) — имеющих респираторные аллергические заболевания (бронхиальная астма, аллергический ринит, поллиноз). Семейная предрасположенность к аллергическим заболеваниям по нескольким линиям родственников, имеющих заболевания кожи (атопический дерматит, аллергический контактный дерматит, неуточненная сыпь, атопическая экзема, крапивница, ангиоотек), выявлена у 4 пациентов (5,5%); имеющих респираторные аллергические заболевания (аллергический ринит, бронхиальная астма) — у 2 человек (2,7%); имеющих респираторные аллергические заболевания и заболевания кожи (поллиноз, бронхиальная астма, диатез, крапивница) — у 2 человек (2,7%).

При АО+ХК семейная предрасположенность к аллергическим заболеваниям не выявлена у 20 человек (50,0%); по одной линии родственников, имеющих заболевания кожи (крапивница, диатез, атопический дерматит, АО, аллергический контактный дерматит), выявлена у 9 человек (22,5%); имеющих респираторные аллергические заболевания (бронхиальная астма, поллиноз) — у 2 человек (5%). По нескольким линиям родственников, имеющих заболевания кожи (АО, крапивница, атопический дерматит, диатез), семейная предрасположенность установлена у 5 человек (12,5%); имеющих респираторные аллергические заболевания (бронхиальная астма) — у 2 человек (5%); по нескольким линиям родственников, имеющих респираторные

раторные аллергические заболевания и заболевания кожи (бронхиальная астма, АО, крапивница), — у 2 человек (5%).

Таким образом, как при АО+ОК, так и при АО+ХК у половины пациентов семейная предрасположенность к аллергии отсутствовала. Но стоит отметить, что у пациентов с диагнозом АО+ОК родственники чаще страдали респираторной аллергической патологией, тогда как при АО+ХК у родственников чаще отмечались аллергодерматозы.

Наследственность по другим заболеваниям при АО+ОК не была отягощена у 39 человек (53,4%). Отмечена отягощенность наследственности со стороны родителей, тетей и дядей, бабушек и дедушек, имеющих сердечно-сосудистые заболевания (гипертоническая болезнь, инсульт, ишемическая болезнь сердца), у 21 человека (29%); со стороны родителей, имеющих сочетанную патологию ССС и эндокринной системы, онкологическое заболевание (гипертоническая болезнь, сахарный диабет, рак желудка/легкого) — у 7 (9,6%); со стороны бабушек и дедушек, братьев и сестер с сахарным диабетом — у 3 человек (4%).

При АО+ХК отягощенная наследственность по другим заболеваниям отсутствовала у 16 пациентов (40%). Отягощенная наследственность по родителям, бабушкам и дедушкам, имеющим патологию ССС (гипертоническая болезнь, инсульт, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца), установлена у 18 человек (45,0%); по родителям и детям с сахарным диабетом — у 3 (7,5%); по бабушке и дедушке с системной красной волчанкой — у 1 (2,5%); по родителям с сочетанием гипертонической болезни и сахарного диабета — у 1 (2,5%); по родителям с раком желудка — у 1 (2,5%).

Таким образом, при АО+ОК наследственность по другим заболеваниям более чем у половины больных не была отягощена. Среди наследственной патологии чаще отмечались сердечно-сосудистые заболевания. При АО+ХК наследственность также чаще была отягощена по ССС.

Анализ вредных привычек у пациентов показал, что курение отрицали 45 человек (61,6%) с АО+ОК и 31 (77,5%) — с АО+ХК; прием алкоголя отрицали 65 (89%) пациентов с АО+ОК и 38 (95,0%) с АО+ХК, т. е. подавляющее большинство больных вредных привычек не имели.

Особый интерес представляет изучение *сопутствующей патологии* у пациентов с АО в сочетании с крапивницей. Из аллергических заболеваний установлен только аллергический ринит, который был диагностирован у 24 человек (32,9%) при АО+ОК и у 17 (42,5%) при АО+ХК.

При АО+ОК не имели сопутствующей патологии 13 человек (17,9%). Только одно сопутствующее заболевание было диагностировано у 19 пациентов (26%): патология ЖКТ — у 7, щитовидной железы — у 4, верхних дыхательных путей — у 4, анемия — у 2, вирусный гепатит С — у 2. Сочетание заболеваний выявлено у 41 человека (53,1%). Чаще в сочетании встречались патология ЖКТ (у 18), ССС (у 20), почек (у 11), реже — кожи (у 5), эндокринной системы (у 5), психические заболевания (у 2).

При АО+ХК только у 2 человек (5,0%) не обнаружено сопутствующей патологии. Один сопутствующий диагноз установлен у 7 больных (17,5%): патология ЖКТ — у 6, верхних дыхательных путей — у 1. Сочетанная патология отмечена у 31 пациента (77,5%). Наиболее часто комбинировались патология ЖКТ (у 19), ССС (у 11), эндокринной системы (у 11), заболевания кожи (у 7), реже — болезни почек и надпочечников (у 5), печени и желчного пузыря (у 3), нервной системы (у 3), верхних дыхательных путей (у 3), суставов (у 2).

Таким образом, чаще у пациентов наблюдается различная сочетанная патология, при этом при АО+ХК она включает большее количество органов и систем.

Среди сопутствующей патологии чаще встречались хронический поверхностный гастрит, ассоциированный или не ассоциированный с *Helicobacter pylori*, гипертоническая болезнь, хронический пиелонефрит и патология щитовидной железы (диффузный токсический зоб, тиреотоксикоз, диффузное увеличение щитовидной железы, аутоиммунный тиреоидит, медикаментозно компенсированный гипотиреоз).

Анализ клинической характеристики АО в сочетании с крапивницей показал, что давность заболевания у пациентов с хроническим процессом составила меньше 1 года у 11 человек (27,5%), от 1 года до 5 лет — у 11 человек (27,5%), от 5 до 10 лет — у 10 человек (25%), больше 10 лет — у 8 человек (20%). Кратность обострений АО в сочетании с ХК составила: 1 р./год — у 20 (50%) пациентов, 1–2 р./год — у 12 (30%), 2–3 р./год — у 2 (5%), 3–4 р./год у 3 (7,5%), 4–5 р./год — у 3 (7,5%).

У всех пациентов были выражены субъективные ощущения: зуд и жжение. Первичным элементом чаще всего были волдыри: у 53 (72,6%) человек с АО+ОК и у 34 (85,0%) — с АО+ХК. Эритематозные пятна как первичные элементы отмечены у 5 больных (6,9%) с АО+ОК; сочетание уртикарных высыпаний и эритематозных пятен — у 15 (20,5%) пациентов с АО+ОК и у 6 (15,0%) — с АО+ХК. Высыпания носили распространенный характер у большинства пациентов: у 67 (91,7%) с АО+ОК и у 38 (95,0%) с АО+ХК.

Анализ локализации отеков при АО+ОК и АО+ХК показал, что они были как изолированными (у 41,1 и 27,5% пациентов соответственно) — в области лица, гортани, кистей, так и комбинированными (у 58,9 и 72,5% соответственно) — в области лица, шеи, ушных раковин, языка и дужек, конечностей, губ, языка, гортани, зева, затылка.

Лимфатические узлы у пациентов с АО+ОК и АО+ХК пальпировались с одинаковой частотой (у 34,3 и 35,0% соответственно) — единичные, подвижные, мягкие, безболезненные.

При физикальном обследовании наших пациентов, не страдающих бронхиальной астмой, на заложенность носа, затруднение дыхания, чувство нехватки воздуха жаловались 32 (43,8%) человека с АО+ОК и 16 (40,0%) — с АО+ХК, дискомфорт при глотании отмечали 12 (16,5%) и 6 (15,0%) человек соответственно. У единичных больных, имеющих бронхиальную астму, отмечались заложенность носа и затруднение дыхания. При пальпаторном исследовании брюшной полости у большинства пациентов как с АО+ОК, так и с АО+ХК отмечался мягкий, безболезненный живот у 65 (89%) и 37 (92,5%) человек соответственно. Болезненность в эпигастрии отмечена у 8 (11%) человек с АО+ОК и у 3 (7,5%) — с АО+ХК.

Анализ результатов УЗИ органов брюшной полости и почек у 29 пациентов с АО+ОК и 23 с АО+ХК показал практически одинаковую частоту сочетанных изменений в печени, поджелудочной железе и почках: у 20,5 и 22,5% соответственно. Умеренные диффузные изменения, очаговые образования, диффузное увеличение щитовидной железы по результатам УЗИ щитовидной железы выявлены у единичных пациентов как с АО+ОК, так и с АО+ХК.

При оценке лабораторных показателей установлено, что такие острофазовые параметры, как лейкоцитоз и скорость оседания эритроцитов, чаще были повышены у боль-

Таблица 2. Некоторые лабораторные показатели у пациентов с ангионевротическим отеком в сочетании с крапивницей

Лабораторные показатели	Норма	АО+ОК	АО+ХК
		Абс. (%)	Абс. (%)
Лейкоциты, $\times 10^9$ клеток/л – в пределах нормы – повышены	4–9	24 (33) 47 (64,4)	23 (57,5) 16 (40)
СОЭ, мм/ч – в пределах нормы – повышена	М: 1–10, Ж: 2–15	50 (68,6) 22 (30,1)	32 (80) 6 (15)
Общий IgE, ед/мл – в пределах нормы – повышен	0–100	34 (46,6) 39 (53,4)	21 (52,5) 19 (47,5)

ных с АО+ОК — на 24,4 и 15% соответственно, по сравнению с группой АО+ХК (табл. 2). Общий IgE был повышен практически одинаково у пациентов обеих групп: у 53,4 и 47,5% соответственно. Обязательное паразитологическое обследование на наличие яиц гельминтов было проведено у всех пациентов, и в 100% случаев результаты были отрицательными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

АО в сочетании с ОК или ХК встречается часто, особенно среди лиц женского пола. Данная патология возникает под

воздействием различных известных и неизвестных факторов. В большинстве случаев такие пациенты имеют отрицательный аллергоанамнез, разнообразную сопутствующую патологию и традиционные клинико-лабораторные показатели. Приведенные результаты исследования продемонстрировали, что пациенты с АО в сочетании с крапивницей относятся к категории сложных, как правило, острых, требующих оказания скорой медицинской помощи, и чаще всего — в условиях стационара. При хроническом течении заболевания таким пациентам необходим диспансерный мониторинг с целью выявления сопутствующей патологии и ее коррекции.

Литература

1. Powell R.J., Leech S.C., Till S. et al. BSACI guideline for the management of chronic urticaria and angioedema. Clin Exp Allergy. 2015;45(3):547–565.
2. Radonjic-Hoesli S., Hofmeier K.S., Micaletto S. et al. Urticaria and Angioedema: an Update on Classification and Pathogenesis. Clin Rev Allergy Immunol. 2018;54(1):88–101.
3. Kaplan A.P., Greaves M.W. Angioedema. J Am Acad Dermatol. 2005;53(3):373–388.
4. Даниличева И.В., Ильина Н.И., Лусс Л.В. и др. Федеральные клинические рекомендации. Крапивница. Российский аллергологический журнал. 2018;5:47–62. [Danilicheva I.V., Ilina N.I., Luss L.V. et al. Federal Clinical Recommendations. Urticaria. Russian Journal of Allergy. 2018;5:47–62 (in Russ.)].
5. Fine L.M., Bernstein J.A. Guideline of Chronic Urticaria Beyond. Allergy Asthma Immunol Res. 2016;8(5):396–403.
6. Рахматуллина Н.М., Закирова Г.Н., Макарова Л.В. и др. Острая крапивница и острый ангиоотек в условиях многопрофильной клиники. Вестник современной клинической медицины. 2015;8(1):93–97. [Rakhmatullina N.M., Zakirova G.N., Makarova L.V. et al. Acute urticaria and acute angioedema in a multidisciplinary clinic. Journal of modern clinical medicine. 2015;8(1):93–97 (in Russ.)].

Полный список литературы Вы можете найти на сайте <http://www.rmj.ru>

Original article

ABSTRACT

Angioedema: anamnestic and clinical laboratory relations

A. Filippova^{1,2}, I.O. Malova¹, L.A. Khashkina⁴, P. Morand^{2,3}, R. Germi^{2,3}

¹*Irkutsk State Medical University*

²*University Hospital of Grenoble, France*

³*Institute of Structural Biology, University Grenoble Alpes, France*

⁴*Irkutsk City Clinical Hospital № 10*

Aim: to study the angioedema (AE) incidence, associated with urticaria, based on the materials of the hospital in Irkutsk, as well as to analyze the possible causes of these diseases progression, hereditary susceptibility to them, comorbidities and clinical laboratory characteristics of patients.

Patients and Methods: 113 patient histories diagnosed with AE and acute/chronic urticaria, which were at the day and night hospitalization in the department of Allergology and Clinical Immunology of Irkutsk Hospital № 10 from the period from January 2016 to December 2018, were retrospectively analyzed. Besides, the analysis of this pathology incidence over 5 years was performed.

Results: from 2014 to 2018, the AE percentage associated with urticaria was 7.3% among other allergic immunological diseases. It was found that this disease incidence in patients in a specified department decreased by 1.9 times — from 9.1% to 4.8%. A combination of various factors (histamine liberators, medicinal products, neurogenic mechanisms, concomitant diseases of the gastrointestinal tract and kidneys, contact with synthetic detergents, etc.) was more often noted among the AE progression causes; it was impossible to clarify the causes in 8.5% of patients. In most patients, the allergic history was negative, hereditary susceptibility to allergic diseases and bad health habits were not revealed, and there was combined comorbidity. The clinical picture was typical in the form of urticarial eruptions accompanied by itching and burning, and oedema in most popular sites, predominantly, in several loci at the same time (face, neck, ears, lips, larynx, tongue, pharynx). In laboratory parameters, leukocytosis, an increase in ESR and a high level of IgE were often noted.

Conclusion: AE took the 4th place according to the prevalence among allergic diseases. Within 5 years, the AE percentage associated with urticaria decreased by 1.9 times. Mostly, AE was provoked by several factors. Concomitant combined pathology was revealed in the prevailing number of patients. Commonly, the clinical symptoms were typical, with the localization of oedema in several loci at the same time. The tests showed signs of inflammation.

Keywords: *allergic diseases, angioedema, acute urticaria, chronic urticaria.*

For citation: Filippova A., Malova I.O., Khashkina L.A. et al. Angioedema: anamnestic and clinical laboratory relations. RMJ. Medical Review. 2019;12:4–8.

Relevance

Angioedema (AE) – acute allergic reaction that became an urgent problem nowadays. Every person may experience urticaria at least once in a lifetime. While urticaria appears in 50% of cases, AE coupled with urticaria – in 40% and isolated AE – in 10% [1].

Acute urticaria (AU) is featured by multiple wheals/blisters coupled or not coupled with AE during 6 weeks, and its relapse continued for more than 6 weeks, is considered a chronic urticaria (CU) [2].

AE with or without urticarial is a serious disease, which besides skin reaction may provoke life hazardous states (anafilaxia with dyspnea, shock symptoms, acute abdominal pains) [3].

In Russian Federation urticaria is quite common: AU's prevalence is 8–20%, while CU affects up to 1,8% of adult population. Hence every second patient is registered with AE [4]. According to foreign researchers AU affects up to 20% of population, but CU – up to 5% [5].

Urticaria appears only on skin, while AE affects deep skin layers, subcutaneous fat and/or mucus membranes (including the upper respiratory tract and gastrointestinal tract). Preferable localization for AE is face (lips and periorbital zone is more common), limbs and genitals. For severe cases it is tongue-swelling, pharyngeal and laryngeal edema. Skin rash in this two cases can be distinguished by duration (urticaria less than 24 hours, AE – 24-48 hours), color (urticaria – red, AE – skin color or pink), itching (urticarial – constant, AE – not constant), pain and sensitivity (urticarial – seldom, AE – often) [1,3].

Of certain interest is as well the distribution of urticaria and AE in different regions of the country. The analysis of hospitalization frequency for patients diagnosed with “acute urticaria or angioedema” was done in the city of Kazan. Since 2012 to 2014 the number of hospitalized with these diagnoses was 2933 patients, where in the majority of cases AU and AE were associated with medical treatment [6]. Prevalence of Quincke's edema or urticaria in Tomsk region in 2006 was 1,0 – 4,1% [7]. In Smolensk there was registered a tendency in decrease of AE frequency among adult and infant population (from 1,6% in 2010 to 0,4% in 2014) [8]. In Republic of Bashkortostan among occupational allergic dermatosis during 20 years period (1995–2015) urticaria and Quincke's edema were on the second place (26,6%) after upper extremities eczema [9]. In Dnepropetrovsk region in 2010 urticarial and Quincke's edema were on the third place (18,3%) among allergic diseases [10]. According to the data of one of Ufa's hospitals, since 2009 to 2011 acute generalized urticaria was registered with 42,9% patients, acute Quincke's edema – y 18,3%, coupled symptoms – 16,5% patients among all the patients with acute allergic reactions [11].

The data on AE frequency is unavailable and can be obtained through a special research. We did not find any data on this matter in Irkutsk and its region that is why the given research was held.

The aim of the research: to study the frequency of AE, coupled with urticaria, according to the data of the hospital in Irkutsk, as well as to study the medical patients` histories and laboratorial data.

Sources and methods

Patients with AE in Irkutsk that appeal for medical aid to several medical centers but for the reason of acute symptoms almost all of them get to department of Allergology and Clinical Immunology of Irkutsk Hospital № 10.

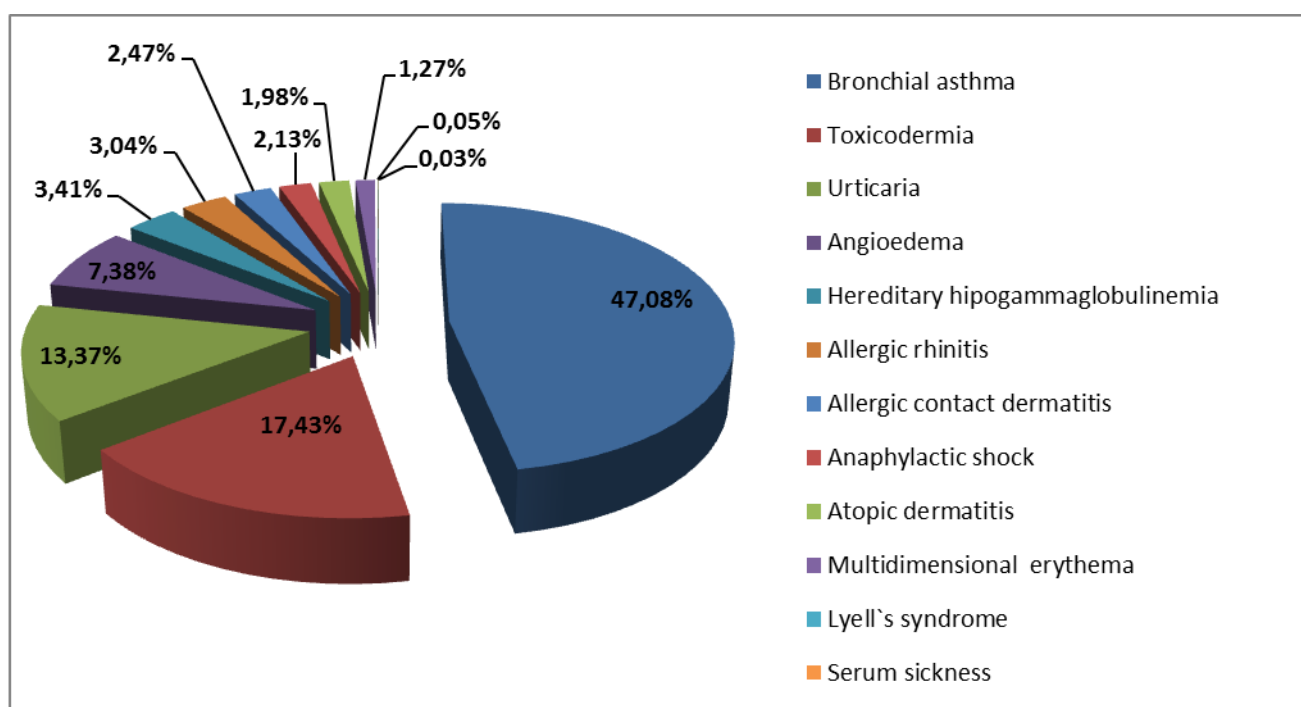
Official data on morbidity accepted in healthcare department does not suppose such a diagnosis that is why data on prevalence of AE as a disease, coupled or not coupled with other diseases is not recorded, these factors determined the choice of method of the research – singling out hospital medical histories of the patients hospitalized to allergy clinic. The obtained data represent the prevalence of the disease among adult population, according to the research.

We have analyzed the composition of the patients according to the type of their allergic diseases in Allergology and Clinical Immunology clinic of Irkutsk Hospital № 10 for the period of 5 years (since 2014 to 2018). We have conducted a retrospective research of 113 histories of patients diagnosed with “acute angioedema and acute/chronical urticaria”, who had been treated in the mentioned clinic during the period since January 2016 to December 2018.

Results of the research

Total number of patients, who received medical inpatient and outpatient care in the Allergology and Clinical Immunology clinic of Irkutsk Hospital № 10 for the period 2014–2018 is 6002.

Among allergic diseases within 5 years (drawing 1) the major part is compound by bronchial asthma (47,08%), toxicodermia (17,43%), urticaria (13,73%), AE (7,38%). The rest of the diseases are distributed in the following order: hereditary hipogammaglobulinemia (3,41%), allergic rhinitis (3,04%), allergic contact dermatitis (2,47%), anaphylactic shock (2,13%), atopic dermatitis (1,98%), multidimensional erythema (1,27%), Lyell`s syndrome (0,05%), serum sickness (0,03%).



Drawing 1 Allergic diseases of patients of Allergology and Clinical Immunology clinic of Irkutsk Hospital № 10 for the period 2014–2018

During 5 years period there were 437 patients diagnosed with AE (coupled with urticaria). Since 2014 to 2018 years the number of patients with the given diagnoses had reduced (chart 1).

Chart 1. Frequency distribution of the patients with angioedema among total number of patients in Allergology and Clinical Immunology clinic of Irkutsk Hospital № 10 per 100 people under investigation

year	Number of patients of allergy clinic	Number of patients with angioedema	
		absolute	per 100 people under investigation
2014	1654	151	9,1
2015	1171	104	8,8
2016	1125	99	8,8
2017	967	31	3,2
2018	1085	52	4,8

For the group of patients diagnosed with AE and AU/CU (113 people) there were 86 women (76,1%) and 27 men (23,9%). Average age of patients with AE coupled with AU was $41,6 \pm 13,9$, coupled with CU - $40,9 \pm 14,0$.

The analysis of causes of AE coupled with AU showed that the number one frequency was unspecified etiology (24 people - 32,8%), the number one frequency - coupled etiology (y 18 people - 24,6%): associated with the consumption of food histamine liberators, excessive drug treatment (poly-pharmacy), gastrointestinal tract diseases or kidney disease, acute respiratory viral infection (ARVI). 17 people (23,2%), analyzing the cause on AE or AU named food histamine liberators (seafood, chocolate, nuts, alcohol, honey, citrus fruits, dietary additives, cheese), 12 people (16,4%) - poly pharmacy (antibiotics, inhibitors of angiotention-converting enzyme, nonsteroidal anti-inflammatory drugs), 2 people (3%) - hymenoptera venoms stings.

For the group of patients diagnosed with AE coupled with CU among the causes of the disease the number one frequency was coupled genesis (16 people - 40%). The following combination of factors was registered: histamine liberators, poly pharmacy, gastrointestinal tract diseases, thyroid diseases, neurogenic causes, ARVI, cold weather, physical exercise. The number two frequency was unspecified etiology (13 people - 32,5%), the number three frequency was specified causes (11 people - 27,5%): food histamine liberators, drug incompatibility, physical factor, and contact with detergents.

Thus, the analysis of AE causative factors showed that coupled AE+AU was developing with unspecified etiology, while AE+CU with coupled genesis.

The analysis of allergy anamnesis of patients showed that 57 patients (78,1%) with a diagnosis AE+AU did not have allergy diseases in the past, 7 people (9,6%) mentioned “diathesis” in childhood, 5 people (6,8%) - atopic dermatitis and 4 people (5,5%) - pollinosis. For AE+CU 24 people did not have allergic pathology in the past (60,0%), other pathologies were distributed in the following order: bronchial asthma, 6 people (15,0%), atopic dermatitis 4 people (10,0%), “diathesis” in childhood 3 people (7,5%), allergic rhinitis 2 people (5,0%), cold urticaria in childhood 1 person (2,5%). So, the diversity of allergic diseases in anamnesis was more evident for patients with AE+CU rather than for patients with AE+AU.

We have studied the occurrence of *family predisposition* to allergic diseases among the patients with AE and urticaria. 37 patients (50,7%) with AE+AU turned out to have zero predisposition of such a kind. 8 turned out to have family predisposition on one parent`s side, who had skin diseases (eczema, allergic contact dermatitis atopic dermatitis, urticaria), 20 people (27,4%) - with respiratory allergic diseases (bronchial asthma, allergic rhinitis,

pollinosis). Family predisposition to allergic diseases on maternal and paternal sides, who have skin diseases (atopic dermatitis, allergic contact dermatitis, skin rash of unknown etiology, atopic eczema, urticarial, angioedema), was found out for 4 patients (5,5%); 2 patients (2,7%) - having respiratory diseases (allergic rhinitis, bronchial asthma); 2 patients (2,7%) - having respiratory diseases and skin diseases (pollinosis, bronchial asthma, diathesis, urticaria).

With AE+CU family predisposition to allergy was not found out for 20 people (50,0%); on one parent`s side, having skin diseases (urticaria, diathesis, atopic dermatitis, AE, allergic contact dermatitis), was found out for 9 people (22,5%); having respiratory allergic diseases (bronchial asthma, pollinosis) - for 2 people (5%). On both maternal and paternal side, having skin diseases (AE, urticaria, diathesis, dermatitis), family predisposition was found for 5 people (12,5%); having respiratory allergic diseases (bronchial asthma) - for 2 people (5%); on both maternal and paternal side, having respiratory allergic diseases and skin diseases (bronchial asthma, AE, urticaria) - for 2 people (5%).

Thus, for AE+AU and AE+CU half of patients turned out to have no family predisposition to allergy. But we have to underline that for patients with AE+AU relatives suffered with respiratory allergic diseases with more frequency, while for patients with AE+CU relatives suffered with allergic dermatitis.

39 people (53,4%) with AE+AU did not have burdened *heredity on other diseases*. There was recorded a burdened heredity on parents` side, aunts and uncles, grandparents having cardiovascular diseases (hypertension, apoplexy, ischemic heart disease) for 21 people (29%); on parents` side, having associated pathology of cardiovascular and endocrine systems, cancer (hypertension, diabetes, stomach and lung cancer) - for 7 people (9,6%); on grandparents` side, siblings suffered with diabetes - for 3 people (4%).

16 patients with AE+CU (40%) had no burdened heredity on other diseases. Burdened heredity on parents` and grandparents` side was recorded for 18 people (45,0%) having pathology of cardiovascular system (hypertension, apoplexy, ischemic heart disease, cardiac infarction); on parents` side and children with diabetes - 3 people (7,5%); grandparents` side systemic lupus erythematosus - 1 person (2,5%); on parents` side associated diseases of hypertension and diabetes - 1 person (2,5%); on parents` side with stomach cancer - 1 person (2,5%).

It turns out that, heredity with other diseases was not burdened for more than half of the patients with AE+AU. Among heredity pathologies more often there were registered

cardiovascular diseases. Patients with AE+CU had burdened heredity with cardiovascular diseases.

Analysis of *bad habits* of patients showed that 45 people (61,6%) with AE+AU and 31 (77,5%) - with AE+CU did not smoke; 65 (89%) patients with AE+AU and 38 (95,0%) with AE+CU did not drink alcohol, so the majority had no bad habits.

Of certain interest there is an *associated pathology* for patients with AE coupled with urticaria. 24 people (32,9%) with AE+AU and 17 (42,5%) with AE+CU were diagnosed with allergic rhinitis (among all the allergic diseases).

13 patients with AE+AU (17,9%) had no concomitant pathology. Only one concomitant pathology was diagnosed for 19 patients (26%): gastrointestinal tract pathology - 7, thyroid - 4, upper airways - 4, anemia - 2, viral hepatitis C - 2. The combination of the diseases was registered for 41 people (53,1%). More frequently there was registered gastrointestinal tract pathology (18), cardiovascular problems (20), kidney (11), less frequently - skin (5), endocrine system (5), and mental disorders (2).

Only 2 people with AE+CU (5,0%) had no concomitant pathology. Only one diagnosis was registered for 7 people (17,5%): gastrointestinal tract pathology - 6, upper airways - 1. Coupled pathology was marked for 31 patients (77,5%). More frequent there was gastrointestinal tract pathology (19 people), cardiovascular diseases (11 people), endocrine system (11 people), skin diseases (7 people), less frequent – kidney diseases and adrenal glands (5 people), liver and cholecyst (3 people), nervous system (3 people), upper airways (3 people), junctions (2 people).

As results showed the patients have different concomitant pathology, for those with AE+CU the pathology affects more organs and systems.

Among concomitant pathology there was chronic superficial gastritis, associated or not with *Helicobacter pylori*, hypertension, chronic pyelonephritis and thyroid pathology (Basedow's disease, thyrotoxicosis, diffuse enlargement of thyroid gland, autoimmune thyroiditis, medicine compensated hypothyroidism).

Analysis of clinical description of AE coupled with urticarial showed, that the prescription of the disease for patients with chronic process was less than a year for 11 people (27,5%), 1 to 5 years - 11 people (27,5%), 5 to 10 years - for 10 people (25%), more than 10 years - for 8 people (20%). The frequency of acute attacks of AE coupled with CU was: 1 time per year - 20 patients (50%), 1–2 times per year - 12 patients (30%), 2–3 times per year - 2 patients (5%), 3–4 times per year 3 patients (7,5%), 4–5 times per year - 3 patients (7,5%).

The majority of patients had subjective sensation: itching and burning. Primary elements more often were welts: 53 (72,6%) people with AE+AU and 34 (85,0%) - with AE+CU. Erythema spots like primary elements were recorded for 5 patients (6,9%) c AE+AU; сочетание urticarial skin rush and erythema spots - for 15 (20,5%) patients with AE+AU and for 6 (15,0%) - with AE+CU. The skin rush had generalized characteristics for the majority of patients: for 67 (91,7%) with AE+AU and for 38 (95,0%) with AE+CU.

The analysis of localization of edema with AE+AU and AE+CU showed that they were isolated (for 41,1 and 27,5% patients correspondingly) - in region of face, larynx, hands and mixed (for 58,9 and 72,5% correspondingly) - in region of face, neck, auricles, uvula and arch, limbs, lips, tongue, larynx, pharynx, occiput.

Lymph nodes of patients with AE+AU and AE+CU were palpated with equal frequency (y 34,3 and 35,0% correspondingly) - single, movable, soft, painless.

Physical examination of our patients, who do not have bronchial asthma nasal stuffiness and shortness of breath, feeling of air shortage experienced 32 (43,8%) people with AE+AU and 16 (40,0%) people with AE+CU, deglutitive problem had 12 (16,5%) and 6 (15,0%) people correspondingly. Few patients with bronchial asthma experienced nasal stuffiness and breath difficulties. Palpatory examination of abdominal area of patients with AE+AU as well as AE+CU showed soft painless belly y 65 (89%) и 37 (92,5%) people correspondingly. The epigastria pain was marked for 8 (11%) people with AE+AU and for 3 (7,5%) - with AE+CU.

The analysis of U/S scan results of abdominal organs and renal system of 29 patients AE+AU and 23 with AE+CU showed almost the same frequency of liver, pancreas and kidneys coupled changes: 20,5% patients, 22,5% correspondingly. Moderate diffuse changes, mass lesions, diffuse thyroid enlargement according to ultrasound scan of thyroid was singled out for very few patients with AE+AU and AE+CU.

While estimating *lab test results* we found out, that such acute-phase parameters like leukocytosis and erythrocyte sedimentation rate, were more frequently increased for the patients with AE+AU - 24,4 and 15% correspondingly, in comparison with the group AE+CU (chart 2). General IgE was increased almost equally for all patients of both groups: with 53,4 and 47,5% correspondingly. All the patients passed through obligatory parasite check for helminth eggs, and in 100% cases the results were negative.

Chart 2. Some laboratorial results of patients with AE coupled with urticaria

Lab. results	Normal range	AE + AU	AE + CU
		Abs. (%)	Abs. (%)
leukocytes, $\times 10^9$ U/L - normal - increased	4-9	24 (33) 47 (64,4)	23(57,5) 16(40)
ESR, mm/h - normal - increased	M-1-10, F-2-15	50(68,6) 22(30,1)	32(80) 6(15)
General IgE, U/ml - normal - increased	0-100	34(46,6) 39(53,4)	21(52,5) 19(47,5)

Conclusion

AE coupled with AU or CU is often registered, especially among female patients. Given pathology occurs as a result of many known and unknown factors. In the majority of cases such patients have negative allergic anamnesis, varied concomitant pathology and traditional laboratorial results. The above given results of the research showed that patients with AE coupled with urticaria are referred to complicated and high-risk patients, who need urgent medical aid, often within a hospital. In case of chronical clinical course such patients require to be clinically tracked in order to detect concomitant pathology and formulate its corrective treatment.



CONCLUSION-PERSPECTIVES



Nous avons montré dans la première étude de cette thèse qu'il existait une augmentation statistiquement non significative de la fréquence de détection des virus EBV et HSV-1 dans la salive des patients présentant une crise d'angioedème bradikinique ou histaminique par rapport à une population témoin. Cette tendance à l'augmentation n'est pas constatée pour les autres herpèsvirus recherchés dans la salive (CMV, HHV-6 et VZV). Par contre, il existe une détection statistiquement plus fréquente du TTV dans la salive des patients atteints d'AE par rapport au groupe témoin. Malgré le manque de puissance de notre étude empêchant toute conclusion ferme, nous émettons l'hypothèse que certains herpèsvirus sont réactivés pendant une crise d'AE qui entraînerait un état d'immunodéficience locale comme le suggère l'augmentation de détection du TTV. Il serait intéressant de suivre cette cohorte en dehors de l'épisode aiguë pour voir le niveau « basal » d'excrétion salivaire de ces virus persistants. Ceci pourrait permettre de voir si une réactivation de ces virus précède l'apparition d'une crise d'AE ou ne survient qu'au décours de la crise. Même si le niveau d'ADN viral détecté dans la salive est probablement le témoin de la présence de virus infectieux dans la salive, il serait également utile de comparer l'infectivité de la salive avant et au décours des crises chez les patients atteints d'AE. Il serait également intéressant d'étudier si les différences observées au niveau des IgG anti EBNA1 (titre normaux, élevés ou bas) sont associées à différents types d'angioedèmes.

Le deuxième travail visait en effet à étudier la fréquence et les caractéristiques cliniques et biologiques des angioedèmes associés à l'urticaire dans la ville d'Irkoutsk (Russie). Irkoutsk est une ville en Sibérie orientale et le centre administratif de la région d'Irkoutsk, avec une population de plus de 600 000 habitants. Pratiquement tous les angioedèmes sont accueillis dans le même service d'Allergologie et d'Immunologie Clinique de l'hôpital N°10 de la ville d'Irkoutsk, et nous avons pu ainsi étudier 6000 causes de venues dans cet hôpital entre 2014 et 2018 et étudier rétrospectivement 113 dossiers d'attaques d'angioedèmes associés à une urticaire aiguë ou chronique. Entre 2014 et 2018, l'angioedème apparaît comme la 4^e cause de venue dans le service d'allergologie mais nous avons constaté une diminution de la fréquence de l'angioedème comme cause de venue entre ces deux dates. Nous n'avons pas d'explications claires concernant cette diminution si ce n'est, entre ces deux dates, une possible meilleure information des patients sur la prévention de ces poussées. Il serait intéressant de vérifier si la baisse de l'incidence de l'angioedème s'est confirmée entre 2018 et 2021 et d'étudier quelle est actuellement la prise en charge thérapeutique des poussées d'angioedème dans la région d'Irkoutsk.



TRAVAUX SUPPLÉMENTAIRES



Article N°1 – “Genital herpes zoster in an immunocompetent child”

Genital herpes zoster in an immunocompetent child

Herpes simplex viruses (HSV-1/2) and varicella-zoster virus (VZV) are human neurotropic alpha herpesvirus causing similar cutaneous vesicular eruption. After primary infection, HSV remains latent in trigeminal or sacral ganglia and can reactivate causing orolabial or anogenital herpes lesions. After varicella infection (VZV primary infection), VZV remains latent within the ganglia throughout the entire neuraxis and can reactivate causing herpes-zoster infection. Herpes-zoster is common in elderly and immunosuppressed persons but is rarely seen in young children's genital or perianal regions.

In September 2017 a 10-year-old boy presented with a rash on the penis, progressing over a week, in the Dermatology Department of Grenoble University Hospital (France). He was prescribed topical steroid cream for the rash, but after several days, there was no improvement. The child was well vaccinated according to the French vaccine schedule that does not include VZV. The medical history included minimal atopic dermatitis, asthmatic bronchiolitis and otitis in childhood as well as previous weakly symptomatic chickenpox. The child's mother, in early 2017, had presented with a relapse of HSV on her chin. Neither the child nor the mother had any recent contact with people with VZV infection or a similar rash.

Cutaneous examination revealed vesicles and crusts on an erythematous base extending in a strip from the base of the penis to its tip (*supplementary figure 1*). No lesion was found on other areas of the body. Because of the location, the rash was suspicious of herpes or HSV infection, which raised the issue of sexual abuse. Faced with this sensitive issue, serology testing for anti-HSV and anti-VZV IgG/IgM (Enzygnost®) and multiplex qPCR for HSV-1/2 and VZV (TibMolbiol®) on the lesion were performed. The qPCR was negative for HSV-1/2 and unequivocally positive for VZV. IgG/IgM anti-HSV were negative. IgG/IgM anti-VZV were positive (IgG>4000 IU/mL, IgM=0.2 OD). These results reoriented the diagnosis towards a genital zoster infection, ruling out the hypothesis of sexual abuse.

Additional studies were conducted to exclude an immunodeficiency state and severe reactivation. VZV DNA in blood was undetectable. HIV serology was negative. Blood cell count, lymphocyte typing, and protein electrophoresis were normal.

Herpes-zoster rash is typically painful, unilateral and dermatomal. Its location varies upon the sensory ganglion in

which VZV reactivates. Sacral ganglions are involved in only 2-8% of cases and anogenital VZV is rare. Only 10 cases of genital VZV have been reported (*table 1*). Among these, one presented with an isolated anal location [1]. In the other cases, the genital/anal lesions were associated with other locations (buttocks, abdomen, legs, *etc.*) [2-8]. The present case is the first to present an isolated genital location.

Two retrospective laboratory studies, the first concerning 6,210 genital swabs collected from 1999 to 2001 [9] and the second concerning 2,113 swabs from lesions (not only genital) collected from 2015 to 2016 [10], showed that VZV DNA is detected in less than 1% of genital samples (*table 1*). Among these, few samples came from children (0-10%).

Due to the rarity of genital zoster and the similarity of clinical signs between genital herpes and zoster infection, the risk of misdiagnosis is high. A diagnosis of genital zoster does not have the same consequences as a diagnosis of genital herpes in children or adults. In adults, genital HSV is associated with a risk of mother-to-child transmission during labour and lifelong sexual transmission. In children, even if auto-inoculation or contact with infected fomites is not excluded, a diagnosis of genital herpes may suggest sexual abuse with significant psychological and legal consequences.

To avoid an erroneous legal case, as well as psychological trauma for the family and child, laboratory tests must be conducted to accurately identify the causative virus. In this context, multiplex PCR testing may improve diagnosis of the genital infection leading to detection of HSV-1/2 and VZV in a single run, even if only HSV DNA is investigated. The utility of serological testing is moderate but can be useful if PCR is not available.

In conclusion, diagnosis of cutaneous manifestations in the anogenital region requires particular attention, especially in children. Even if the clinical features suggest HSV genital infection, clinicians should be aware of a genital manifestation of shingles and should request testing for both HSV and VZV in order to avoid misdiagnosis and false suspicion of potential sexual abuse.

Acknowledgements and disclosures. Acknowledgements: We thank Linda Northrup for language editing. Funding: none. Conflicts of interest: none.

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1684/ejd.2019.3685.

* This study was performed in France.

Table 1. Publications demonstrating the presence of VZV in the anogenital region in children and adults.

Age	Sex	Varicella/zoster	Location	Ref
19 months	female	varicella	lumbosacral region, neck, chest, back, abdomen, buttocks, genital region	2
28 months	female	varicella	buttocks, perianal region, labia	2
4 years	female	varicella	genital region, chest, neck, shoulder	2
9 years	female	zoster	perianal region, anus	1
22 years	male	zoster	groin, glans penis, penile shaft, scrotum, thigh, buttock	3
5 years	male	zoster	perianal skin, anus, buttock, scrotum	5
58 years	male	zoster	buttock, perineum, scrotum, penis to the foreskin	4
6 months	female	zoster	back, inguinal area, abdomen, upper thighs	6
6 years	female	zoster	vulva, external genitalia, buttock (posterior thigh, leg, ankle), foot	7
31 years	male	zoster	penis, scrotum, thigh	8
Laboratory analysis reports				
Number of swabs analysed	Number of VZV-positive genital swabs	Adults/children with VZV-positive swab	Location	Ref
6,210 genital swabs	65	58 adults/7 children (25 male, 40 female)	labia, vulva, vagina	10
2,113 muco-cutaneous swabs	14	14 adults/0 children (2 male, 9 female, 3?)	groin, penile, genital region, perianal region, scrotal region, labia, vulva, vagina	9

¹ Laboratory of Virology CHU Grenoble-Alpes, Grenoble France and IBS, UMR 5075 CEA-CNRS-Université Grenoble-Alpes, France
² Irkutsk State Medical University, Ministry of Health of Russia, Irkutsk, Russia
³ Dermatology Unit CHU Grenoble-Alpes, Grenoble France <RGermi@chu-grenoble.fr>

Anastasia FILIPPOVA^{1,2}
 Isabelle TEMPLIER³
 Julien LUPO¹
 Marie-Therese LECCIA³
 Patrice MORAND¹
 Raphaële GERMI¹

9. Birch CJ, Druce JD, Catton MC, MacGregor I, Read T. Detection of varicella zoster virus in genital specimens using a multiplex polymerase chain reaction. *Sex Transm Infect* 2003;79: 298-300.

10. Granato PA, DeGilio MA, Wilson EM. The unexpected detection of varicella-zoster virus in genital specimens using the Lyra™ Direct HSV 1+2/VZV Assay. *J Clin Virol* 2016;84: 87-9.

doi:10.1684/ejd.2019.3685

- Christian CW, Singer ML, Crawford JE, Durbin D. Perianal herpes zoster presenting as suspected child abuse. *Pediatrics* 1997;99: 608-10.
- Simon HK, Steele DW. Varicella: pediatric genital/rectal vesicular lesions of unclear origin. *Ann Emerg Med* 1995;25: 111-4.
- Spray A, Glaser DA. Herpes zoster of the penis: an unusual location for a common eruption. *J Am Acad Dermatol* 2002;47: S177-9.
- Gopalan V, Nair RG, Pillai S, Oberholzer T. Genital herpes zoster as a consequence of cancer chemotherapy-induced immunosuppression: report of a case. *J Infect Chemother* 2012;18: 955-7.
- Barrett S, Burgess S. A case of peri-anal varicella and review of the literature. *Child Abuse Negl* 2011;35: 307-8.
- Thomas EA, Williams A. Herpes zoster in a six-month-old infant: a case report. *J Pediatric Infect Dis* 2014;6: 145-6.
- Sharma M, Kansal NK, Singh J. A 6-year-old girl with painful rash on her left lower extremity. *Pediatr Ann* 2014;43: 398-9.
- Arshad AR, Alvi KY, Chaudhary AA. Herpes zoster involving penis and scrotum: an unusual occurrence. *J Coll Physicians Surg Pak* 2015;25: 218-9.

Article N°2 – “Exogenous human herpesvirus 6 reinfection after tumor-infiltrating T-lymphocyte therapy”

Cytotherapy, 2018; 20: 521–523

International Society for Cellular Therapy
ISCT®



Exogenous human herpesvirus 6 reinfection after tumor-infiltrating T-lymphocyte therapy

ANASTASIIA FILIPPOVA^{1,2}, JULIE CHARLES³, OLIVIER EPAULARD^{4,5},
RAPHAËLE GERMI^{1,5}, VIRGINIE PERSOONS⁶, ISABELLE TEMPLIER³,
MARIE-THERESE LECCIA³, BRIGITTE DRENO^{7,8,9}, IRINA MALOVA²,
PATRICE MORAND^{1,5} & JULIEN LUPO^{1,5}

¹Laboratory of Virology, University Hospital of Grenoble, Grenoble, France, ²Irkutsk State Medical University, Ministry of Health of Russia, Irkutsk, Russia, ³Dermatology Unit, Univ. Grenoble Alpes, IAB, University Hospital of Grenoble, Grenoble, France, ⁴Infectious Diseases Department, University Hospital of Grenoble, Grenoble, France, ⁵Institut de Biologie Structurale, CEA, CNRS, Univ. Grenoble Alpes, Grenoble, France, ⁶Cell therapy and engineering Unit, EFS Rhone Alpes, Saint-Ismier, France, ⁷Oncodermatology department, CIC, CHU, Nantes, France, ⁸Immunodermatology lab, CHU, Nantes, France, and ⁹U 892, INSERM, Nantes, France

Abstract

Exogenous human herpes virus 6 (HHV-6) reinfection has never been reported in patients receiving tumor-infiltrating T lymphocytes therapy. We report an unusual case of HHV-6 infection following infusion of HHV-6 infected autologous T lymphocytes. HHV-6 infection could interfere with the tumor antigen immune recognition and the efficacy of immunotherapy.

Key Words: Human herpesvirus 6 (HHV-6), immunotherapy, tumor-infiltrating T lymphocyte therapy (TIL), reinfection

To the Editor:

Infusion of *ex vivo*-expanded tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) has proven to be a successful adjuvant therapy in stage III melanoma patients [1]. To prevent the infectious risks linked to cell donations, screening of infectious agents should be carried out on donors (serological tests) or on the cell therapy products (polymerase chain reaction [PCR] or culture methods). Human herpesvirus 6 (HHV-6) is a ubiquitous lymphotropic virus originating from a benign disease of infancy, exanthema subitum, or is associated with HHV-6 primary infection or serious diseases, particularly in immunocompromised individuals [2]. To our knowledge, despite its lymphotropism and pathogenicity, HHV-6 infection or reinfection through TIL therapy has never been reported.

A 39-year-old female patient presented with relapsing melanoma featuring only a metastatic axillary lymph node and was included after informed consent in the “Tumor-Infiltrating Lymphocyte Adjuvant Therapy of Melanoma” clinical trial (NCT00200577). The patient was negative for all markers tested by

serology: cytomegalovirus (CMV), human immunodeficiency virus (anti-HIV antibodies and p24 antigen), hepatitis C virus and hepatitis B virus (HBs antigen and anti-HBc antibodies). Melanoma had been diagnosed 10 years earlier (superficial spread melanoma from the left scapula, Clark III, Breslow 1.04 mm) and the treatment was based on standard surgery and administration of interferon- α for 6 months. The protocol was a randomized study designed to compare the efficacy of TIL + interleukin (IL)-2 versus IL-2 injections in patients suffering from stage III malignant melanoma [1]. TIL cell lines were produced following Good Manufacturing Practice conditions in the cellular therapy unit according to a procedure described previously [3]. As specified, the intermediate products (day 24) were tested by PCR for CMV, HHV-6, HHV-8 and mycoplasma. All the results were negative except HHV-6, which was detected with a low viral load (<500 copies/mL).

Considering the very low HHV-6 positivity, the investigators agreed to continue the protocol. On day 32, the final products fulfilled the criteria for administration to the patient and were not retested for

Correspondence: Julien Lupo, PharmD, PhD, Laboratoire de Virologie, CHU Grenoble BP 217, 38043 Grenoble, France. E-mail: jlupo@chu-grenoble.fr

(Received 20 September 2017; accepted 8 December 2017)

ISSN 1465-3249 Copyright © 2017 International Society for Cellular Therapy. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.
<https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.12.006>

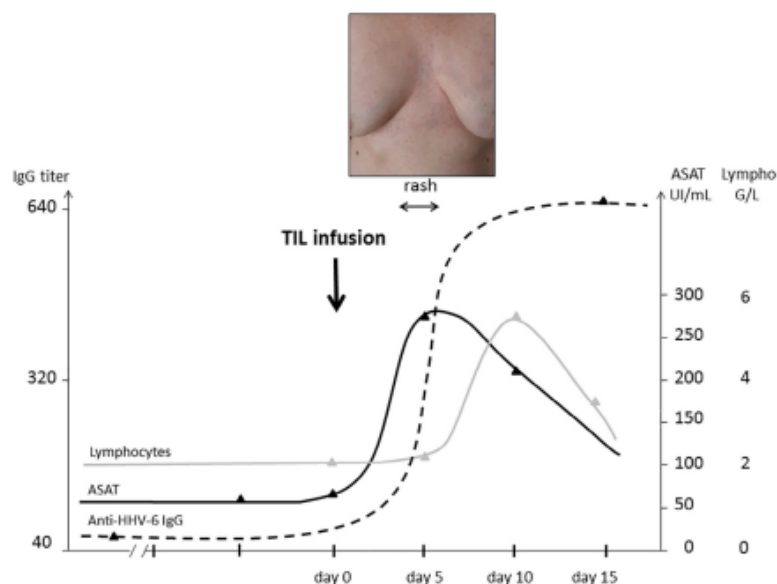


Figure 1. Clinical course after infusion of HHV-6-infected autologous T lymphocytes. AST, aspartate aminotransferase; IgG, immunoglobulin.

HHV-6. A few hours after injection of TIL combined with IL-2 (6 million IU), the patient experienced fever peaks at 40°C for 1 day. Three days later, she presented maculopapular exanthema, which appeared mainly on the trunk, neck and upper limbs (Figure 1). The rash began to disappear within 24 h. Liver tests showed a rise in transaminase levels between days 4 and 14 following the day of TIL infusion. Hematologic tests showed moderate lymphocytosis at day 7 with a return to the reference range at day 14 (Figure 1). C-reactive protein levels were 82 mg/L at day 4 but had returned to normal in 1 week. Because the patient presented these side effects, the protocol was stopped, and she did not receive a subsequent dose of IL-2. Retrospectively, the control of the final products using culture methods (Hep-2, MRC-5 and Vero cell lines) was negative. Given the context, PCR for HHV-6 was also performed in the final products and showed a very high viral load (3×10^7 viral copies/mL). The patient's axillary node biopsy used for TIL preparation was also tested and returned positive for HHV-6 with a low viral load (<500 copies/mL). Feeder cells (LAZ cell line + allogenic peripheral blood leukocytes) and the cell medium used for TIL cell line culture were all negative for HHV-6. The patient's serums were available before and after TIL infusion. Serological analysis showed a significant rise of anti-HHV-6 IgG titers from 40 to 640 between the month preceding and the 2 weeks after the TIL infusion. PCR for HHV-6 was tested in serum at the same time but

was again negative. Unfortunately, a few weeks thereafter, the patient was diagnosed with multi-metastatic disease, and rapid fatal progression followed.

HHV-6 most efficiently replicates in activated CD4⁺ T lymphocytes but can also infect CD8⁺ T lymphocytes [2]. In our procedure, TIL cell lines were cultured with IL-2 and phytohemagglutinin (PHA), which are inducers of lymphocyte proliferation as well as HHV-6 reactivation and replication [4]. Because the HHV-6 genome was initially detected in the lymphocytes from the patient's node biopsy, the virus found the perfect conditions to replicate in conjunction with lymphocyte expansion. It is noteworthy that the viral load moved from a low (<500 copies/mL) to a very high level (> 10^7 copies/mL) in the last week before TIL injection. Frankel *et al.* reported that IL-2 inhibits HHV-6 replication at concentrations higher than 10 U/mL (as used in the procedure), but this inhibitory effect may be counterbalanced by PHA, which was added to the cell culture media after 10 days of pre-culture [4]. This may explain the delay in the detection of a high HHV-6 replication in culture.

Our case is consistent with an authentic exogenous reinfection in a patient having preexisting immunity to HHV-6. Unfortunately, blood samples were not available in the days after the TIL infusion, precluding the detection of a transitory HHV-6 viremia by PCR. Even if no threshold has been defined, active HHV-6 infection is often associated with viral load higher than 1000 copies/mL [2]. We can speculate that

the high HHV-6 viral load in our patient was followed by a vigorous immune response leading to classical symptoms of HHV-6 infection such as fever, rash, hepatitis or lymphocytosis.

The immunosuppressive effects of HHV-6 have been described in the literature [2]. Given that HHV-6 inhibits IL-2 production, human leukocyte antigen class I expression and T-lymphocyte functions [5], the efficacy of TIL therapy can be questioned in the case presented here. Moreover, through a competitive effect on immune recognition, the massive flood of viral antigens *in vitro* or in the patient's bloodstream might also disturb the specific and desired T-cell immune response against tumor antigens. In cases where a high viral load is detected in culture, the role of HHV-6 as a potential cause of treatment failure in TIL therapies needs to be considered.

In conclusion, TIL products should be closely monitored for HHV-6. Although the clinical relevance of exogenous HHV-6 reinfection needs further evaluation, infusion of HHV-6-infected TIL may cause severe disease in immunocompromised patients or result in failure of immunotherapy treatment.

Acknowledgments

Disclosure of interest: The authors have no commercial, proprietary, or financial interest in the products or companies described in this article.

References

- [1] Khammari A, Knol A-C, Nguyen J-M, Bossard C, Denis M-G, Pandolfino M-C, et al. Adoptive TIL transfer in the adjuvant setting for melanoma: long-term patient survival. *J Immunol Res* 2014;2014:186212. doi:10.1155/2014/186212.
- [2] Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. *Clin Microbiol Rev* 2015;28:313–35. doi:10.1128/CMR.00122-14.
- [3] Labarrière N, Pandolfino M-C, Gervois N, Khammari A, Tessier M-H, Dréno B, et al. Therapeutic efficacy of melanoma-reactive TIL injected in stage III melanoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 2002;51:532–8. doi:10.1007/s00262-002-0313-3.
- [4] Frenkel N, Schirmer EC, Katsafanas G, June CH. T-cell activation is required for efficient replication of human herpesvirus 6. *J Virol* 1990;64:4598–602.
- [5] Flamand L, Gosselin J, Stefanescu I, Ablashi D, Menezes J. Immunosuppressive effect of human herpesvirus 6 on T-cell functions: suppression of interleukin-2 synthesis and cell proliferation. *Blood* 1995;85:1263–71.

Article N°3 – “Prospective evaluation of blood Epstein–Barr virus DNA load and antibody profile in HIV-related non-Hodgkin lymphomas”

Prospective evaluation of blood Epstein–Barr virus DNA load and antibody profile in HIV-related non-Hodgkin lymphomas

Julien Lupo^a, Raphaële Germe^a, Rémi Lancar^b, Michèle Algarte-Genin^b,
Houria Hendel-Chavez^c, Yassine Taoufik^d, Nicolas Mounier^e,
Marialuisa Partisani^f, Fabrice Bonnet^g, Marie-Caroline Meyohas^h,
Bruno Marchouⁱ, Anastasiia Filippova^a,
Sophie Prevot^j, Dominique Costagliola^b,
Patrice Morand^{a,*} and Caroline Besson^{k,l,*}

Objectives: The value of Epstein–Barr virus (EBV) biomarkers on the prognosis of HIV-related non-Hodgkin’s lymphoma (NHL) has been poorly explored in the combined antiretroviral therapy (cART) era.

Design: We evaluated EBV DNA load and EBV antibodies in HIV-NHL patients enrolled in the French ANRS-CO16 Lymphovir Cohort between 2008 and 2015.

Methods: Whole blood and plasma EBV DNA load and serological profiles were analyzed in 76 HIV-infected patients at diagnosis of NHL and 6 months after the initiation of chemotherapy.

Results: Prechemotherapy whole blood (WB) and plasma EBV DNA loads were positive for 80 and 45% of HIV-NHL patients, respectively. Pretreatment WB EBV DNA positivity was associated with a positive plasma HIV-1 RNA load (relative risk (RR), 4.42 [1.33; 14.72]) and plasma EBV DNA positivity with EBV in situ detection (RR 10.62 [2.38; 47.49]). Following chemotherapy, the proportions of patients with positive WB or plasma EBV DNA declined from 81 to 23% ($P < 0.0001$) and from 43 to 8% ($P < 0.0001$), respectively. Estimated 2-year progression-free survival did not differ according to prechemotherapy WB positivity (82% versus 67%, $P = 0.15$) or plasma EBV DNA positivity (76% versus 81%, $P = 0.52$).

Conclusions: The plasma EBV DNA load correlates with in situ EBV detection. The WB EBV DNA load correlates with HIV load. WB and plasma EBV DNA loads at NHL

^aLaboratoire de Virologie, Institut de Biologie Structurale (IBS), Centre hospitalier Universitaire Grenoble-Alpes, Université Grenoble-Alpes, Grenoble, ^bInstitut Pierre Louis d’Epidémiologie et de Santé Publique (IPLESP), Sorbonne Université, Paris, ^cHôpitaux Paris Sud, Service d’Immunologie Biologique, Le Kremlin-Bicêtre, Paris, ^dAP-HP Hôpitaux Paris Sud, Service d’Immunologie Biologique, Le Kremlin-Bicêtre, Center for Immunology of Viral Infections and Autoimmune Diseases, Université Paris Sud, Paris, ^eDépartement d’Hémo-Oncologie, Archet Hospital, Nice, ^fHôpitaux Universitaires, Centre de Soins de l’infection VIH, Strasbourg, ^gCHU Bordeaux, Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, Hôpital Saint-André, Université de Bordeaux, Bordeaux, ^hService de Maladies Infectieuses, Paris, ⁱCHU Toulouse, Service de Maladies Infectieuses, Toulouse, ^jHôpitaux Paris Sud Site Bécélère, Service d’Anatomo-Pathologie, Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, Paris, ^kCentre Hospitalier de Versailles, Service d’Hémo-Oncologie, Université Versailles Saint Quentin en Yvelines, Université Paris-Saclay, Le Chesnay, and ^lCentre pour la Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations (CESP), Equipe “Génération et Santé” Gustave Roussy, Villejuif, France.

Correspondence to Julien Lupo, Laboratoire de Virologie, Centre hospitalier Universitaire de Grenoble, CS 10217, 38043 Grenoble cedex 9, France.

Tel: +33 476766613; fax: +33 476765228; e-mail: jlupo@chu-grenoble.fr

* Patrice Morand and Caroline Besson contributed equally to the writing of this article.

Received: 25 July 2020; revised: 10 December 2020; accepted: 24 January 2021.

DOI:10.1097/QAD.0000000000002839

diagnosis do not constitute prognostic markers for HIV-NHL patients in the modern cART era.

Copyright © 2021 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

AIDS 2021, 35:861–868

Keywords: Epstein–Barr virus antibodies, Epstein–Barr virus DNA load, Epstein–Barr virus, HIV, non-Hodgkin's lymphoma

Introduction

Although the incidence of non-Hodgkin lymphoma (NHL) has decreased since the advent of combined antiretroviral therapy (cART), NHL is still the first to second most frequent AIDS-defining cancer in developed countries and is the first or second cause of cancer-related death in HIV-infected individuals [1–3]. Epstein–Barr virus (EBV) is an oncogenic virus associated with 20–80% of AIDS-related lymphomas. This virus is found in tumor cells of HIV-infected patients with lymphomas more frequently than in the same lymphoma subtypes in HIV-negative patients. Only 10% of diffuse large B-cell lymphomas (DLBCLs), the most common type of NHL, are associated with EBV in the general population, whereas EBV-associated DLBCL represents 40% of DLBCL in HIV-infected patients [4,5].

Recent studies have underlined the synergistic role of HIV and EBV in lymphomagenesis. Beyond HIV-induced immunosuppression increasing the pool of EBV-infected cells, HIV may indirectly contribute through the induction of chronic B-cell activation or more directly via the interaction of HIV variant protein P17 with the EBV oncoprotein, latent membrane protein-1 (LMP-1) [6]. EBV-driven B-cell immortalization is achieved through the concerted action of various latency proteins, such as LMP-1, which are able to dysregulate cellular pathways that control growth or survival [7]. Recent evidence also suggests that EBV proteins produced during viral replication or lytic infection may have pathogenic relevance in lymphomas in the context of underlying impairment of immune responses [8,9].

The EBV DNA load may have a prognostic significance in patients with hematological malignancies, such as DLBCL, regardless of the tumor EBV status defined by conventional methods [10–12]. Few reports have examined EBV DNA in peripheral blood as a predictive or prognostic marker for HIV-related lymphoma [12–17]. Reports investigating plasma EBV DNA in HIV-infected patients with Hodgkin lymphoma (HL) have provided conflicting results due to differences between study populations according to cART and HIV-related immune deficiency [13–15,18]. Two studies concluded that a high pretreatment plasma EBV DNA load in HIV-infected patients with NHL is a poor prognostic marker,

but they focused only on patients not treated with rituximab [12,14]. In the current context of improving prognoses for HIV-infected patients with lymphoma [19], we aimed to evaluate EBV markers in a recent prospective cohort of HIV-patients with NHL who benefited from the optimal management of HIV infection and lymphoma including wide administration of rituximab, and investigated the prognostic value of these markers.

Materials and methods

Patients

This is an ancillary study of the prospective French Cohort of HIV-related lymphomas (French National Agency for Research on AIDS and Viral Hepatitis ANRS-CO16 LYMPHOVIR cohort) [20,21]. This cohort enrolled consecutive HIV-infected patients with newly diagnosed NHL ($n = 111$) and classical HL ($n = 69$) in 22 centers between 2008 and 2015. The histological and clinical characteristics and outcome of patients with HIV-NHL have been described in a previous report [21]. The research protocol was approved by an ethics committee (Comité de Protection des Personnes, Ile-de-France VII) and written informed consent was obtained from each patient. The present study was registered in ClinicalTrials.gov (NCT01164436).

Epstein–Barr virus in situ detection

Patients with HIV-NHL were analyzed for the presence of EBV in the tumor cells. EBV RNA was detected in paraffin sections using in situ hybridization with fluorescein isothiocyanate (FITC)-labeled EBV-encoded small RNA (EBER) 1 + 2 specific oligonucleotides (DAKO), according to the manufacturer's instructions. The expression of the EBV latent membrane protein (LMP1) was tested with the monoclonal antibody CS1-4 (DAKO) using the streptavidin–biotin peroxidase labeling method with the LSAB Kit (DAKO).

Quantification of the peripheral blood Epstein–Barr virus DNA load

DNA was isolated from 200 µl whole blood (WB) using the MagNAPure LC instrument (DNA Isolation kit, Roche Diagnostics, Meylan, France) or plasma using the NucliSENS easyMAG instrument (Biomérieux, Marcy L'Étoile, France). The extracted DNA was aliquoted and

frozen at -80°C before use. EBV DNA loads were measured using the EBV R-gene quantification kit (Biomérieux) on a LightCycler 480 instrument (Roche Diagnostics) and expressed as the number of EBV DNA copies per milliliter of the sample, as previously described [22]. Any detection of EBV DNA in plasma or WB, regardless of the level, was considered positive.

Epstein-Barr virus serology

EBV markers in serum specimens stored at -80°C were determined by ELISA and indirect immunofluorescence (IF) assays, as previously described [23]. The following markers were determined using ELISA kits and an automated BEP III System (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany): anti-EBV IgG or IgA (Enzygnost, Siemens), anti-EBNA IgG (Theradiag), and anti-EA(D) IgG antibodies (Platelia, Biorad, Marnes la Coquette, France). Analyses were performed according to the manufacturers' recommendations. IF assays were carried out using in-house slides for the detection of anti-VCA IgG, anti-VCA IgA, anti-EA (D + R) IgG, and anti-EA IgA antibodies, as previously described [24]. High anti-EBV IgG antibody levels or elevated titers of anti-VCA IgG and anti-EA IgG antibodies were defined by values ≥ 520 AU/ml, $\geq 1:640$, and $\geq 1:80$, respectively, in accordance with routine laboratory experience [24]. Positive controls for anti-VCA IgA and anti-EA IgA antibodies consisted of sera from nasopharyngeal carcinoma (NPC) patients. A reactivation profile was defined by high anti-EBV IgG titers by ELISA and high anti-VCA IgG antibody titers by IF. If the results between the ELISA and the IF assay were discordant, the reactivation profile was defined by high anti-EBV IgG antibody levels or high anti-VCA IgG antibody titers combined with high anti-EA IgG antibody titers determined by IF and ELISA.

Statistical analysis

Patients were selected based on the following criteria: diagnosis of NHL with at least one follow-up within the cohort, no previous lymphoma history, no missing values for EBV DNA load in WB or plasma at diagnosis, and no missing values for CD4^{+} cell count and HIV-1 RNA at diagnosis. Furthermore, the following criteria were applied for the sub-analysis of the comparison of EBV variables at diagnosis and the 6-month follow-up: no disease progression at 6 months and no missing values for EBV DNA load in WB or plasma at 6 months. Continuous variables are expressed as medians and interquartile ranges (IQR) and compared using the Wilcoxon signed-rank test or Mann-Whitney test, when appropriate. Categorical variables are expressed as frequencies and percentages and were compared using the McNemar or Fischer test, when appropriate.

Follow-up was defined from NHL diagnosis to the last follow-up. Progression-free survival (PFS) was measured from lymphoma diagnosis to progression, relapse, or

death. The probability of PFS was estimated using the Kaplan-Meier estimate and differences were compared using the log-rank test. Univariate logistic regression was performed to identify factors associated with a high EBV viral load in WB and plasma. Covariables considered in this analysis were CD4^{+} cell count, Ann-Arbor stage, HIV-1 RNA load, prior AIDS-defining event, histological subtype, in situ EBV detection, and EBV serological profile. Statistical tests were two-tailed and $P \leq 0.05$ was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using SAS software version 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

Results

Clinical characteristics of patients at baseline

Of the 111 HIV-infected patients enrolled in the ANRS-CO16 LYMPHOVIR cohort with a diagnosis of NHL between 2008 and 2015, the pretreatment EBV DNA load was assessed both in WB and plasma for 76 (59 men and 17 women, median age: 49.5 years) (Table 1). The median HIV-1 RNA viral load was 572.5 copies/ml (IQR, 40–99 536.5) and median CD4^{+} T-cell count at diagnosis 269/ μl (IQR, 116–428). The histological distribution of NHL was as follows: DLBCL ($n=40$), Burkitt lymphoma ($n=12$), plasmablastic lymphoma ($n=10$), marginal zone lymphoma ($n=4$), primary effusion lymphoma ($n=3$), post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD)-like ($n=2$), and others ($n=5$). Eighteen of 43 (42%) tested cases for in situ EBV were positive. The histological distribution of NHL according to EBV in situ detection is shown in Supplemental Table 1 (<http://links.lww.com/QAD/C23>).

EBV DNA load in whole blood and plasma

Among the 76 patients diagnosed with NHL, the median pretreatment WB and plasma EBV DNA values were 3970 (IQR, 269–14 400) and 0 (0–377.5) viral copies/ml, respectively. Pretreatment WB EBV DNA positivity was associated with a positive plasma HIV-1 RNA load [relative risk (RR), 4.42 (1.33; 14.72), $P=0.02$] and an NHL histological subtype other than DLBCL ($P=0.03$). Multi-variable analysis confirmed the association between WB EBV DNA detection and HIV loads >50 copies/ml at diagnosis [RR 3.46 (1.00; 12.01), $P=0.05$] when taking into account in the analysis AIDS status, EBER in situ expression and NHL subtype (data not shown). Pretreatment plasma EBV DNA positivity was associated with EBV in situ detection [RR 10.62 (2.38; 47.49), $P=0.002$], but not WB EBV DNA (Table 1). The median pretreatment WB and plasma EBV DNA values were 11 400 (IQR, 3290–47 550) and 309 (IQR, 43–1987) for patients with EBV-positive tumors and 2580 (IQR, 117–10 300) and 0 (IQR, 0–260) for patients with EBV-negative tumors, respectively ($P=0.05$ and $P=0.006$). Focusing our analysis on the

Table 1. Univariate analysis of detectable pretreatment EBV DNA in plasma or whole blood in HIV-NHL patients.

	N	Detectable WB EBV DNA (n)	RR	95% CI	P value	Detectable plasma EBV DNA (n)	RR	95% CI	P value
Age					0.74				0.51
Age + 10			1				1		
Sex			0.91	[0.53; 1.57]	0.66		0.87	[0.56; 1.34]	0.74
Male	59	48	1			27	1		
Female	17	13	0.74	[0.20; 2.73]	0.30	7	0.83	[0.28; 2.48]	0.57
Ann-Arbor stage									
I-II	18	16	1			7	1		
III-IV	58	45	0.43	[0.09; 2.13]	0.56	27	1.37	[0.47; 4.03]	0.29
Nadir CD4 ⁺ cell count (cells/ μ l)									
≥ 100	41	34	1			16	1		
<100	31	24	0.71	[0.22; 2.28]	0.14	16	1.67	[0.65; 4.28]	0.82
CD4 ⁺ cell count at diagnosis (cells/ μ l)									
≥ 200	48	36	1			21	1		
<200	28	25	2.78	[0.71; 10.87]	0.02	13	1.11	[0.44; 2.84]	0.16
HIV load at diagnosis (copies/ml)									
≤ 50	29	19	1			10	1		
>50	47	42	4.42	[1.33; 14.72]	0.15	24	1.98	[0.76; 5.16]	0.23
Prior AIDS events									
No	48	41	1			24	1		
Yes	28	20	0.43	[0.14; 1.34]	0.03	10	0.56	[0.21; 1.45]	0.68
DLBCL subtype									
No ^a	36	33	1			17	1		
Yes	40	28	0.21	[0.05; 0.83]	0.14	17	0.83	[0.33; 2.04]	0.002
In situ EBV detection									
Negative	25	19	1			8	1		
Positive	18	17	5.37	[0.59; 49.22]	0.39	15	10.62	[2.38; 47.49]	0.11
EBV serological profile at diagnosis									
Normal	24	18	1			9	1		
Reactivation	32	27	1.80	[0.48; 6.79]		19	2.44	[0.82; 7.22]	

EBV, Epstein-Barr virus; WB, whole blood; CI, confidence interval; RR, risk ratio; NA, not applicable.

^aOthers histological subtypes included Burkitt lymphoma ($n=12$), plasmablastic lymphoma ($n=10$), marginal zone lymphoma ($n=4$), primary effusion lymphoma ($n=3$), post-transplant lymphoproliferative disease-like ($n=2$), others ($n=5$). P values considered as statistically significant are in bold.

subgroup of patients with DLBCL ($n=40$), WB EBV DNA, but not plasma EBV DNA, correlated with HIV-1 RNA load ($P=0.05$); however, the detection of EBV DNA in WB or plasma before treatment was not associated with EBER detection ($P=0.58$ and $P=0.95$, respectively) in this subgroup. Estimated 2-year PFS did not differ according to pretreatment WB EBV DNA: 82% [95% CI (72%; 91%)] in patients with detectable pretreatment EBV DNA in WB versus 67% [95% CI (43%; 91%)] among those with undetectable pretreatment EBV DNA in WB or according to plasma EBV DNA: 76% [95% CI (62%; 91%)] among patients with detectable pretreatment EBV DNA in plasma versus 81% [95% CI (69%; 93%)] among those with undetectable pretreatment EBV DNA in plasma (Fig. 1). Similarly, there was no association with this outcome among patients with DLBCL (Supplemental Fig. 1, <http://links.lww.com/QAD/C23>).

We evaluated how WB or plasma EBV DNA loads evolved in patients responding to chemotherapy, by comparing the EBV DNA loads between the diagnosis and the 6-month follow-up for 53 patients in remission at six months (Table 2). The proportion of patients with WB and plasma EBV DNA (+) significantly decreased from 81 to 23% ($P<0.0001$), and from 43 to 8% ($P<0.0001$),

respectively. The detection of EBV DNA in WB or plasma at 6 months was not associated with PFS (data not shown).

Epstein-Barr virus serology

All patients were positive for anti-EBV IgG and anti-VCA IgG antibodies at NHL diagnosis and 57% had a reactivation serological profile. There was no significant association between a reactivation serological profile and WB or plasma EBV DNA detection ($P=0.39$ and 0.11 , respectively) (Table 1). The serological profile did not differ between patients with EBV-negative tumors and those with EBV-positive tumors and was not associated with the outcome (data not shown). At 6 months, we noted a significant decrease in anti-EA IgG antibody titer ($P=0.01$) and a trend toward a decrease in anti-EBV IgG antibody levels ($P=0.07$) (Table 2).

Discussion

Here, we investigated EBV biomarkers in a recent prospective cohort of HIV-patients diagnosed with NHL. Diverse forms of EBV DNA can be detected in peripheral blood [25]. Latent cell-associated episomal EBV DNA is,

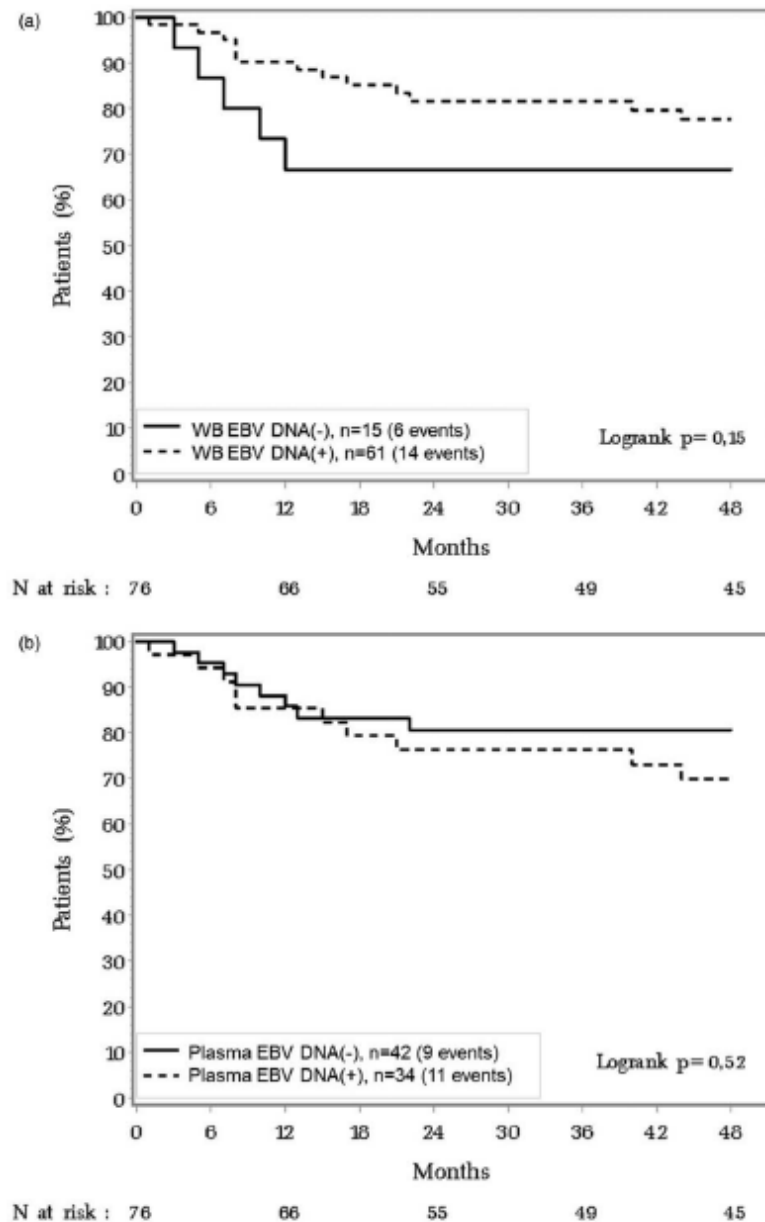


Fig. 1. Progression-free survival of HIV-NHL patients according to pretreatment whole blood (a) or plasma (b) EBV DNA load. (a) Two-year PFS of patients with detectable pretreatment EBV DNA in WB: 82%, 95% CI [72%; 91%]. Two-year PFS of patients with undetectable pretreatment EBV DNA in WB: 67%, 95% CI [43%; 91%]. Median follow-up, 48 months. (b) Two-year PFS of patients with detectable pretreatment EBV DNA in plasma: 76%, 95% CI [62%; 91%]. Two-year PFS of patients with undetectable pretreatment EBV DNA in plasma: 81%, 95% CI [69%; 93%]. Median follow-up, 48 months.

released from benign, latently infected cells or from EBV tumor cells. It can be measured in PBMCs or WB. In contrast, cell-free virions DNA are excreted in the setting of lytic, replicative infection DNA. It can be measured in

plasma or whole blood. These two forms of EBV DNA have been shown to co-exist in the peripheral blood of HIV patients with or without lymphomas [26–28]. Given the potential clinical utility of studying cell-free

Table 2. Comparison of EBV DNA load and antibodies at diagnosis and 6 months after initiation of chemotherapy in patients in remission at 6 months.

	Pretreatment (n = 53)		Six-month follow-up (n = 53)		P value
	(%)	Median (IQR)	(%)	Median (IQR)	
WB EBV DNA					
Positive	43	81	12	23	<0.0001
>4000 copies/ml	26	49	3	6	<0.0001
Values (copies/ml)		3970 (269–14 400)		0 (0–0)	<0.0001
Plasma EBV DNA					
Positive	23	43	4	8	<0.0001
>600 copies/ml	9	17	0	0	0.004
Values (copies/ml)		0 (0–342)		0 (0–0)	<0.0001
Anti-EBV antibodies					
Anti-EBV IgG, AU/ml		600 (330–1000)		570 (280–960)	0.07
Anti-VCA IgG, titer		640 (240–1280)		480 (240–940)	0.10
Anti-EA IgG, titer		80 (40–320)		80 (40–160)	0.01

P values were determined by the McNemar test (categorical variables) or Wilcoxon signed-rank test (continuous variables). EA, early antigen; EBV, Epstein-Barr virus; IQR, interquartile range; VCA, viral capsid antigen; WB, whole blood. P values considered as statistically significant are in bold.

and cell-associated specimens in HIV patients with NHL [14,16], we explored EBV DNA both in plasma and WB specimens, these compartments reflecting respectively, cell-free EBV DNA only and both cell-free and cell-associated EBV DNA. We report a frequency of plasma EBV DNA detection of 45% at diagnosis, a value similar to those reported in recent studies carried out in HIV-patients with NHL [12,14] and higher than values reported for HIV-negative patients with lymphoma (12–16%) [14,29], HIV-patients without lymphoma (16%), and HIV-negative immunocompetent patients (3%) [30]. An analysis of these results according to EBV tumor status showed higher plasma EBV DNA detection in EBV(+) NHL patients than EBV(–) NHL patients. These results are consistent with those of previous studies on HIV-uninfected and HIV-infected patients with EBV(+) lymphomas [14,30–33]. Plasma EBV DNA is considered to be a more specific tumor marker for EBV(+) lymphomas than EBV DNA in WB or PBMC [30]. We show a frequency of WB EBV DNA detection (80%) similar to that reported in a study examining peripheral blood mononuclear cell (PBMC) EBV DNA detection in HIV-NHL patients [16]. The lack of association between the detection of EBV DNA in the WB and EBV in situ detection suggests EBV replication in non-tumor cells. We also observed that EBV DNA detection in WB before treatment was associated with detectable HIV-1 RNA load. The link between WB EBV DNA and HIV-1 RNA load has been previously described in HIV-infected patients without lymphoma [34].

EBV DNA in peripheral blood has been investigated as a tumor marker in EBV-associated lymphomas. Recent reports on HIV-associated HL suggest that a high pretreatment level of plasma EBV DNA is a marker of poor prognosis, but we and others did not find such an association [13–15,18]. The lack of prognostic significance of pretreatment WB or plasma EBV DNA loads in our study contrasts with the results from two studies

suggesting that positive plasma EBV DNA load was a potential prognostic marker in HIV-NHL patients [12,14]. The patients included in these studies were not treated with rituximab and one of the studies included patients with pejorative markers of HIV infection and frequent immunodeficiency (60% of the patients had a CD4⁺ cell count <200/μl at diagnosis and only 30% had undetectable HIV-1 RNA) [14]. Most of the patients included in our study received rituximab, which is associated with improved outcomes for patients with HIV-associated lymphoma [35]. Second, the patients showed differences in HIV-infection and immune-deficiency markers, with more patients under cART or with undetectable HIV-1 RNA load and CD4⁺ cell count >200/μl in our study. The OS estimates found in these studies were <65%, which is inferior to those recently reported for HIV-NHL patients [21,36]. Several studies analyzed the outcomes of HIV-NHL patients according to EBV tumor status and showed that the presence of EBV in the tumor had no prognostic value for HIV-patients with NHL [37,38]. These results are consistent with ours, which show that plasma EBV DNA load correlates with EBV in situ status but has no prognostic significance in HIV-NHL. We also investigated whether EBV DNA load in peripheral blood could be a marker for monitoring patients after chemotherapy, as suggested by Muncunill *et al.* [14], and observed a dramatic decrease of WB and plasma EBV DNA load at six months after the initiation of chemotherapy in patients without relapse; however, we were unable to show that WB or plasma EBV DNA detection at 6 months after chemotherapy is associated with a worse outcome due to the small number of patients experiencing a relapse in our study population.

A few studies have explored the antibody response to EBV in HIV-infected patients with lymphoma. We found a high frequency (57%) of patients with a high level of IgG antibodies directed against EBV lytic antigens but this

reactivation serological profile was not associated with outcome. High levels of anti-VCA/EA IgG antibodies have been observed in patients with EBV(+) HL [39], HIV-infected patients without lymphoma [27,28], and HIV-infected patients with lymphoma (HL and NHL) [15,40]. The relationship between such anti-EBV antibodies and NHL risk in HIV-uninfected patients is still debated and may depend on the NHL subtype and the EBV tumor status [41–43]. We observed a decline in antibody IgG levels against lytic antigens in patients who were in remission 6 months after chemotherapy, concomitantly with the decrease of EBV DNA load, supporting restoration of the anti-EBV immune response and control of EBV replication after successful treatment.

The strength of our study was the inclusion of patients with HIV-NHL for whom the management of HIV infection and lymphoma was optimal and associated with good survival; however, our study had several limitations, in particular the absence of controls. Moreover, the small number of unfavorable events may have limited statistical power.

In conclusion, we found that plasma EBV DNA loads at diagnosis vary according to the EBV tumor status of HIV-NHL patients and that WB EBV DNA loads correlate with HIV load. Overall, our results do not support the hypothesis that blood EBV DNA and EBV serology are prognostic markers for HIV-related lymphoma in the modern cART era. The significant decrease of the EBV load in WB and plasma during the follow-up may suggest that these markers could be useful for monitoring patients after chemotherapy deserving further evaluations.

Acknowledgements

We are grateful to the Centre Hospitalier de Versailles for editorial assistance.

Funding: This work was supported by research funding from INSERM Agence Nationale de Recherche sur le SIDA et les Hépatites (ANRS) [ANRS-CO16 Lymphovir cohort].

Author contributions: J.L. and C.B. designed the study, analyzed the data, and wrote the article. D.C., P.M., and R.G. designed the study, analyzed the data, and reviewed the article. R.L. performed the statistical analysis. M.A.-G., H.H.-C., and Y.T. performed the data and biological collection. E.B., M.C.M., M.P., B.M., and N.M. enrolled the patients and collected clinical and biological data. S.P. coordinated the pathological analysis. A.F. performed EBV analyses.

Conflicts of interest

The authors declare no competing financial interests.

References

- Simard EP, Engels EA. Cancer as a cause of death among people with AIDS in the United States. *Clin Infect Dis* 2010; 51:957–962.
- Lanoy E, Spano J-P, Bonnet F, et al. The spectrum of malignancies in HIV-infected patients in 2006 in France: the ON-COVH study. *Int J Cancer* 2011; 129:467–475.
- Vandenbende M-A, Roussillon C, Henard S, et al. Cancer-related causes of death among HIV-infected patients in France in 2010: evolution since 2000. *PLoS One* 2015; 10:e0129550. doi: 10.1371/journal.pone.0129550.
- Arvey A, Ojesina AI, Pedamallu CS, et al. The tumor virus landscape of AIDS-related lymphomas. *Blood* 2015; 125:e14–e22.
- Carbone A, Volpi CC, Gualeni AV, Gloghini A. Epstein–Barr virus associated lymphomas in people with HIV. *Curr Opin HIV AIDS* 2017; 12:39–46.
- Dolcetti R, Gloghini A, Caruso A, Carbone A. A lymphomagenic role for HIV beyond immune suppression? *Blood* 2016; 127:1403–1409.
- Shannon-Lowe C, Rickinson AB, Bell AI. Epstein–Barr virus-associated lymphomas. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2017; 372:0160271.
- Ma S-D, Hegde S, Young KH, et al. A new model of Epstein–Barr virus infection reveals an important role for early lytic viral protein expression in the development of lymphomas. *J Virol* 2011; 85:165–177.
- Münz C. Latency and lytic replication in Epstein–Barr virus-associated oncogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:691–700.
- Okamoto A, Yanada M, Inaguma Y, et al. The prognostic significance of EBV DNA load and EBER status in diagnostic specimens from diffuse large B-cell lymphoma patients. *Hematol Oncol* 2017; 35:87–93.
- Tisi MC, Cupelli E, Santangelo R, et al. Whole blood EBV-DNA predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2016; 57:628–634.
- Montgomery ND, Randall C, Painschab M, et al. High pretreatment plasma Epstein–Barr virus (EBV) DNA level is a poor prognostic marker in HIV-associated, EBV-negative diffuse large B-cell lymphoma in Malawi. *Cancer Med* 2019; 9:552–561.
- Ul-Haq I, Dalla Pria A, Suardi E, et al. Blood Epstein–Barr virus DNA does not predict outcome in advanced HIV-associated Hodgkin lymphoma. *Med Oncol* 2018; 35:53.
- Muncunill J, Baptista M-J, Hernandez-Rodríguez Á, et al. Plasma Epstein–Barr virus load as an early biomarker and prognostic factor of human immunodeficiency virus-related lymphomas. *Clin Infect Dis* 2019; 68:834–843.
- Lupo J, Germi R, Lancar R, et al. Epstein–Barr virus biomarkers have no prognostic value in HIV-related Hodgkin lymphoma in the modern combined antiretroviral therapy era. *AIDS* 2019; 33:993–1000.
- Leruez-Ville M, Seng R, Morand P, et al. Blood Epstein–Barr virus DNA load and risk of progression to AIDS-related systemic B lymphoma. *HIV Med* 2012; 13:479–487.
- Van Baarle D, Wolthers KC, Hovenkamp E, et al. Absolute level of Epstein–Barr virus DNA in human immunodeficiency virus type 1 infection is not predictive of AIDS-related non-Hodgkin lymphoma. *J Infect Dis* 2002; 186:405–409.
- Lupo J, Germi R, Costagliola D, Morand P, Besson C. Utility of Epstein–Barr virus biomarkers in human immunodeficiency virus-related lymphomas in the modern combined antiretroviral therapy era. *Clin Infect Dis* 2019; 68:891–892.
- Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Survival of HIV-positive patients starting antiretroviral therapy between 1996 and 2013: a collaborative analysis of cohort studies. *Lancet HIV* 2017; 4:e349–e356.
- Besson C, Lancar R, Prevot S, et al. High risk features contrast with favorable outcomes in HIV-associated Hodgkin lymphoma in the modern cART era, ANRS CO16 LYMPHOVIR cohort. *Clin Infect Dis* 2015; 61:1469–1475.
- Besson C, Lancar R, Prevot S, et al. Outcomes for HIV-associated diffuse large B-cell lymphoma in the modern combined antiretroviral therapy era. *AIDS* 2017; 31:2493–2501.

22. Germl R, Lupo J, Semenova T, et al. Comparison of commercial extraction systems and PCR assays for quantification of Epstein-Barr virus DNA load in whole blood. *J Clin Microbiol* 2012; 50:1384-1389.
23. Lupo J, Germl R, Semenova T, Buisson M, Seigneurin JM, Morand P. Performance of two commercially available automated immunoassays for the determination of Epstein-Barr virus serological status. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19:929-934.
24. Buisson M, Fleurent B, Mak M, et al. Novel immunoblot assay using four recombinant antigens for diagnosis of Epstein-Barr virus primary infection and reactivation. *J Clin Microbiol* 1999; 37:2709-2714.
25. 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; 18:305-319.
26. Piriou ER, van Dort K, Nanlohy NM, Miedema F, van Oers MH, van Baarle D. Altered EBV viral load setpoint after HIV seroconversion is in accordance with lack of predictive value of EBV load for the occurrence of AIDS-related non-Hodgkin lymphoma. *J Immunol Baltim Md* 2004; 172:6931-6937.
27. Stevens SJ, Blank BSN, Smits PHM, Meenhof PL, Middelkoop JM. High Epstein-Barr virus (EBV) DNA loads in HIV-infected patients: correlation with antiretroviral therapy and quantitative EBV serology. *AIDS* 2002; 16:993-1001.
28. Stevens SJ, Smits PHM, Verkuijlen SAWM, et al. Aberrant Epstein-Barr virus persistence in HIV carriers is characterized by anti-Epstein-Barr virus IgA and high cellular viral loads with restricted transcription. *AIDS* 2007; 21:2141-2149.
29. Okamoto A, Yanada M, Miura H, et al. Prognostic significance of Epstein-Barr virus DNA detection in pretreatment serum in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Sci* 2015; 106:1576-1581.
30. Kanakry JA, Hegde AM, Durand CM, et al. The clinical significance of EBV DNA in the plasma and peripheral blood mononuclear cells of patients with or without EBV diseases. *Blood* 2016; 127:2007-2017.
31. Kanakry JA, Li H, Gellert LL, et al. Plasma Epstein-Barr virus DNA predicts outcome in advanced Hodgkin lymphoma: correlative analysis from a large North American cooperative group trial. *Blood* 2013; 121:3547-3553.
32. Park JH, Yoon DH, Kim S, et al. Pretreatment whole blood Epstein-Barr virus-DNA is a significant prognostic marker in patients with Hodgkin lymphoma. *Ann Hematol* 2016; 95:801-808.
33. Fan H, Kim SC, China CO, et al. Epstein-Barr viral load as a marker of lymphoma in AIDS patients. *J Med Virol* 2005; 75:59-69.
34. Amiel C, Legoff J, Lescure FX, et al. Epstein-Barr virus load in whole blood correlates with HIV surrogate markers and lymphoma: a French national cross-sectional study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 50:427-429.
35. Barta SK, Xue X, Wang D, et al. Treatment factors affecting outcomes in HIV-associated non-Hodgkin lymphomas: a pooled analysis of 1546 patients. *Blood* 2013; 122:3251-3262.
36. Barta SK, Samuel MS, Xue X, et al. Changes in the influence of lymphoma- and HIV-specific factors on outcomes in AIDS-related non-Hodgkin lymphoma. *Ann Oncol* 2015; 26:958-966.
37. Chadburn A, Chiu A, Lee JY, et al. Immunophenotypic analysis of AIDS-related diffuse large B-cell lymphoma and clinical implications in patients from AIDS Malignancies Consortium clinical trials 010 and 034. *J Clin Oncol* 2009; 27:5039-5048.
38. Ok CY, Li L, Xu-Monette ZY, et al. Prevalence and clinical implications of Epstein-Barr virus infection in de novo diffuse large B-cell lymphoma in Western countries. *Clin Cancer Res* 2014; 20:2338-2349.
39. Levin LJ, Chang ET, Ambinder RF, et al. Atypical prediagnosis Epstein-Barr virus serology restricted to EBV-positive Hodgkin lymphoma. *Blood* 2012; 120:3750-3755.
40. Halec G, Waterboer T, Brenner N, et al. Serological assessment of 18 pathogens and risk of AIDS-associated non-Hodgkin lymphoma. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2019; 80:e53-e63.
41. Bertrand KA, Birmann BM, Chang ET, et al. A prospective study of Epstein-Barr virus antibodies and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2010; 116:3547-3553.
42. Bassig BA, Willhauck-Fleckenstein M, Shu X-O, et al. Serologic markers of viral infection and risk of non-Hodgkin lymphoma: a pooled study of three prospective cohorts in China and Singapore. *Int J Cancer* 2018; 143:570-579.
43. Teras LR, Rollison DE, Pawlita M, et al. Epstein-Barr virus and risk of non-Hodgkin lymphoma in the cancer prevention study-II and a meta-analysis of serologic studies. *Int J Cancer* 2015; 136:108-116.