

IMMUNOFIL

immuno-monitoring des infections à champignons filamenteux

Alexandra Serris

Service de maladies infectieuses

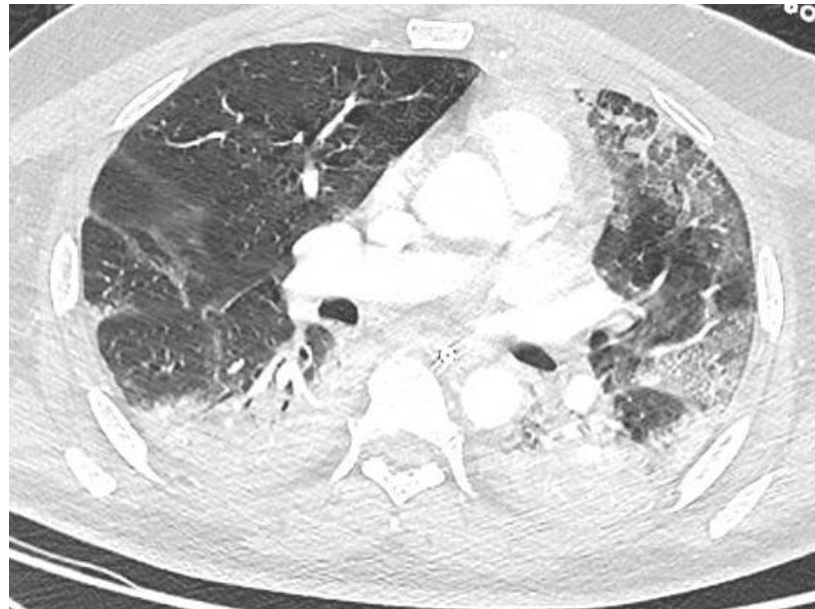
Hôpital Necker-enfants malades

Comité scientifique :

F. Lanternier, G. Martin-Blondel, O. Lambotte, A Ouedrani, E. Tartour, V. Aimanianda Bopaiah

Patient de 52 ans, diabétique

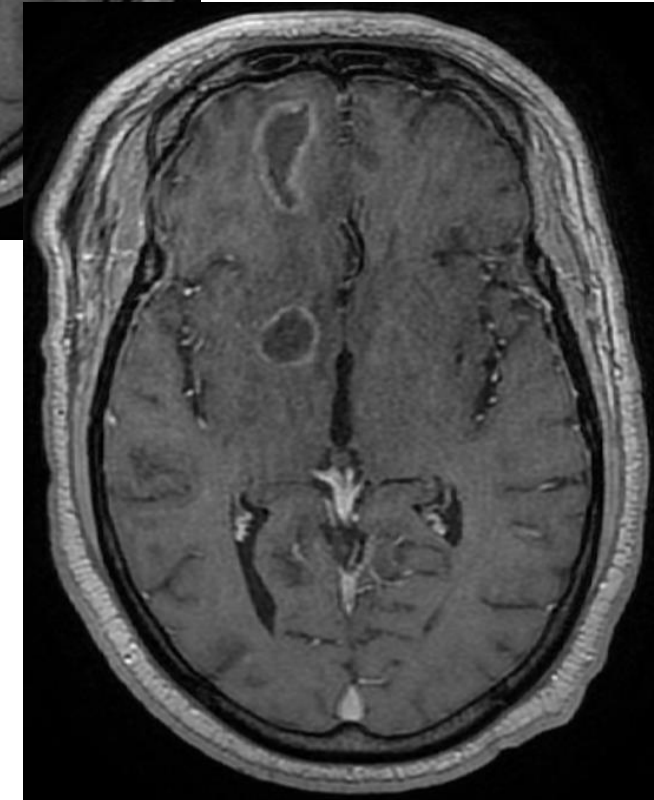
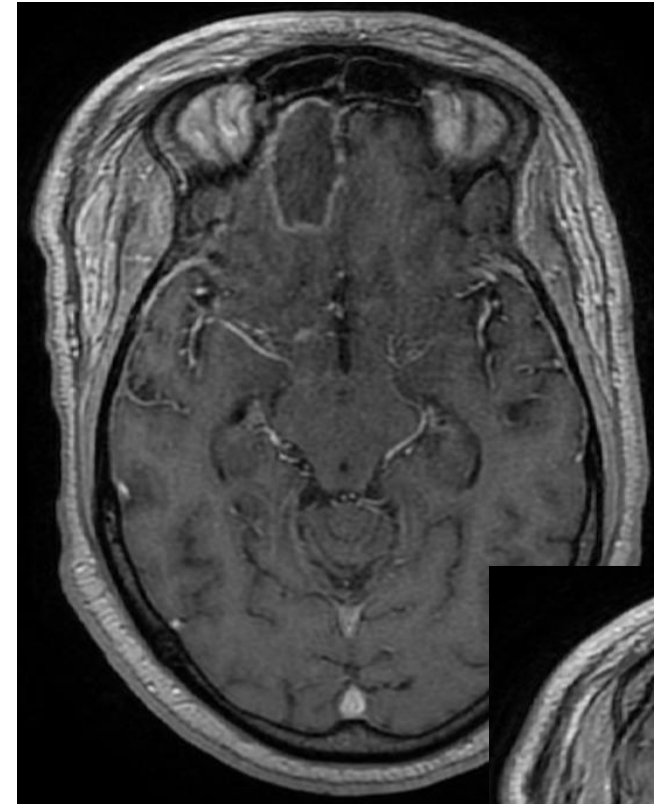
- Hospitalisé en réanimation pour COVID grave
- IOT à l'arrivée
- Traitement par corticoïdes et anti-IL6
- A J5 : dégradation respiratoire



- LBA : présence d'*Aspergillus flavus* à la culture; galactomannane : 5,9
- Galactomannane sérique : 1,9

- Extubation un mois plus tard
- IRM cérébrale devant retard de réveil
- PCR *Rhizopus* sang positive
- Chirurgie ORL :
 - nécrose du cornet moyen, de la fente olfactive droite et de la bulle ethmoïdale
 - Lyse osseuse de tous les os de la base du crâne
 - Résections des tissus nécrosés et drainage transethmoïdal de l'abcès frontal : 4 prélèvements/4 positifs à *Rhizopus sp.* (en culture et PCR)

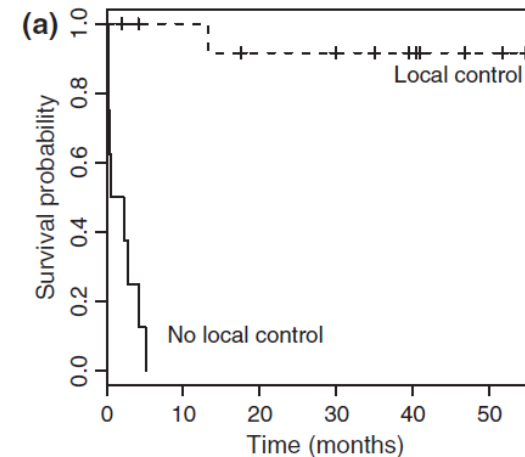
➤ Switch pour Amphotéricine B liposomale et isavuconazole



Peut-on faire quelque chose de plus ?

- Importante mortalité associées aux IFI à champignons filamenteux (aspergilloses, mucormycoses, scedosporioses, fusarioses) : 40-60%, voire 60-80% en cas d'atteinte cérébrale

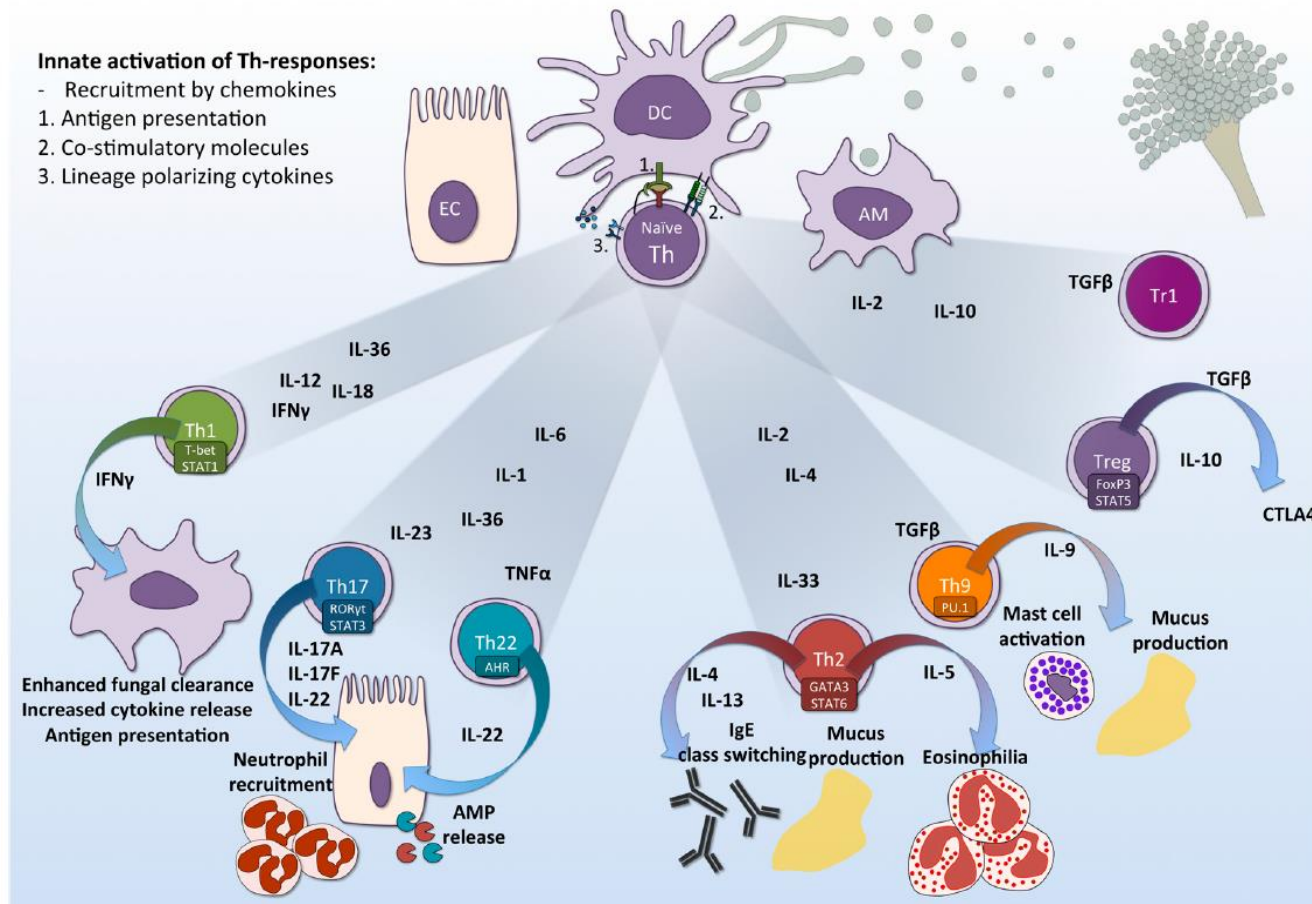
- Arsenal thérapeutique limité :
 - toxicité des antifongiques
 - multiples interactions médicamenteuses
 - émergence de résistances



Vironneau et al., CMI, 2013

- Les IFI survenant majoritairement chez des patients immunodéprimés, peut-on améliorer le pronostic de ces patients en restaurant une réponse immunitaire adaptée et efficace ?

Défenses immunitaires anti-fongiques



- Clairance des hyphes par les neutrophiles et macrophages
- Activation de l'immunité adaptative par les cellules dendritiques
- La polarisation des LT helper façonne la réponse immunitaire :
 - Th1 : stimulation de la phagocytose par les macrophages
 - Th17 : activation des PNN et cellules épithéliales (production de peptides antifongiques)
 - Th2 : allergie/persistance fongique
 - Treg : résolution de l'inflammation, inhibition voies Th17 et Th2, induction d'une mémoire immunitaire ?

Importance de la voie Th1 et Th17

- Meilleur pronostic, au cours d'une AI, chez des patients d'hématologie, associé à :
 - La présence de LT spécifiques d'*Aspergillus* dirigés contre des antigènes de paroi
 - Un ratio IFN γ /IL-10 élevé
- Présence de LT spécifiques sécrétant de l'IFN γ et de l'IL-17 également montrée dans les mucormycoses et les fusarioses

Rôle des NK et des LB

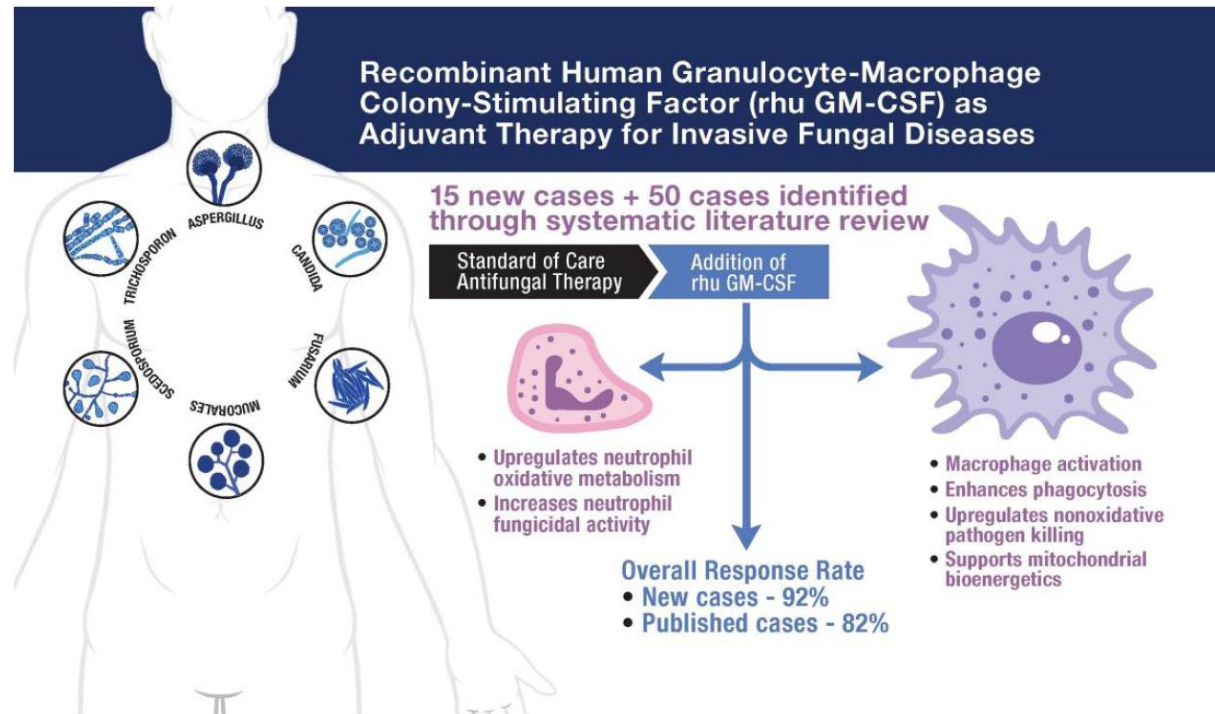
- **Lymphocytes NK**

- Production d'IFN γ
- Inhibition de la croissance du cryptocoque et de l'aspergillus *in vitro*
- Augmentation de la survie après « transfert adoptif » de cellules NK dans un modèle murin de cryptococcose

- **Lymphocytes B**

- Inhibition de l'adhérence et de la germination, neutralisation de toxines, opsonisation et ADCC, activation du complément
- Efficacité *in vitro* (inhibition du développement des hyphes) et *in vivo* (augmentation de la survie dans un modèle murin d'aspergillose invasive) d'un anticorps monoclonal
- vaccin contenant du β -D-glucane : induction d'une protection contre la cryptococcose et l'aspergillose invasive dans un modèle murin (et transfert de la protection par perfusion de sérum)

Stimuler l'immunité innée



- GM-CSF en prophylaxie des IFI post-allogreffe vs G-CSF :
 - Pas de diminution de l'incidence des IFI
 - Mais meilleure réponse au traitement et diminution de la mortalité

Stimuler l'immunité adaptative

- **Administration d'IFN γ**

- favorise la polarisation des lymphocytes T CD4+ naïfs vers la voie Th1 et améliore l'activité fongicide des neutrophiles *in vitro*
- Chez 6 transplantés rénaux : aspergillose, phaeohyphomycose, candidose. NB : pas d'induction de rejet
- Chez 8 patients, terrain varié (leucémie aigue, sarcoïdose, cancer solide), aspergillose et candidose : augmentation de la production d'IL-17, IL-22, expression HLA-DR
- Autres séries : VIH, leucémies aigues, CGD...

- **Transfusion post-allogreffe de LT CD4 spécifiques d'*Aspergillus*** issus du donneur pour le traitement d'une AI

- Producteurs d'IFN γ
- Mortalité : 1/10 (10%) vs 6/13 (46%) pour le groupe contrôle (p : 0,06)

Armstrong-James et al. American Journal of Transplantation, 2010

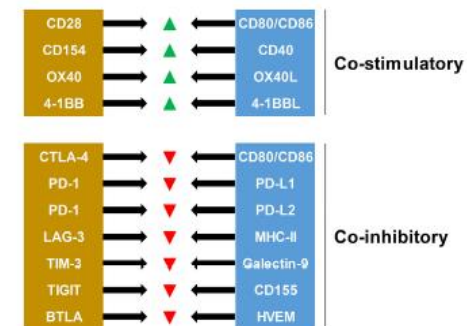
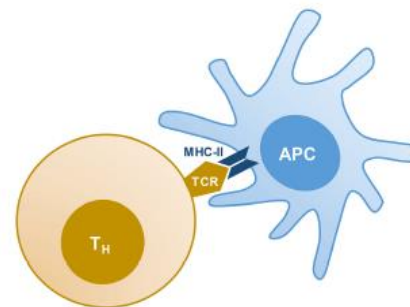
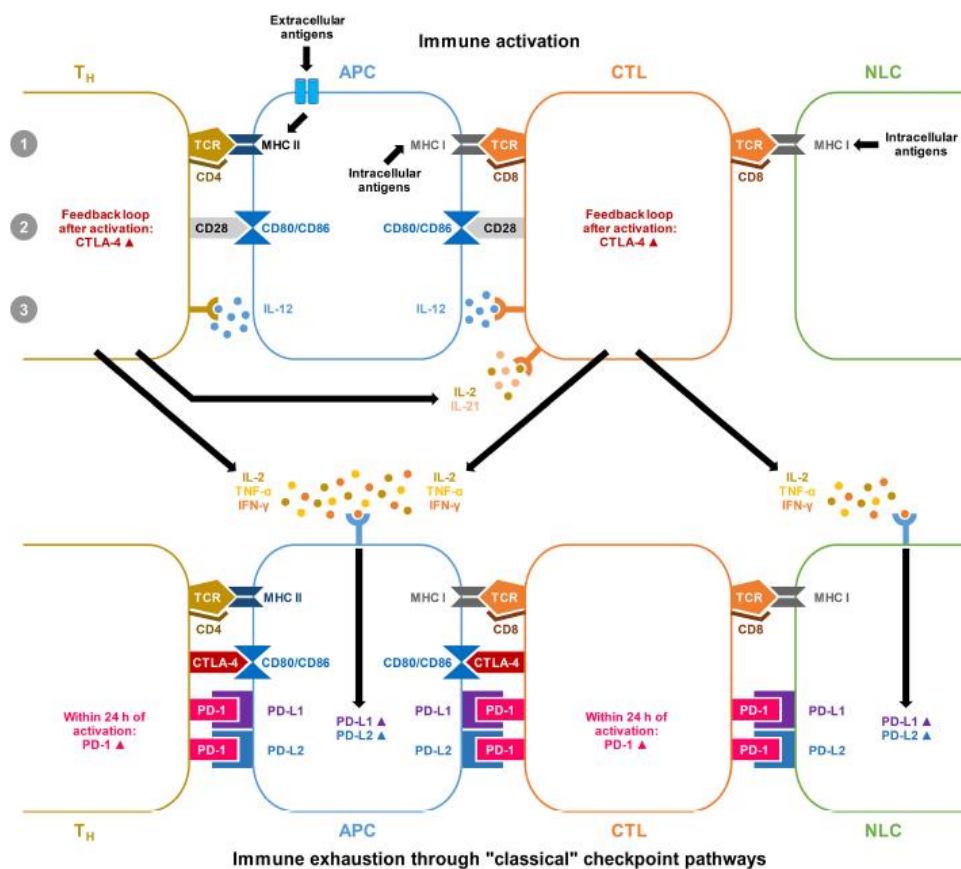
Delsing et al. BMC Infectious Diseases 2014

Perruccio, et al., transplantation 2005

L'« épuisement » lymphocytaire

- Détérioration fonctionnelle des lymphocytes (LT et NK) après exposition prolongée à des antigènes et/ou à des signaux inflammatoires
 - diminution de la production d'interleukines pro-inflammatoires
 - réduction des capacités prolifératives et cytotoxiques des LT
- Associée à l'expression de molécules appelées checkpoint immunitaires telles que PD-1 et CTLA-4
- Réversion par blocage des checkpoints immunitaires
 - En oncologie
 - En maladies infectieuses : JC virus, VHB, VIH...

L'« épuisement » lymphocytaire



Équilibre entre stimuli de co-activation et de co-inhibition :

- Résolution des infections
- Tolérance /inhibition de l'auto-immunité

Survenue d'un état d'épuisement lymphocytaire au cours des IFI

Candida

- Augmentation des marqueurs d'épuisement lymphocytaires (PD-1) sur les LT circulants chez les patients candidémiques vs patients hospitalisés en réanimation pour trauma ou chirurgie sans signe de sepsis bactérien ou fongique
- Corrélation entre la mortalité et l'expression de certains marqueurs d'épuisement tel que PD-1 et TIM-3 chez des patients candidémiques

Mucorale

- Comparaison mucormycose associée ou non au COVID : plus importante expression des marqueurs d'exhaustion (PD-1, LAG-3, TIM-3) chez les patients non COVID (et plus importante mortalité)

Survenue d'un état d'épuisement lymphocytaire au cours des IFI

Pneumocystose

- Augmentation de l'expression de PD-1 à la surface des LT CD4 et CD8 jusqu'à 6 semaines après l'infection

Champignons dimorphiques

- Paracoccidioidomycosis : augmentation de l'expression de CTLA-4 et diminution des capacités lymphoprolifératives des LT issus de patients
- Histoplasma capsulatum (modèle murin)

Cryptocoque, *Aspergillus*...

Survenue d'un état d'épuisement lymphocytaire au cours des IFI

Un effet direct du champignon sur la réponse immunitaire

- Stimulation de l'expression de PD1 sur les cellules dendritiques exposées au β Dglucane *in vitro*, favorisant la polarisation des LT vers des Treg CD4+CD25+FoxP3+
- Inhibition de la production d'IFN γ des NK exposés à des spores aspergillaires *in vitro*

Administration d'inhibiteurs de checkpoint immunitaires dans les IFI

Chez l'animal

- Modèles murins d'aspergillose invasive, de mucormycose pulmonaire, candidémie, cryptococcose, histoplasmosis
- Administration répétée d'anticorps anti-PD1 (ou anti-PDL-1) associée à une meilleure survie des animaux infectés
- Augmentation de la production d'IFN γ , de CD68 et diminution de la production d'IL10

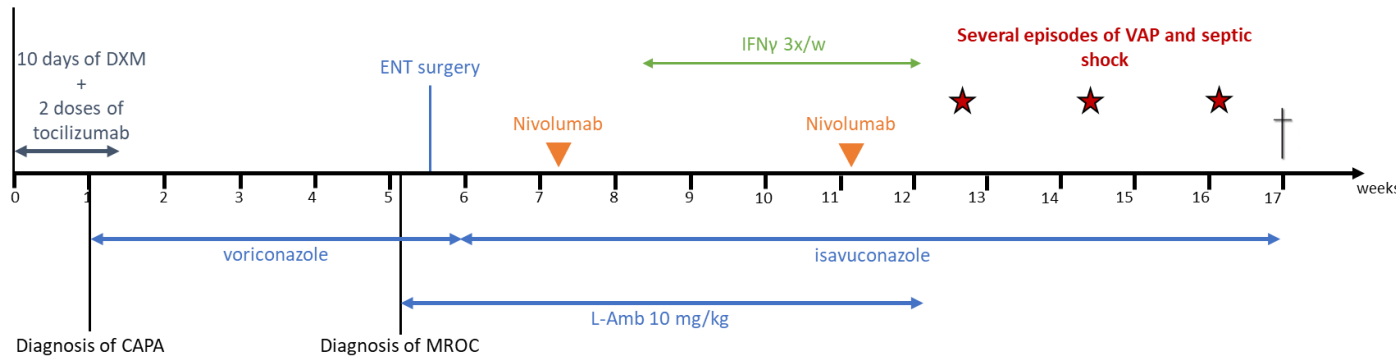
Administration d'inhibiteurs de checkpoint immunitaires dans les IFI

Chez l'homme : 2 case reports

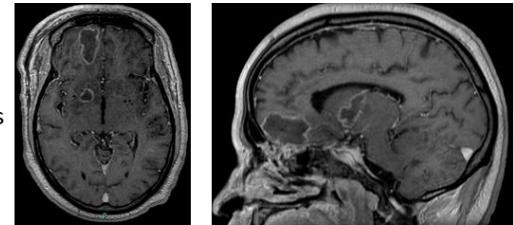
- *Grimaldi et al.* : patiente immunocompétente, mucormycose digestive suite aux attentats de Bruxelles en mars 2016
- *Banck et al.* : rechute d'une leucémie aigüe post allogreffe, co-infection *Aspergillus* et *Mucorale* sinusienne avec envahissement orbitaire
- Échec du traitement antifongique +/- débridement chirurgical
- Administration d'anticorps anti-PD1 associée à des injections d'IFN γ

Pour notre patient

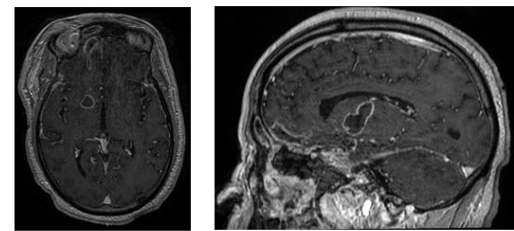
Admission in ICU for COVID in the context of diabetic acido-cetosis



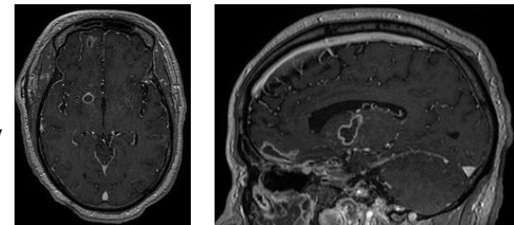
At MROC diagnosis



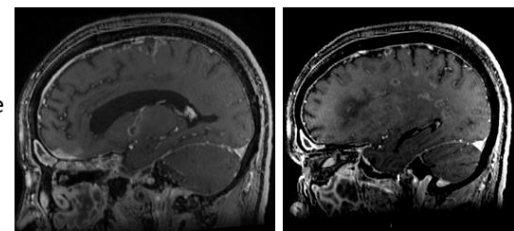
After 10 days of anti-fungal therapy with L-Amb



After two weeks of adjuvant immunotherapy



One month after the stop of adjuvant immunotherapy



	At ICU admission	At week 1 (CAPA diagnosis)	At week 2	At week 5 (ROCM diagnosis)	At week 7	At week 9	at week 11	At week 13	At week 14	At week 15
<i>Mucorales</i> PCR	ND	ND	ND	Positive	ND	negative	negative	negative	negative	negative
Galactomannan	ND	1,97	1,21	ND	1,95	1,09	0,47	0,85	0,59	0,31

Depuis..

Chez l'homme : 2 nouveaux case reports

- *Lukaszewick et al* : patiente immunocompétente, fasciite nécrosante polymicrobienne (Enterococque, multiple bactéries gram-négative, *Aspergillus* spp., *L. ramosa*, and *Rhizopus arrhizus*).
- *Khatamzas et al.* : leucémie myéloïde aigue, fusariose à *F. Solani* disséminée
NB : survenue d'une insuffisance surrénalienne (EI ICI?)

Questions en suspend

- Impact du terrain sous-jacent ?
- Pour quelles IFI ?
- Timing ?
- Risque d'EI des ICI ?

Le projet

Comité scientifique :

F. Lanternier, G. Martin-Blondel, O. Lambotte, A Ouedrani, E. Tartour, V. Aimanianda Bopaiah



Objectif



Identifier parmi les patients pris en charge pour une IFI à champignon filamenteux ceux qui pourraient bénéficier d'un traitement immunomodulateur

- au diagnostic ou au stade d'infection réfractaire
- en mesurant longitudinalement :
 - l'expression d'un panel de molécules de checkpoint immunitaire dans des populations lymphocytaires T circulantes
 - la capacité des LT spécifiques à produire des cytokines Th1, Th2, Th17 et à proliférer après stimulation antigénique

quelque soit le terrain sous-jacent

Plan expérimental

- Étude prospective de cohorte multicentrique incluant 6 centres AP-HP (Hôpitaux Necker, Bichat, St Louis, Pitié, Henri Mondor, Lariboisière) et 2 centres hors AP-HP : CHU Toulouse et CHU Lyon
- Population étudiée
 - Age > 18 ans
 - Infection fongique invasive à champignon filamenteux : Aspergillus, Mucorales, Fusarium, Scedosporium (critères EORTC/MGS 2019 modifiés)
 - Au diagnostic ou au stade d'infection réfractaire
 - Quelque soit le terrain sous-jacent
- Critères de non inclusion
 - Lymphopénie < 0.5 G/L
 - Co-infection bactérienne dans les 15 jours précédents
 - Patient ayant déjà reçu des anticorps anti-PD1

Plan expérimental

- 1^{er} prélèvement à l'inclusion, puis à 3 semaines et à 6 semaines
- Analyse phénotypique des sous-populations T circulantes par cytométrie en flux :
 - expression des marqueurs de surface CD27, CD28, CD45RA, CCR7, CD127, CD25, CD38, HLA-DR, Ki67 et CD57, ainsi que du facteur de transcription intra-cellulaire TCF1 (marqueur prédictif de la réponse aux anticorps anti-PD1 ?)
 - expression de PD1, CTLA4, TIM-3, LAG-3, TIGIT
- FLUOROSPOT IFN- γ /IL-2/IL-5/IL-17 *Aspergillus* et *Mucorale* avec et sans présence d'anticorps anti-PD1 *in vitro*.
- Immunophénotypage des monocytes circulants avec mesure de l'expression PD-L1 et LILRs.

Calendrier prévisionnel



- Financement par CRC : 20 patients
- Recherche d'autres sources de financement en cours...
- 1^{ères} inclusions mi-2023 ?



Merci pour
votre attention !

