

41^e

RÉUNION INTERDISCIPLINAIRE DE
CHIMIOTHÉRAPIE ANTI-INFECTIEUSE

LUNDI 13 & MARDI 14
DÉCEMBRE 2021

PALAIS DES CONGRÈS • PARIS



R I C A I

Place du diagnostic immunologique dans le traitement antiviral

Dr Sophie Alain

CHU de Limoges

Centre National de Référence des Herpesvirus



Université
de Limoges



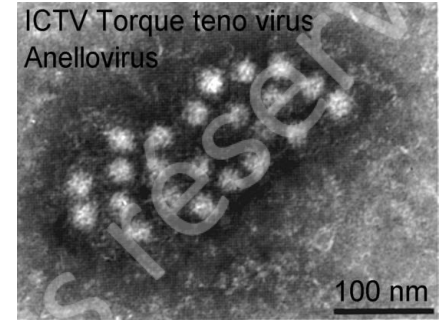
Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

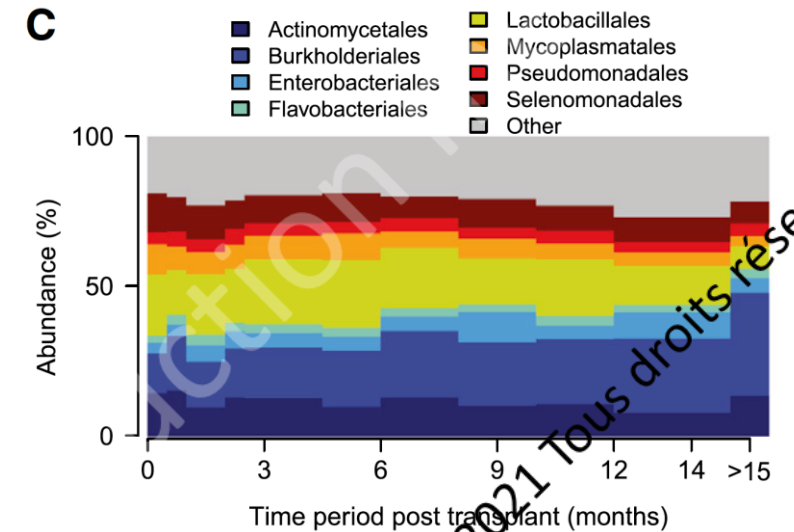
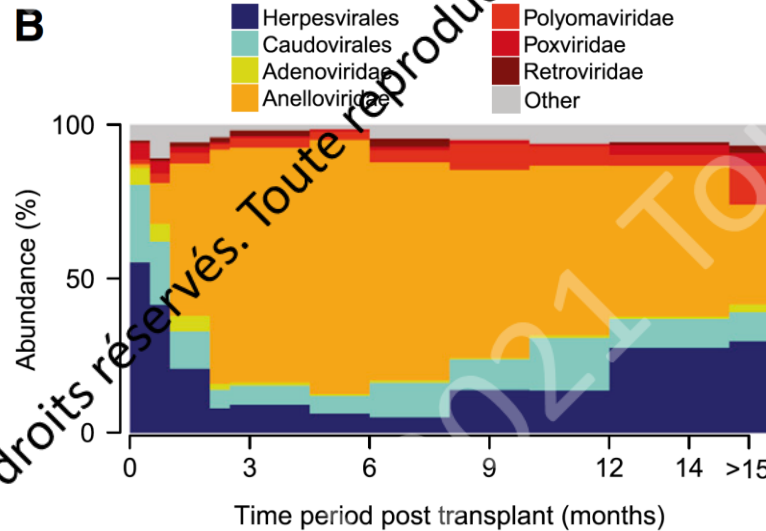
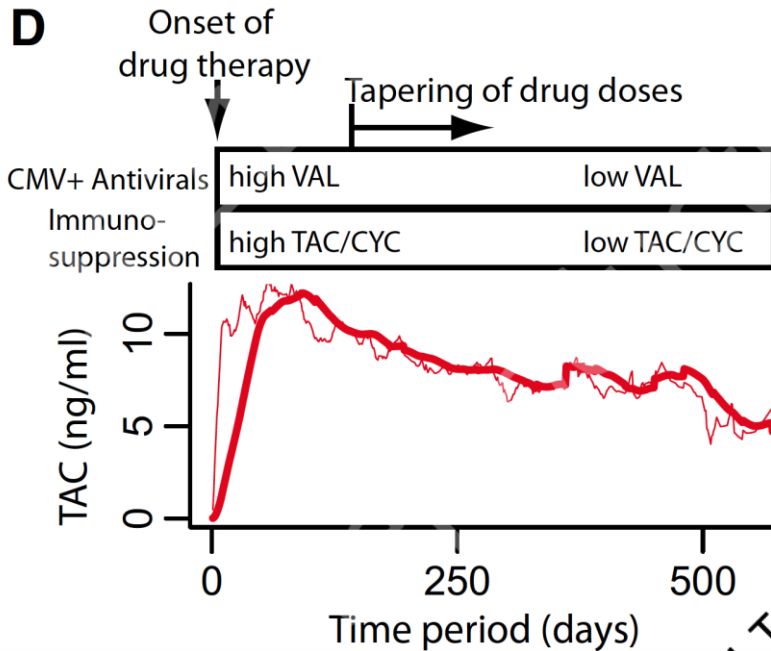


Viroème humain et immunodépression

96 organ recipients, 41 adult heart, 24 pediatric heart, 31 adult lung, 656 plasma samples



TTV (Ytoh, BBRC, 2001)



Vlaminck et al., Cell 2013

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Le CMV : un facteur majeur de morbidité en cas d'immunodépression

Traitement Préventif et Curatif

Infection à VIH

<100 CD4

Rétinite
Encéphalite
Colite...

↓ 80%

Effets indirects +++

AlloGrefe de CSH :

Colite

Pneumonie

Rétinite

Effets indirects : GVH, infections

Toxicité des Avx

A risque : R+

J100 ; M4-M12

Transplantation

Colites...

Atteinte de l'organe greffé

Effets indirects: Rejet/

Infections

Toxicité des Avx

A risque D+/R-

Chaque nouvel épisode d'infection à CMV augmente le coût de la greffe de CSH de 25 à 30%

(Rouven et al. BMC infect Dis. 2017)

Lymphomes, leucémies

Déficits immunitaires congénitaux

MICI

Pb : Toxicité des antiviraux, Résistance

(Conférence de consensus : Kotton et al., Transplantation 2018, ECIL2017)

Evaluer le risque lié au CMV pour mieux adapter le traitement curatif et prophylactique

Durée de prophylaxie primaire?

Nécessité de prophylaxie secondaire?

Greffe d'organe

Prophylaxie valganciclovir
3 mois R+
6-12mois R-

Infection à CMV

Récurrence/persistance
Infection à CMV

Infection à CMV résolutive
Sans récurrence

Pas d'infection à CMV

Résistance à un ou plusieurs antiviraux

Absence de résistance

Durée de traitement?
Prophylaxie secondaire ?

Evolution favorable/défavorable ?

Greffe de CSH

Prophylaxie Letermovir
100j 200j?

Pas d'infection à CMV

Infection à CMV résolutive
Sans récurrence

Infection à CMV

Récurrence/persistance
Infection à CMV

Durée de traitement?
Prophylaxie secondaire ?

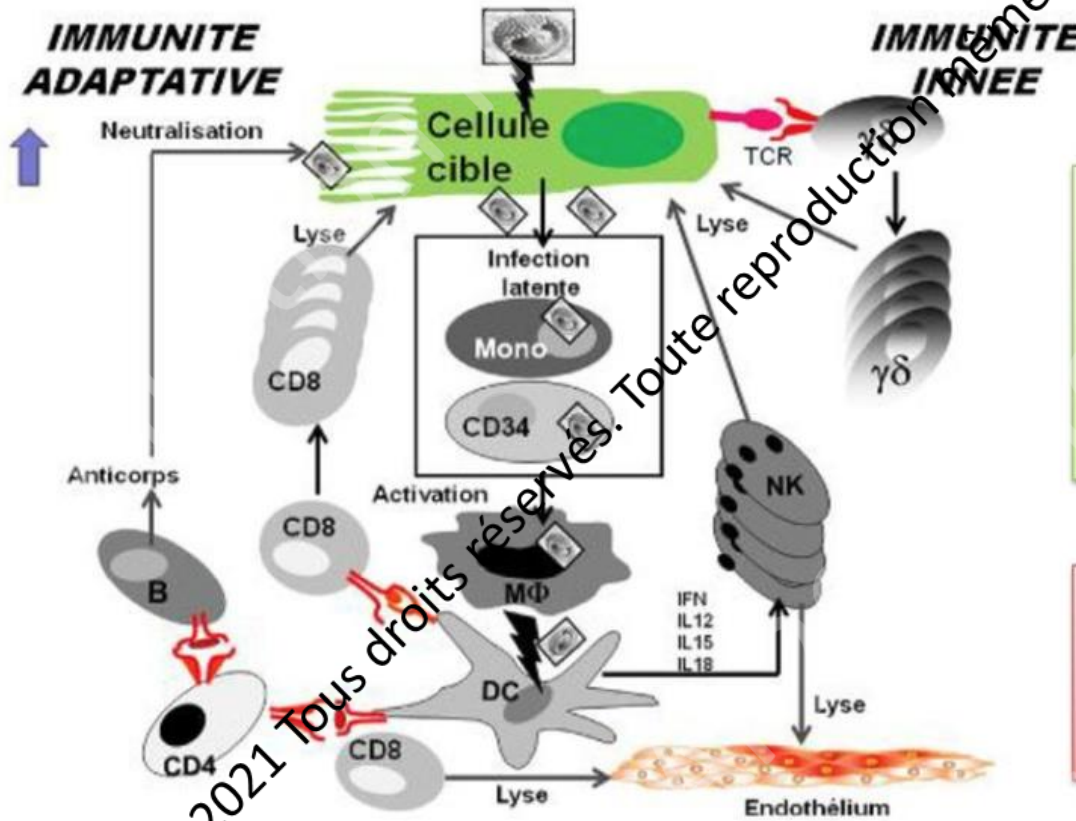
Absence de résistance

Résistance à un ou plusieurs antiviraux

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Reponse immune anti CMV

CMV ?



- Réplication uniquement dans les cellules humaines avec tropisme très étendu

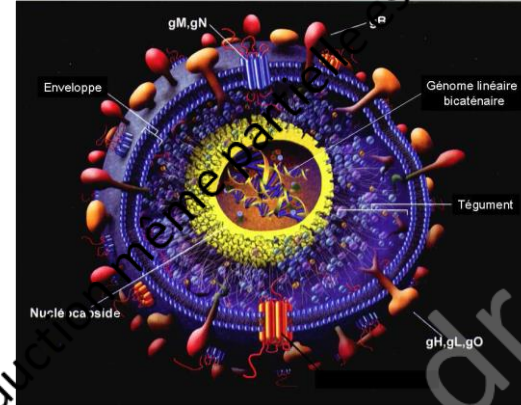
- ¾ du génome du CMV dédié à le faire échapper au SI

Tous droits réservés. Toute reproduction partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Réponse immune anti CMV : Une balance entre réponse immune et évasion

Rôle majeur de l'immunité innée
TLR2, TLR9
Cellules dendritiques
Cellules NK



Évasion
immune

Immunité humorale

Ac Neutralisants
IgG/gH...
Ac ADCC
Immunoévasines

Immunité
cellulaire
TCD8+
TCD4+
NK T, $\gamma\delta$ T

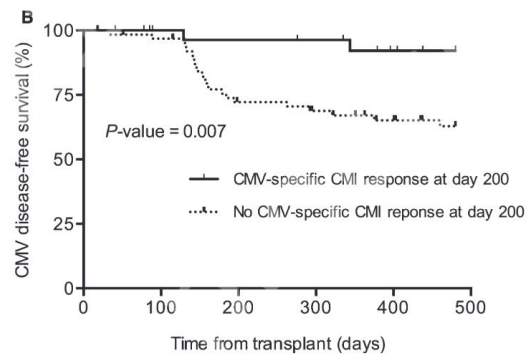
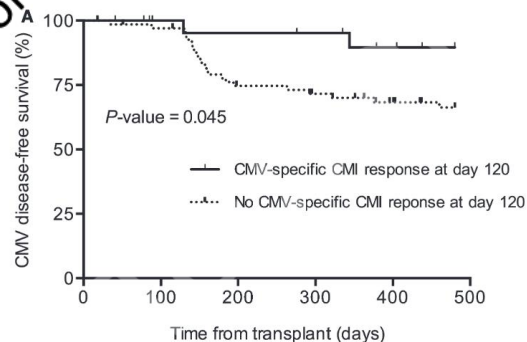
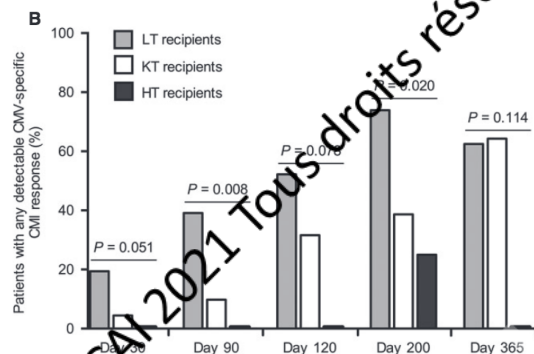
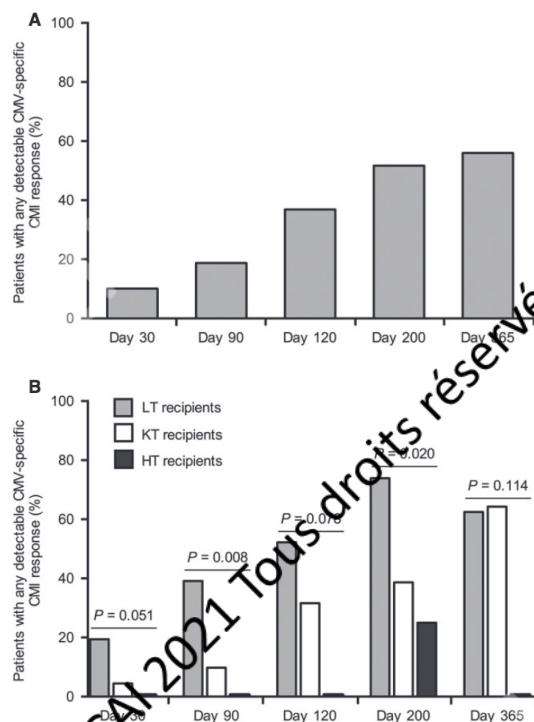
La reconstitution immunitaire après greffe SOT prédit la maladie à CMV

San Juan et al., Transpl Infect Dis 2015

IE1-pp65 CD8+/CD4+ ou cytokines intracellulaires en cytométrie en flux

La réponse varie selon l'organe greffé

la réponse cellulaire prédit la maladie à CMV à J120 ou à J200

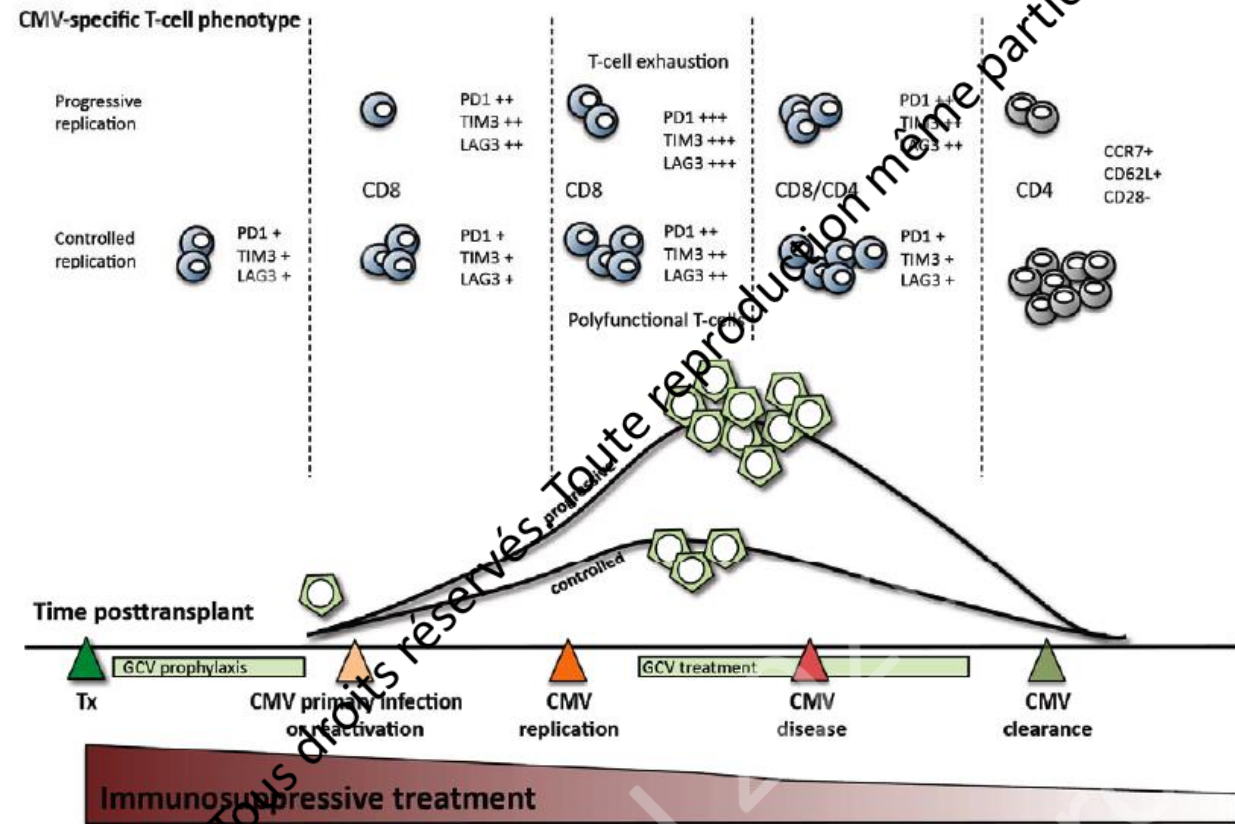


Pas d'impact significatif de la prophylaxie (+/- ou durée)

© RICAI 2021 Tous droits réservés. cohorte de 95 SOT

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Immunosénescence programmée au cours des infections à CMV en transplantation : surveiller la reconstitution immune pour prévenir les récurrences



- hyperexpression par les CTLs de récepteurs PD-1 (programmed death), Tim-3 inhibant la fonction des CTLs (restaurée par Ac anti PD-1)
- prédominance de CTLs CD57+ (marqueur de sénescence) (Smith and Khanna, AmJT 2012)
- mutations du récepteur de PDI modifient la survie chez les receveurs d'une greffe CMV+

L'évaluation de la réponse immune

- 3 tests prédictifs de virémie et maladie à CMV :
 - Quantiféron CMV (CD8), Qiagen (Marqué CE) impact HLA +/-
 - Elispot (CD4+CD8) (Ficoll) (Marqué CE) Lophius kit T[®] track CMV ou Oxford Technologies T[®] Spot
 - Mesure des cytokines intracellulaires (1ml sang total ou PBMC) labo spécialisé
- Place dans la surveillance pour identifier les patients à risque de rechute ou de maladie à CMV (BII ECIL, SOT)

Tests de monitoring de l'immunité anti CMV en transplantation

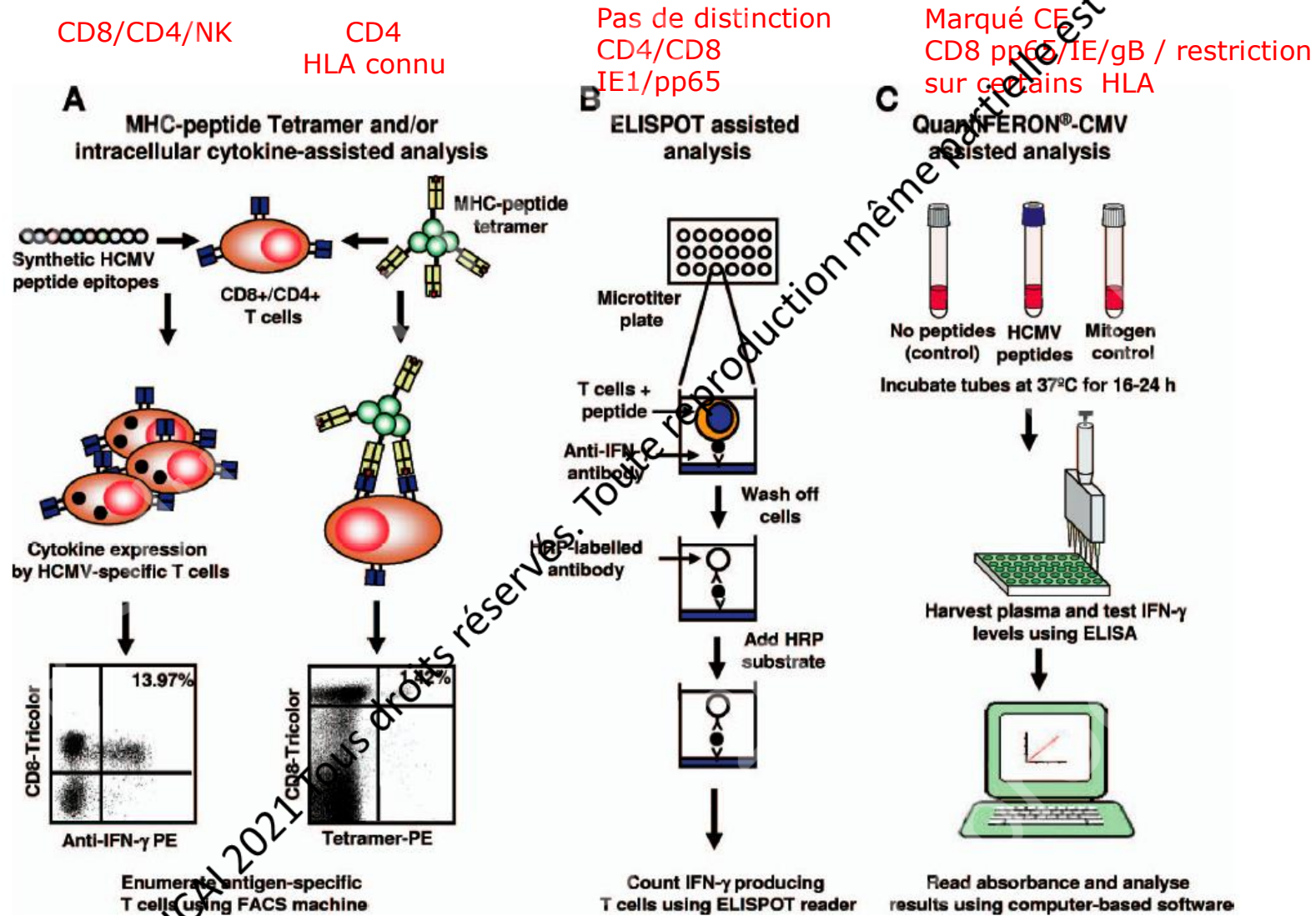
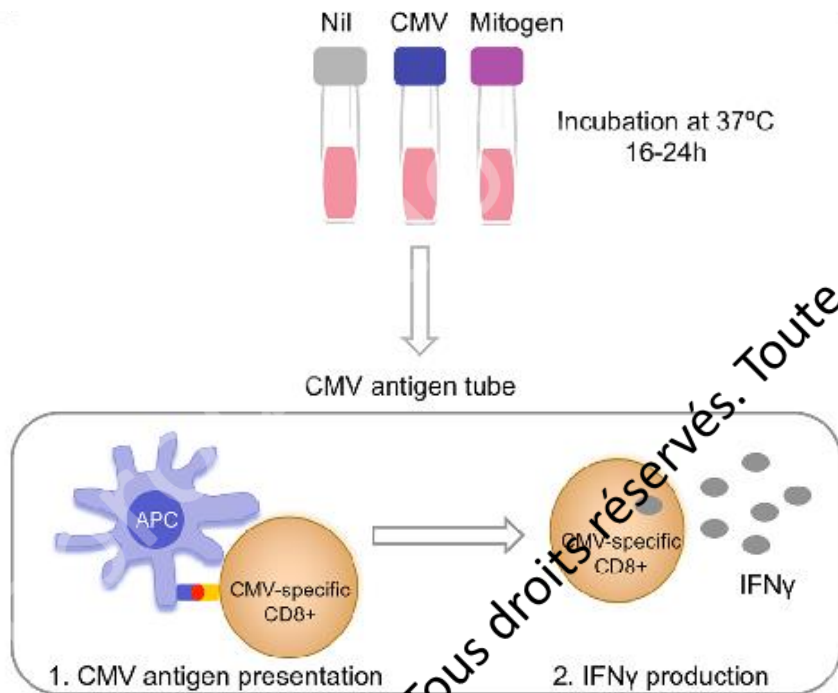


TABLE 2.**Advantages and limitations of various assays for immune monitoring of CMV**

Assay	Advantages	Limitations	Comments	Predict viremia	Predict disease
ICS	Whole blood assay with low blood volume (1 mL) or PBMC Short incubation time Results available after 8 hours Identification of CD4+ and CD8+ T cells Knowledge of HLA not necessarily required Quantitative and qualitative characterization	Needs access to a flow cytometer Not standardized	Most data available with this technique Potential to freeze PBMCs and ship to reference lab for testing	Yes	Yes
QuantiFERON-CMV (Qiagen, USA)	Whole blood assay with low blood volume (3 mL) Simple to perform Results available after 30-40 hours Can be done in any center and stimulated plasma can be sent to reference lab	CD8+ responses only. Sensitive to lymphopenia. Rare patients whose HLA types are not covered in assay	Approved in Europe	Yes	Yes
ELISpot	Identifies both CD4+/CD8+ T cells Knowledge of HLA not necessarily required Results available after 30-40 hours	Need for purified PBMC from 10 mL blood (in reality 5-10 mL) cannot differentiate CD4+ and CD8+ T cells Not standardized	Potential to freeze PBMCs and ship to reference lab for testing; Commercial availability (T-Track CMV, Lophius CE marked in Europe; T-SPOT.CMV is LDT in U.S.) and CE marked in Europe	Yes	Yes
MHC multimer staining	Fast assay (1-2 h) Whole blood assay with low blood volume (0.5-1 mL) or PBMC	CD8+ responses only Needs access to a flow cytometer HLA and epitope-specific. No information about function unless combined with ICS Not standardized	Unlikely to be used on a widespread basis	No, Only in combination with functional or phenotypical markers	No

Quantiferon™ CMV (Qiagen)

seuil 0,2 U INF/ml



d'après Caston JJ Intensive Care Med, 2015

Prediction risque CMV

peu d'études interventionnelles mais marqueur potentiel prédictif de réactivation CMV, de charge virale élevée, de maladie CMV (Manuel et al., CID 2013, Tey et al, Plos One 2013, Bono et al., JCV 2016) ou de Multidrug Resistance (Herling et al., JCV 2016, Case report, Faure et al, 2016, (Medicine clin cases)

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

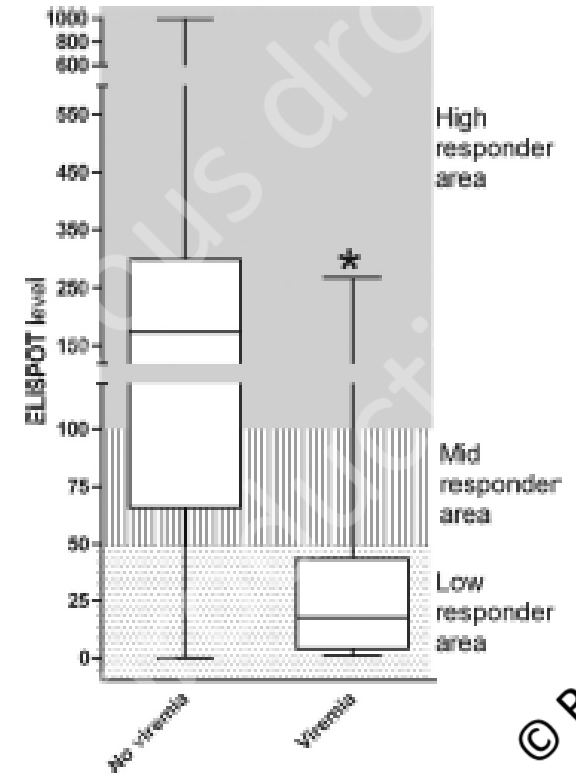
Résultats cliniques

- QuantiFERON[®]-CMV

- Kumar et al., 2011
 - 108 D+/R- et R+
 - Seuil < 0,2UI/mL prédictif de maladie à CMV post prophylaxie
- Lisboa et al. 2012
 - 37 SOT, R+ et D+/R : QCMV pos ⇔ clearance spontanée p=0,004
- Weseslindtner et al. 2012
 - 37 R Poumon
 - Association QCMV neg et virémie >1000copies/ml

48 transplantés cardiaques R+

Elispot



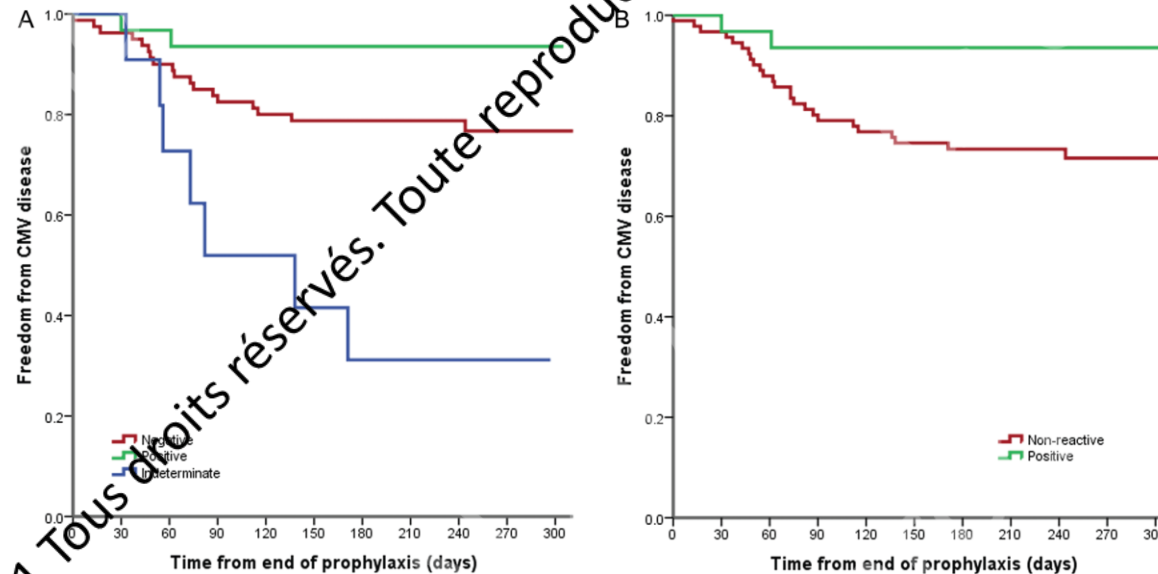
Abate et al. JCM 2012,

© RICAI 2021 Tous droits réservés

© RICAI 2021 Tous droits réservés

Quantiféron CMV et prédiction de la maladie à CMV :

- 124 patients Receveurs de rein D+/**R-**
- Test fin prophylaxie et 1-2 mois plus tard
- Cut-off : 0,1 au lieu de 0,2 IU/mL



A, Positive vs negative vs indeterminate result of the assay (log-rank test, $P < .001$). B, Positive vs nonreactive result of the assay (log-rank test, $P = .024$).

Tous droits réservés. Toute reproduction est interdite.

Quantiféron CMV et durée de prophylaxie primaire Transplantation pulmonaire

Transplantation. Publish Ahead of Print(), SEP 2018
DOI: 10.1097/TP.0000000000002454, PMID: 30247316
Issn Print: 0041-1337
Publication Date: 2018/09/21



A Randomized Study of Quantiferon-CMV-Directed Versus Fixed Duration Valganciclovir Prophylaxis to Reduce Late CMV Following Lung Transplantation

Glen P. Westall; Yvonne Cristiano; Bronwyn J. Levvey; Helen Whitford; Miranda A. Paraskeva; Eldho Paul; Anton Y. Peleg; Gregory I. Snell

118 Patients A risque d'infection à CMV
Randomisation : 5 mois Valganciclovir versus 5 -11 mois guidé par QF > 0,2 UI/mL

Objectif principal = Incidence de l'infection pulmonaire à CMV à 18 mois post greffe : 37% versus 58% p= 0,03

Incidence de la virémie, du rejet ou de la dysfonction du greffon : NS

Bras Quantiféron : virémie > 600 copies/ml 13% vs 67%,
> 4 log 3% vs 50%

A l'arrêt des 11 mois de prophylaxie : QF<0,2 => 25% virémie tardive

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

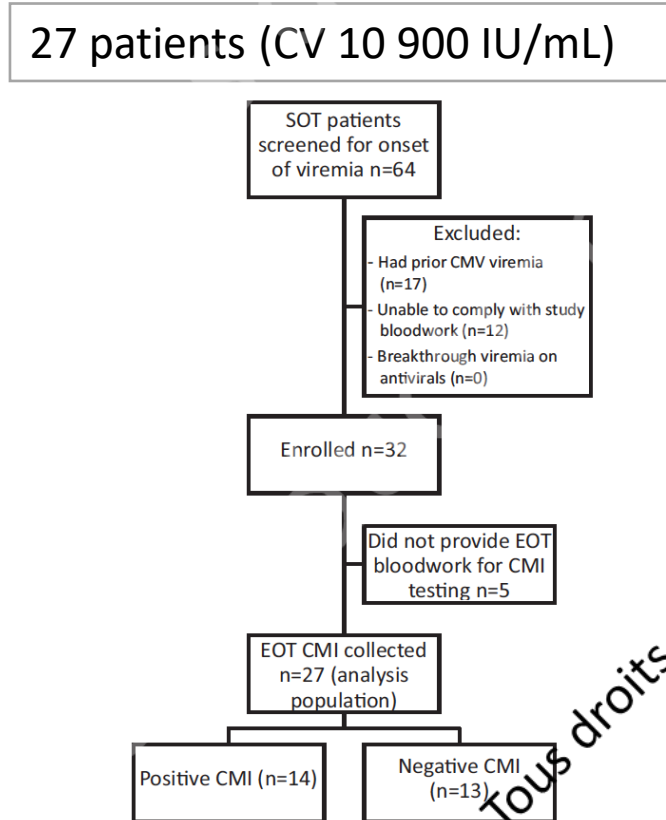
© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Quantiférom CMV et prophylaxie secondaire: une première étude interventionnelle non randomisée

Brief Communication

An Interventional Study Using Cell-Mediated Immunity to Personalize Therapy for Cytomegalovirus Infection After Transplantation

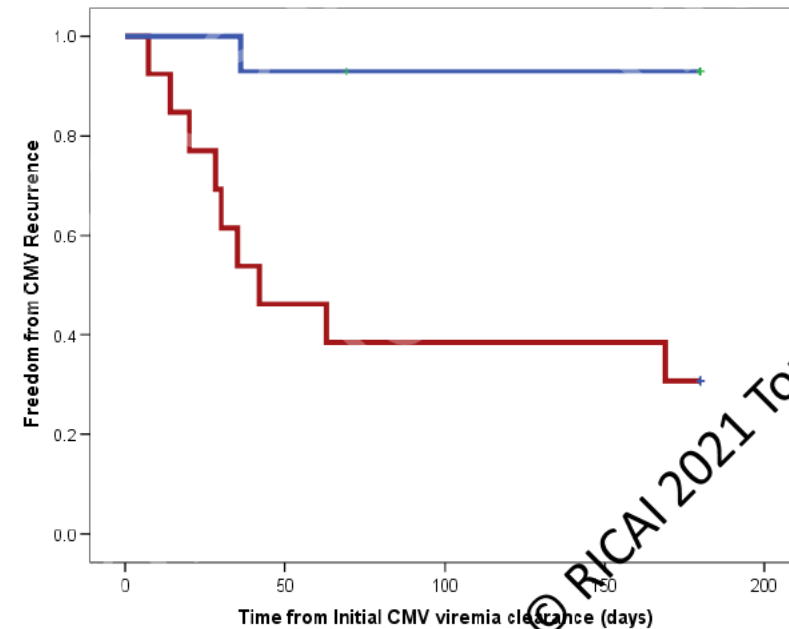
D. Kumar*, M. Mian, L. Singer and A. Humar Introduction



Pas de prophylaxie ≤ 14/27 (51.9%)
1 récurrence

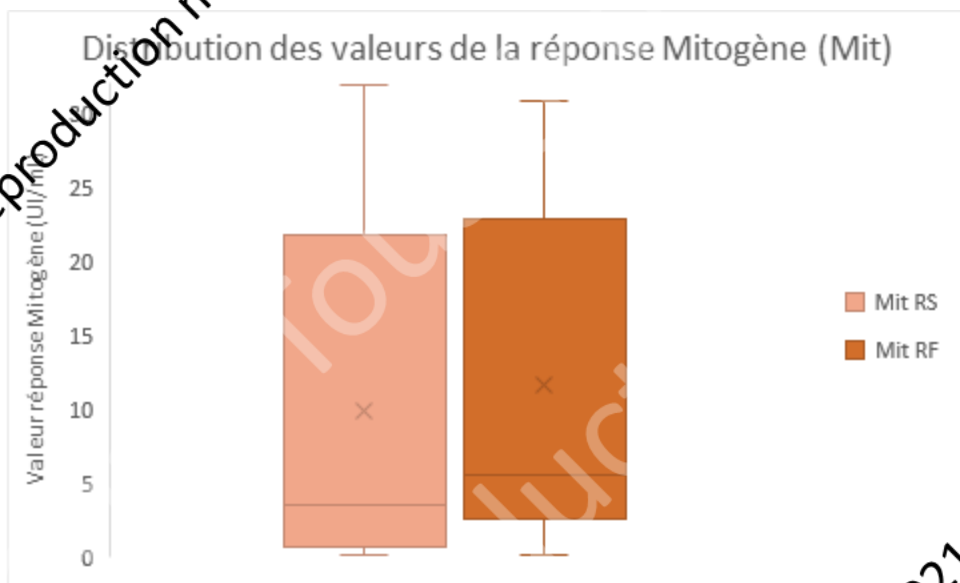
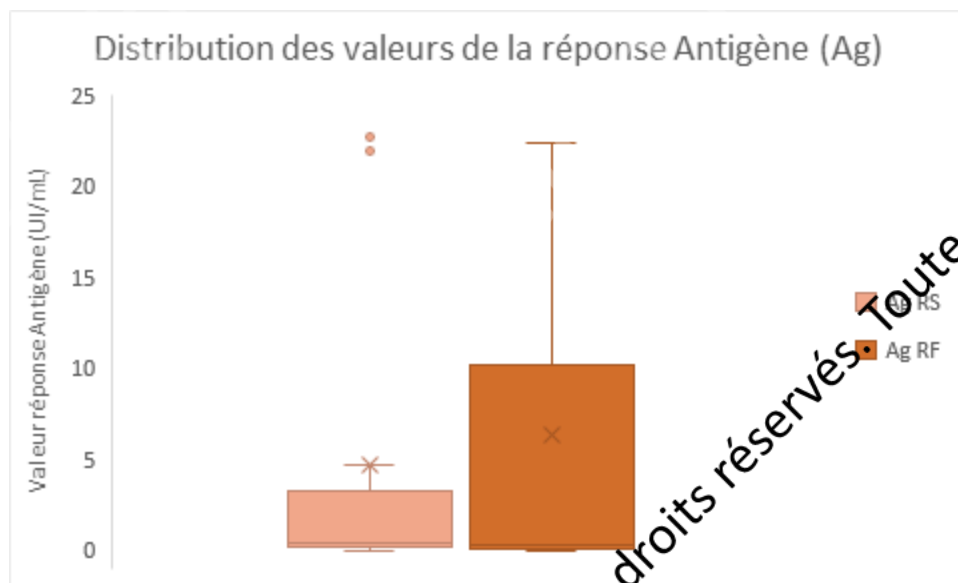
13/27 (48.1%) ⇒ 2 mois prophylaxie secondaire
62% récurrence

CMV CMI Interventional Study



positive CMV-cell-mediated immunity (CMI) (blue line-online version or gray line-print version) or negative CMI (red line-online version or black line-print version). Log-rank p-value = 0.001.

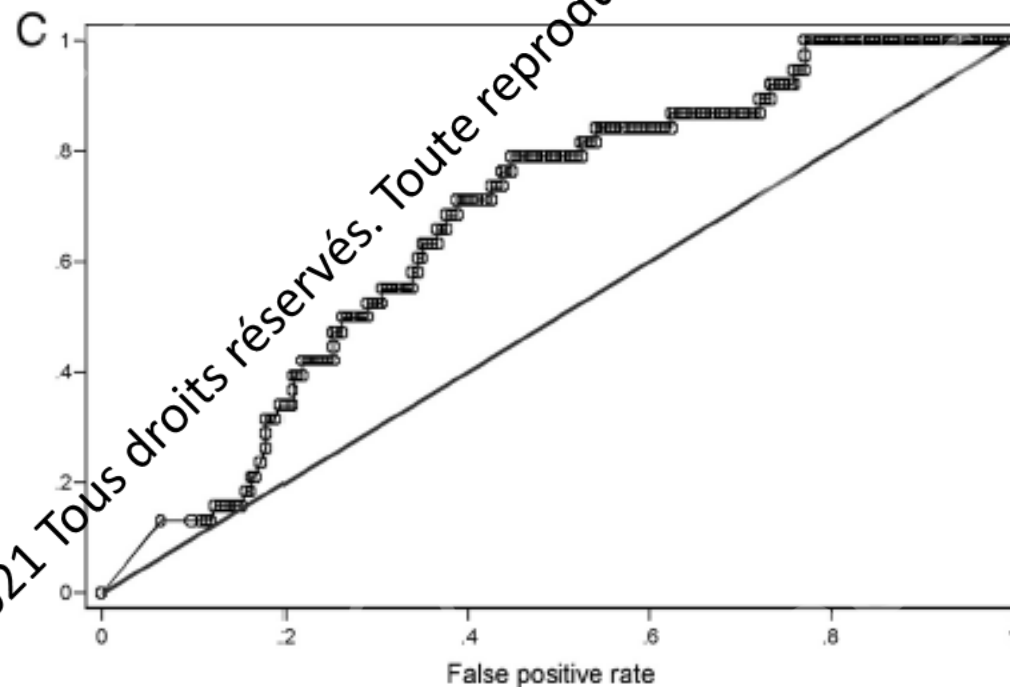
Quantiféron CMV et résistance en greffe rénale : deux profils différents



Données du CNR

Corrélation Elispot/QuantiFERON®-CMV et ADNémie chez 100 receveurs de rein séropositifs CMV

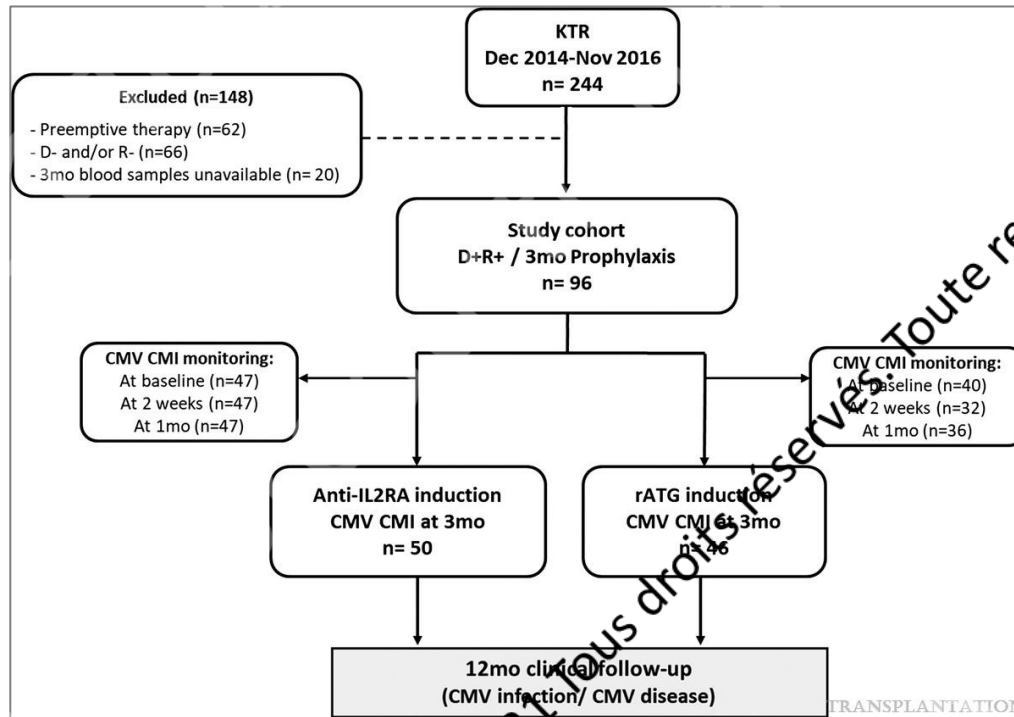
Corrélation inverse entre les deux tests et la survenue d'une ADNémie : $p < 0,01$



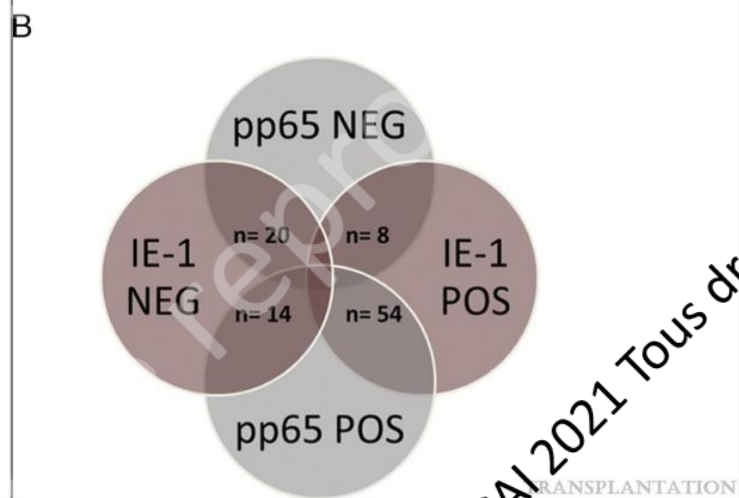
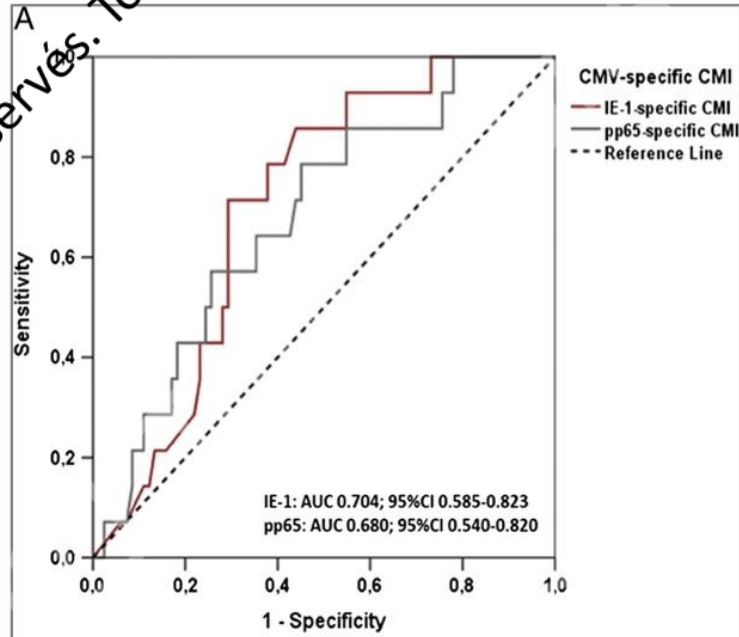


CMV-specific Cell-mediated Immunity at 3-month Prophylaxis Withdrawal Discriminates D+/R+ Kidney Transplants at Risk of Late-onset CMV Infection Regardless the Type of Induction Therapy

Marta Jarque, MS,¹ Edoardo Melilli, MD, PhD,² Elena Crespo, PhD,¹ Anna Manonelles, MD,² Nuria Montero, MD,² Joan Torras, MD, PhD,^{1,2} Josep M. Cruzado, MD, PhD,^{1,2} Sergi Luque, MS,¹ Salvador Gil-Vernet, MD,² Josep M. Grinyó, MD, PhD,^{1,2} and Oriol Bestard, MD, PhD^{1,2}



Tous droits réservés. Toute reproduction ou utilisation non autorisée sans la permission écrite de la Société Française de Transplantation est interdite.

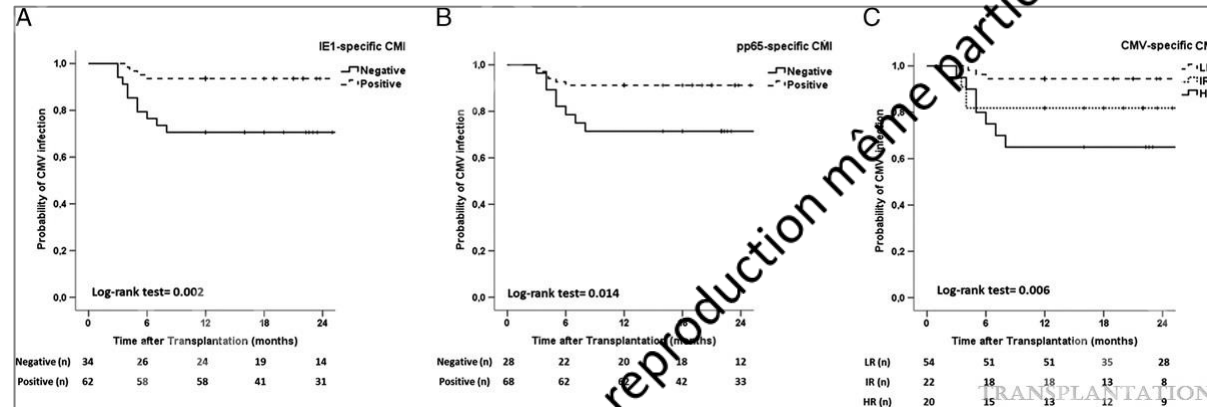


Predictive value for late-onset CMV infection by CMV CMI at month 3 post transplantation

Late-onset CMV infection	Sensitivity	Specificity	NPV	PPV
All patients of the study				
IE-1 CMI (25 IFN- γ spots)	71.4%	70.7%	93.5%	29.4%
pp65 CMI (130 IFN- γ spots)	57.1%	75.6%	91.2%	28.6%
rATG-treated patients				
IE-1 CMI (25 IFN- γ spots)	71.4%	69.2%	93.1%	29.4%
pp65 CMI (130 IFN- γ spots)	57.1%	79.5%	91.2%	33.3%
Anti-IL2RA-treated patients				
IE-1 CMI (25 IFN- γ spots)	71.4%	72.1%	93.9%	29.4%
pp65 CMI (130 IFN- γ spots)	57.1%	72.1%	91.2%	25.0%

Tous droits réservés. Toute reproduction ou utilisation non autorisée sans la permission écrite de la Société Française de Transplantation est interdite.

FIGURE 4



Kaplan-Meier analysis of late-onset CMV infection-free survival according to CMV-specific CMI. A, Cumulative incidence of late-onset CMV infection-free survival analysis between negative and positive IE-1 CMI patients. Patients with a negative IE-1-specific CMI were at significantly increased risk of developing late-onset CMV infection as compared to positive IE-1 CMI patients (Log-rank test = 0.002). B, Cumulative incidence of late-onset CMV infection-free survival analysis between negative and positive pp65 CMI patients. Patients with a negative pp65-specific CMI were at significantly increased risk of developing late-onset CMV infection as compared to positive pp65 CMI patients (Log-rank test = 0.014). C, Cumulative incidence of late-onset CMV infection-free survival analysis between HR, IR and LR CMI patients. HR CMI patients were at significantly increased risk of developing late-onset CMV infection as compared to IR and LR CMI patients (Log-rank test = 0.006).

IE1 serait le meilleur prédicteur en greffe rénale

[CMV-specific Cell-mediated Immunity at 3-month Prophylaxis Withdrawal Discriminates D+/R+ Kidney Transplants at Risk of Late-onset CMV Infection Regardless the Type of Induction Therapy](#)

Jarque, Marta; Melilli, Edoardo; Crespo, Elena; Manonelles, Anna; Montero, Nuria; Torras, Joan; Cruzado, Josep M.; Luque, Sergi; Gil-Vernet, Salvador; Grinyó, Josep M.; Bestard, Oriol

Transplantation102(11):e472-e480, November 2018.

doi: 10.1097/TP.0000000000002421

Variables predicting CMV infection	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	OR	95% CI	P	OR	95% CI	P
Previous transplants	0.953	0.261-4.161	0.953			
Mean TAC trough levels ^a	1.131	0.951-1.344	0.164			
Mean MMF total daily doses ^a	1.002	1.000-1.004	0.050	1.002	1.000-1.004	0.103
rATG induction (yes)	1.103	0.355-3.426	0.866			
BPAR	2.111	0.381-11.698	0.392			
DGF	1.614	0.486-5.360	0.435			
HR CMI (IE1-Neg/pp65-Neg)	5.308	1.593-17.686	0.007	4.629	1.180-15.877	0.027
IE-1 (Neg) ^b	6.042	1.725-21.158	0.005	5.554	1.486-20.766	0.011
Pp65 (Neg) ^b	4.133	1.280-13.349	0.018	3.022	0.865-10.554	0.083

Bold indicates statistical significance. ^a At the time of prophylaxis cessation.
^b Analysis adjusted for mean MMF total daily doses.
 Neg, negative; OR, odds ratio; pp65, 65 kDa phosphoprotein; TAC, tacrolimus.

TRANSPLANTATION

Univariate and multivariate primary logistic regression analyses for CMV infection

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Mesure ou suivi de la Charge virale TTV par trousses PCR Standardisée

Plutôt un marqueur de rejet qu'un marqueur d'infection ?

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

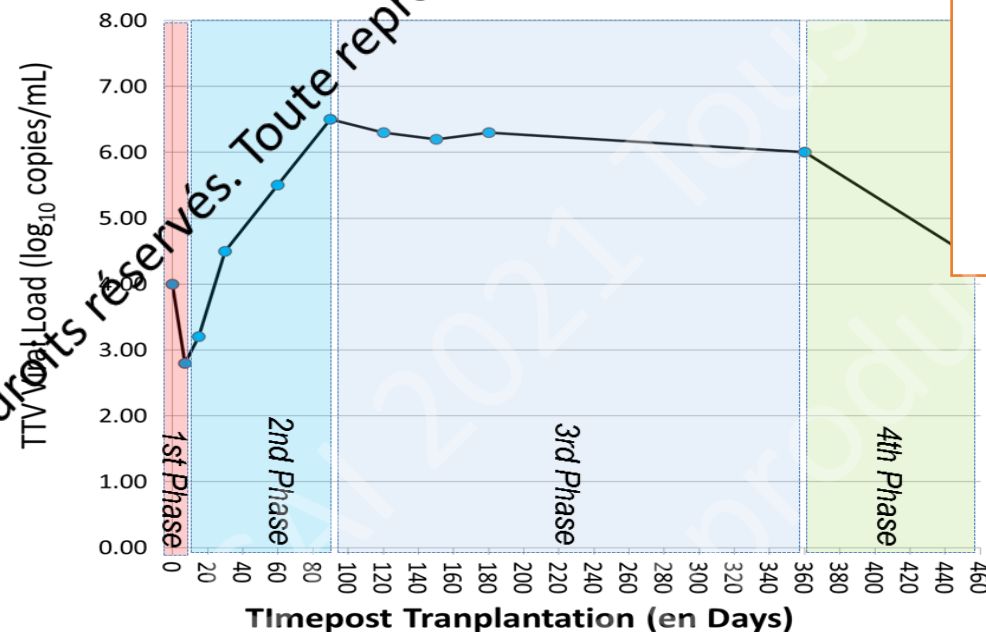
© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Cinétiques de charge virale TTV en transplantation d'organe :

- 4 phases (adapte Maggi et al. ESCV 2017)
 - ≈15 j post-transplantation: diminution
 - ≈15 j-3 mois post-transplantation: augmentation de charge virale 3 à 6-7 log₁₀ copies / mL (rein), 9-10 log₁₀ copies / mL (poumon).
 - ≈3 mois- 1 an post-transplantation: stabilisation
 - >1 an post-transplantation: diminution et retour au niveau basal

TTV : Un outil pour
ajuster
l'immunosuppression?

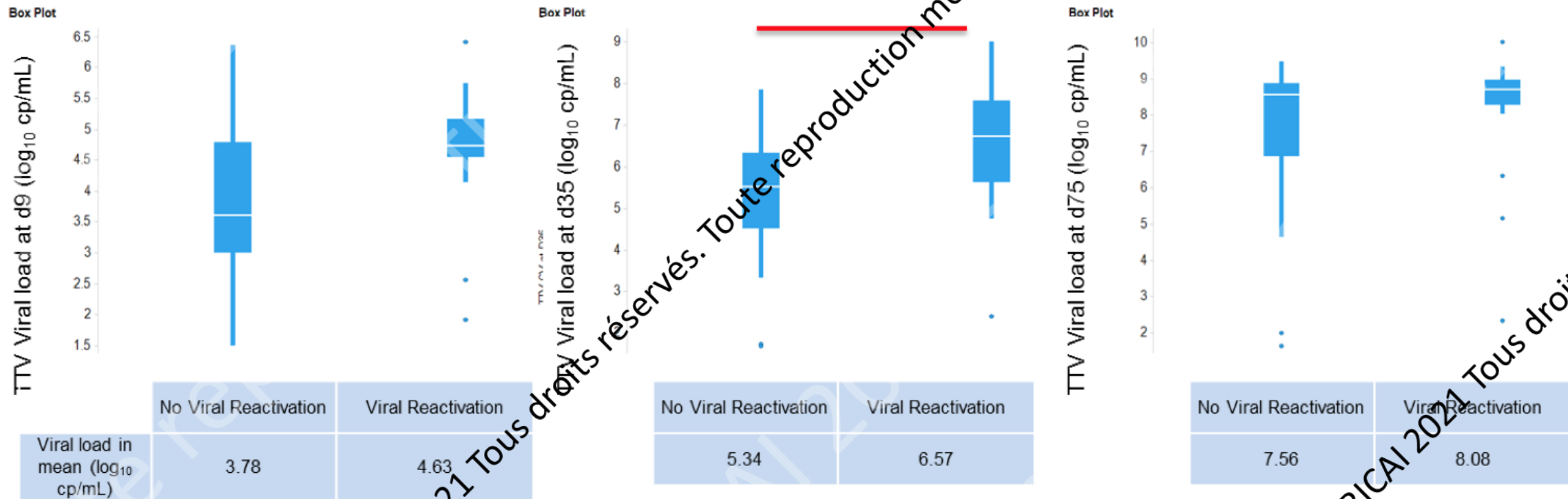
Quel seuil?
Quelle cinétique?



4e Phase :
Reconstitution immunitaire
fonctionnelle

TTV Viral load Kinetic in SOT transplanted patients
(Adapted from Maggi et al, Oral Communication ESCV 2017)

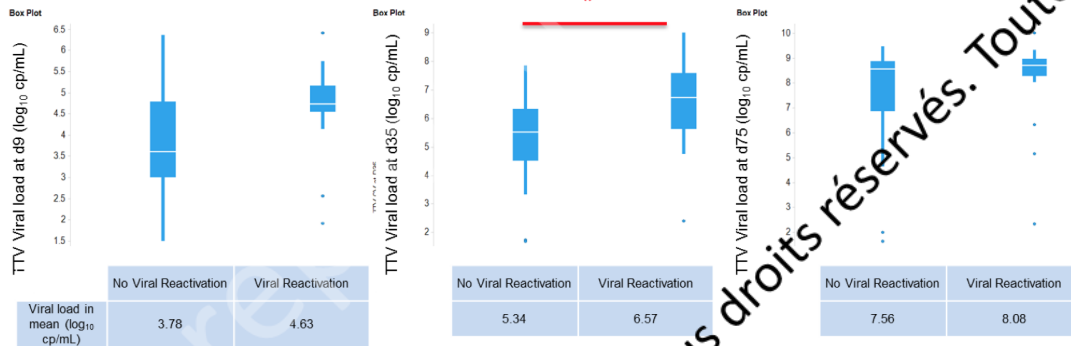
La charge virale TTV précoce pourrait être un marqueur prédictif d'infection dans l'année (EBV, BKV ou CMV, > 3log copies/mL)



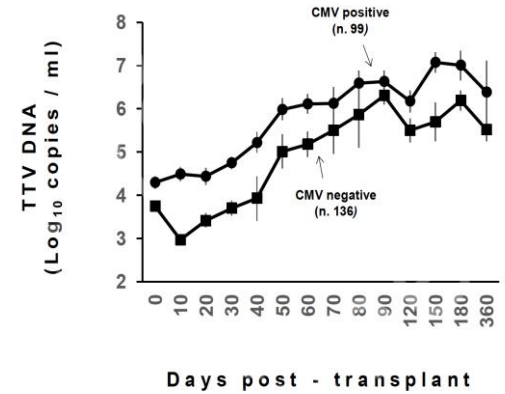
At d35, TTV VL was significantly different (p=0.0277) between reactivating patient and not reactivating patient

Cinétique J0-J20 ou M1 pourrait être prédictive d'infection

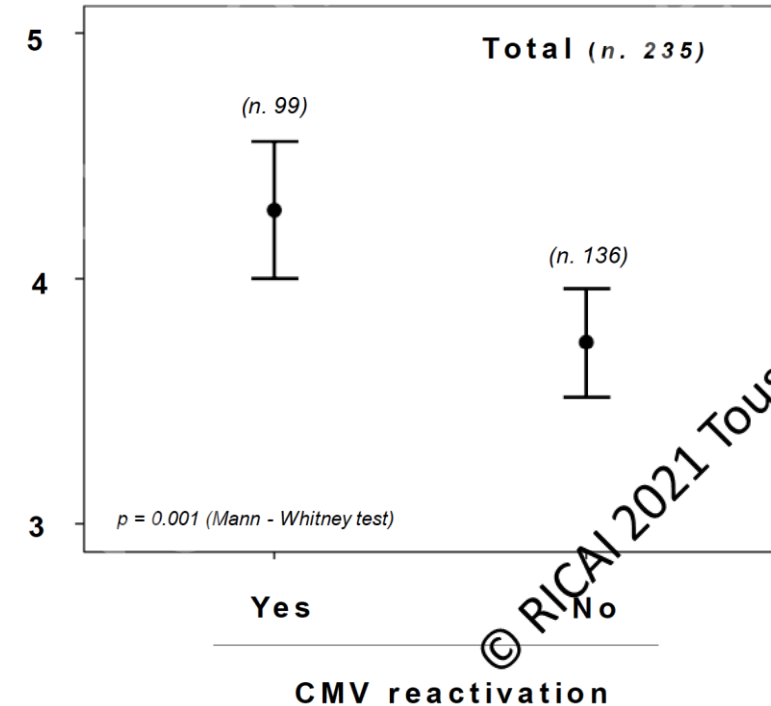
M1-J0 >3logs est prédictif d'une infection virale dans l'année (CMV ou EBV, ou BKV)



Kulifaje et al. Jclin Virol., 2018



TTV DNA at 0-10 days post-transplant (Log copies / ml 95% CI)

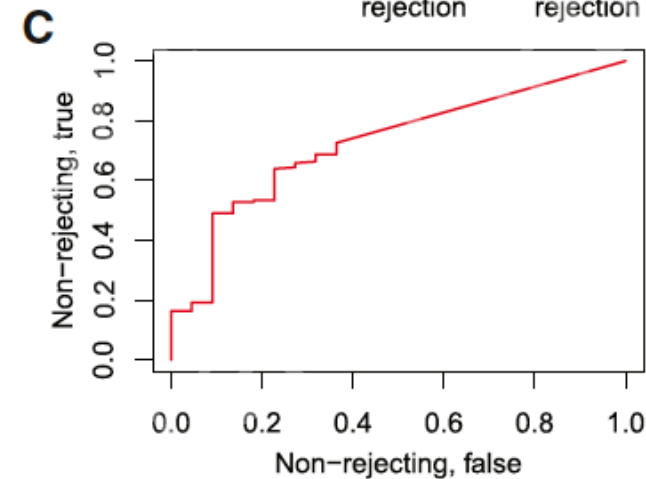
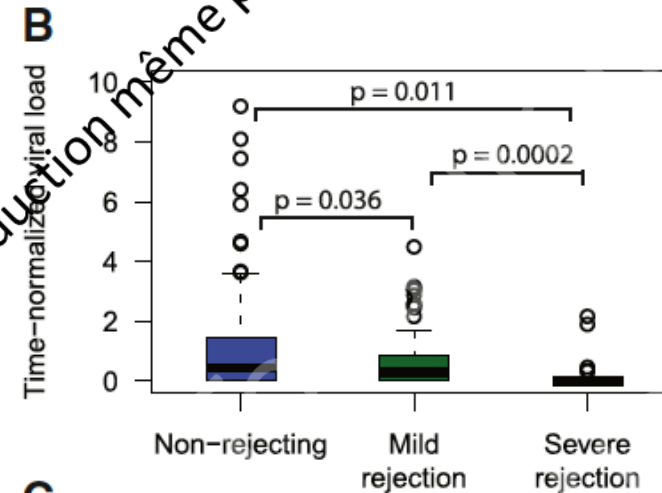
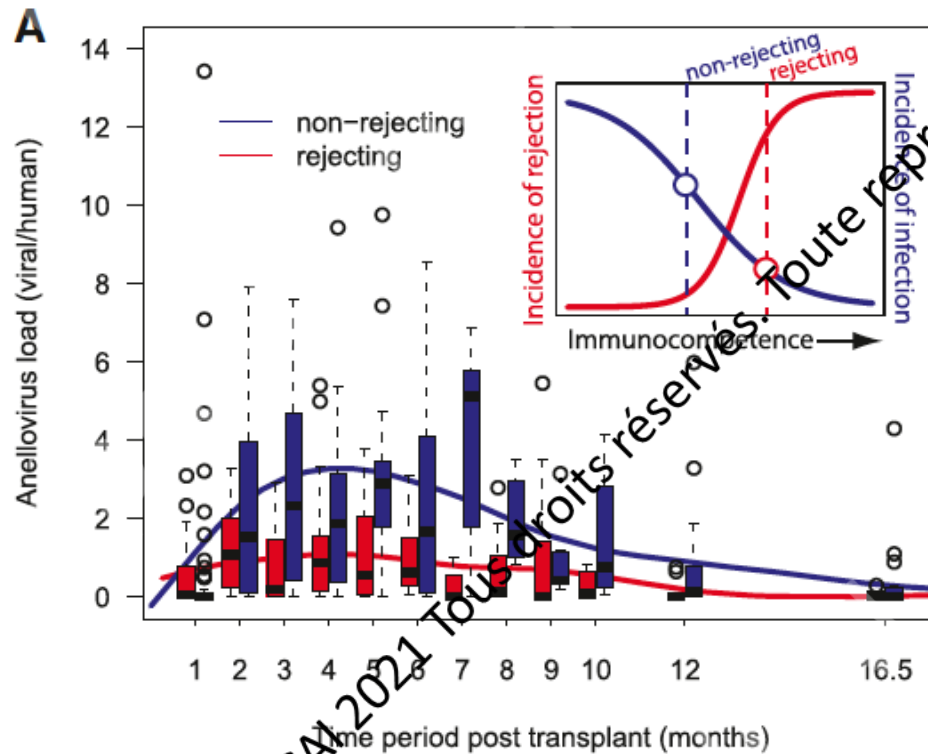


Maggi et al., J clin Virol 2019

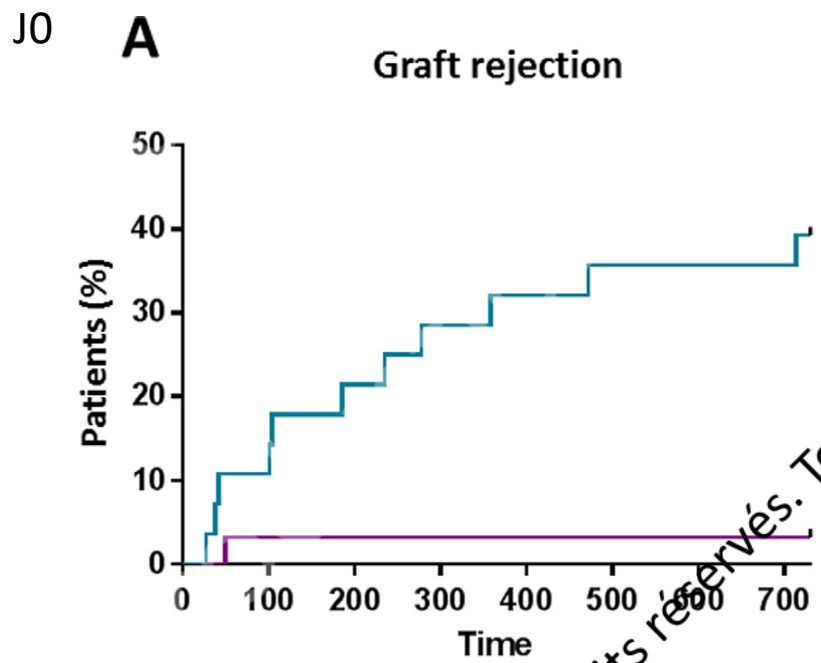
Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

La charge virale TTV est plutôt un marqueur de risque de rejet

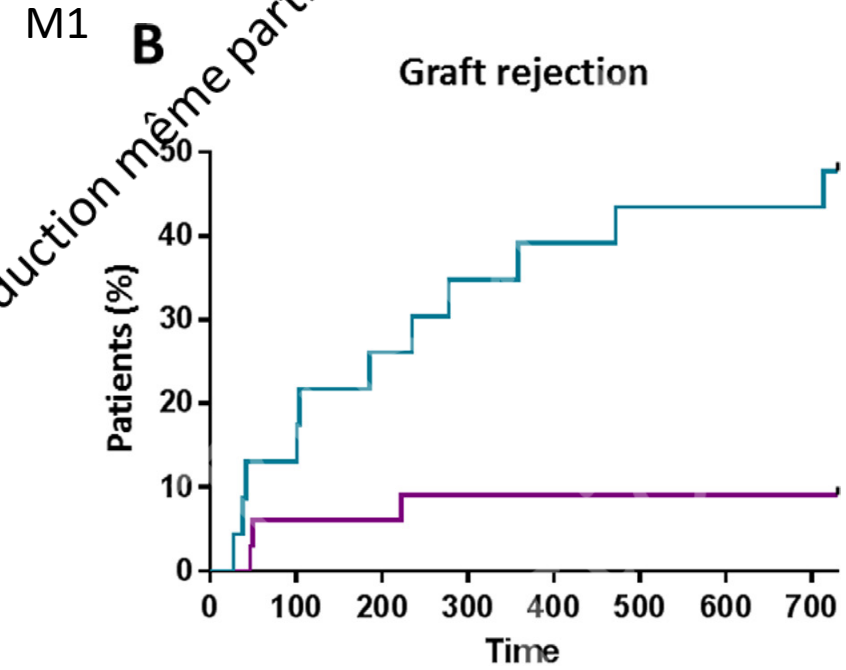


Charge virale TTV dans le plasma et rejet: quel cut-off?



TTV < 3,4 log ₁₀ cp/ml	28	25	22	20	19	18	18	17
TTV > 3,4 log ₁₀ cp/ml	31	30	30	30	30	30	30	30

— TTV load < 3,4 log₁₀ copies/ml
 — TTV load > 3,4 log₁₀ copies/ml



TTV < 4,2 log ₁₀ cp/ml	23	20	17	15	14	13	13	12
TTV > 4,2 log ₁₀ cp/ml	33	31	31	30	30	30	30	30

— TTV load < 4.2 log₁₀ copies/ml
 — TTV load > 4.2 log₁₀ copies/ml

TTV et rejet suivre l'augmentation de la charge virale

- **Schiemann et al. 2017:** Cross sectional study AMR vs CV TTV Chez 715 receveurs de rein
 - Augmentation du risque de rejet RR 0.94 par log TTV (95% confidence interval 0.90-0.99; P=0.02).
- **Ruiz et al. 2018:** Prospective follow-up.
 - TTV viral load at baseline is the only marker after multivariate analysis (adjusted HR per 1 log₁₀ copies/mL increase 0,69 (0,49-0,97 95% CI), p value 0,030)
- **Solis et al. 2018: suivi 72 greffés rénaux:** TTV load at baseline threshold **3,4 logs** and at M1 threshold **4,2** log copies/mL plasma
 - Corrélation avec taux de Lymphocytes TCD8, pas avec le TT Immunosuppresseur, ni la survenue d'infection
- **Doberer et al., 2020:** 318 receveurs de rein suivis 12 mois en charge virale TTV Analyse à M3 : Charge virale optimale 1x10^{E6}-1x10^{E8} copies/mL de plasma
 - Chaque log au dessus diminue le risque de rejet de 22% (odds ratio [OR] 0.78, 95% confidence interval [CI] 0.62-0.97; P = .027) et augmente le risque d'infection de 11% (OR 1.11, 95% CI 1.06-1.15; P < .001)

Conclusion comment utiliser ces tests aujourd'hui?

- ❖ Deux marqueurs d'exploration immunitaire standardisés sont désormais aisément accessibles le quantiféron CMV et la charge virale TTV
- ❖ La charge virale TTV est un marqueur de rejet plutôt qu'un marqueur d'infection
 - ❖ Elle est corrélée dès la greffe mais aussi à M1, M3 au risque de rejet
 - ❖ Une CV TTV à M3 entre 6 et 8 logs pourrait être une cible pour « régler » le niveau d'immunosuppression (étude interventionnelle en cours)
 - ❖ La CV TTV est essentiellement liée à la fonctionnalité des lymphocytes T CD8
- ❖ Les tests mesurant l'immunité cellulaire sont corrélés à la survenue d'une infection à CMV cliniquement significative et pourraient être utilisés pour décider de prolonger un traitement ou d'instaurer une prophylaxie secondaire
- ❖ L'Elispot et le quantiféron ont fait l'objet d'études interventionnelles mais les résultats doivent être analysés pour chaque organe
- ❖ La combinaison d'un test mesurant l'immunité cellulaire et de la charge virale TTV permettrait d'adapter au mieux l'immunosuppression et traitement .

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

**UMR-S 1092,
Univ Limoges**

**CNR Herpesvirus,
CHU Limoges**



© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.