



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2022

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE LA PROPHYLAXIE REPOSANT SUR LE
QUANTIFERON®-CMV CHEZ LE PATIENT TRANSPLANTÉ
CARDIAQUE**

Présentée et soutenue publiquement le 18/03/2022 à 16h
au Pôle Formation
par **Kévin SERMET**

JURY

Présidente :

Madame la Professeure Karine FAURE

Assesseures :

Madame la Professeure Sophie ALAIN

Madame la Docteure Céline GOEMINNE

Madame la Docteure Fanny VUOTTO

Directrice de thèse :

Madame la Docteure Fanny VUOTTO

**Travail des Services de Maladies Infectieuses & de Greffe Cardiaque –
CHU de LILLE**

AVERTISSEMENT

La faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

LIENS D'INTERÊT

Le candidat et la Directrice de thèse déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec le travail présenté.

REMERCIEMENTS

INTRODUCTION GENERALE

I. Cytomégalovirus en Transplantation d'Organe Solide

Le cytomégalovirus (CMV) est hautement prévalent dans la population, et est responsable d'infections souvent complexes chez le patient immunodéprimé, justifiant un traitement antiviral spécifique. Le patient transplanté d'organe solide (TOS) présente une immunodépression au long cours de par la prise d'anti-rejets incluant un anti-calcineurine (tacrolimus), un corticoïde (prednisone) et un anti-prolifératif (mycophénolate mofétil - MMF- ou everolimus). Les patients transplantés cardiaques sont, parmi les TOS, les plus à risque d'infections à CMV du fait de la lourdeur du régime immunosuppresseur en termes de durée et posologies.

1. Survenue et traitement de l'infection à CMV

Chez le TOS, l'infection est définie par la présence du CMV (le plus souvent attestée par PCR), tissulaire ou dans un liquide biologique¹. Elle peut survenir dans le cas d'une primo-infection, d'une transmission par l'organe transplanté, ou d'une réactivation. Elle peut être asymptomatique ou s'accompagner de signes cliniques ou biologiques, caractérisant alors la maladie à CMV. Une infection à CMV peut survenir de manière spontanée ou compliquer un épisode d'infection bactérienne, virale ou fongique. En l'absence de prophylaxie primaire, près de 45% des transplantés cardiaques vont présenter une maladie à CMV.² Après un épisode, 30% des patients vont présenter une récurrence en l'absence de prophylaxie secondaire^{3,4}, ce qui justifie sa prescription par de nombreuses équipes.⁵ De plus, une résistance aux anti-viraux disponibles peut survenir lors de traitements prolongés ou répétés.⁶⁻⁸ Le traitement d'une infection à CMV

chez un greffé cardiaque comprend en général l'allègement temporaire des immunosuppresseurs (s'il est possible) mais sans recommandation plus spécifique, et un traitement anti-viral direct. L'arsenal anti-CMV curatif est limité et comprend essentiellement : en premier lieu le ganciclovir intraveineux (GCV) ou le valganciclovir per os (VGCV), puis le foscavir intra-veineux en cas d'infection réfractaire ou résistante.⁹

2. Effets directs et indirects du CMV chez le patient TOS

Chez le patient TOS, les atteintes d'organe par effet direct du CMV incluent, entre autres, cytopénies, entérocolite et oeso-gastrite, pneumopathie, néphrite interstitielle, hépatite,⁴ et plus rarement, encéphalite, myélite, rétinite, ou encore myocardite.¹⁰

Il existe de nombreux effets indirects du CMV, en partie liés à ses propriétés immunomodulatrices, responsables d'une morbi-mortalité indirecte (de façon plus débattue toutefois). Ils comprennent le rejet de l'organe transplanté¹¹⁻¹⁴ ou la survenue d'une autre infection, par exemple fongique.¹⁵ Or ces deux types de complications sont les deux premières causes de décès du patient transplanté cardiaque.¹⁶ En effet, les thérapies de suppléance cardiaque (comme l'assistance ventriculaire) lors d'un rejet sont limitées en termes d'accès et de performance (en comparaison à la dialyse en greffe rénale) malgré une amélioration ces dernières années^{17,18}. D'autre part, les infections en général (notamment bactériémies et pneumopathies) sont grevées d'une morbi-mortalité directe. Le CMV est aussi plus récemment décrit par certains auteurs comme un facteur de risque cardiovasculaire indépendant par effet direct,¹⁹⁻²¹ qui pourrait s'ajouter à ceux déjà présents chez un greffé cardiaque.

En parallèle, le traitement antiviral est responsable d'effets indésirables fréquents, incluant l'insuffisance rénale et la neutropénie.

Cette dernière, tout comme l'infection à CMV et les infections secondaires, entraînent fréquemment un allègement du régime immunosuppresseur et donc un risque encore accru de rejet.²²

Au total, au décours d'une greffe cardiaque, l'infection à CMV est un événement fréquent et parfois récidivant, pouvant se compliquer d'une morbidité nécessitant une prise en charge toujours spécialisée, et d'une mortalité à la fois immédiate, et retardée (plus difficilement quantifiable).

II. Stratégies préventives de l'infection à CMV

1. Prévention primaire

Le risque d'infection à CMV post-greffe dépend du statut sérologique vis-à-vis du CMV : D+/R- (donneur séropositif et receveur séronégatif) à risque considéré élevé, D+/R+ ou D-/R+ à risque intermédiaire, et D-/R- à risque faible (**Table 1**).²³ La stratégie de prévention primaire de l'infection à CMV diminue le risque infectieux et améliore le pronostic global en greffe cardiaque (comme d'autres transplantations d'organe solide) (**Table 1**).⁹ Elle utilise le GCV ou VGCV à demi-posologie, prophylactique systématique chez les D+/R- ou pré-emptif (uniquement si la PCR CMV sanguine est positive) chez les D-/R-.

Table 1 : Stratégies de prévention du risque d'infection à CMV chez les greffés cardiaques

Statut CMV	Risque ¹	Stratégie	Durée	Surveillance PCR
D+/R-	Élevé (52%)	Prophylactique	6 mois	Hebdomadaire puis mensuelle la première année
R+	Intermédiaire (35-45%)	Prophylactique	3-6 mois selon critères de maintien	
D-/R-	Faible (20%)	Préemptive	-	

¹Risque d'infection CMV hors prophylaxie la première année post-greffe, adapté de Mendez-Eirin *et al.*²³

La prévention primaire est poursuivie pour 3 ou 6 mois, au-delà desquels elle est interrompue car l'état immunitaire du patient est alors considéré comme s'approchant de son état pré-greffe.

L'infection à CMV survient tout de même malgré la prophylaxie primaire, en général à son arrêt (réactivations retardées). D'autres critères que le statut sérologique sont donc proposés pour mieux évaluer le risque d'infection (notamment chez les R+) et pour prolonger la durée de prophylaxie : intensité de l'immunosuppression, existence d'un rejet,²⁴ d'une hypogammaglobulinémie,^{25,26} d'une lymphopénie T-CD4+ ou -CD8+.^{27,28} Tous types d'organes transplantés confondus, ces études n'ont toutefois pas permis à ce jour de dégager une stratégie unique dépassant la stratification sérologique (**Table 1**).⁹

2. Prévention secondaire

Le bénéfice d'une prophylaxie secondaire en transplantation cardiaque est débattu.⁹ Le choix d'instauration repose sur plusieurs critères : la charge virale initiale,²⁹ la lymphopénie, le statut D/R, l'intensité de l'immunosuppression et le délai de réponse aux anti-viraux.^{1,9}

Ainsi, un test plus spécifique de l'immunité anti-CMV permettrait d'affiner la durée de prophylaxie primaire ou secondaire de façon patient-dépendante chez les greffés cardiaques. Il permettrait d'éviter des effets indésirables inutiles du VGCV par son épargne en cas d'immunité anti-CMV restaurée. Inversement il permettrait de diminuer les risques de réactivations retardées en prolongeant la durée de prophylaxie primaire et de récurrence par l'instauration d'une prophylaxie secondaire. Le QuantiFERON® CMV (QF-CMV) est un des candidats pour cette stratégie, avec l'ELISPOT (enzyme-linked immunosorbent spot IFN- γ detection) et la cytométrie en flux après marquage intracellulaire (intra-cellular staining - ICS).

III. QuantiFERON® CMV

1. Rationnel d'utilisation

La protection contre le CMV chez l'immunocompétent est définie par sa séropositivité, qui est un reflet partiel d'une réaction immunitaire plus complexe (**Figure 1**). Cette réaction implique l'immunité innée, chargée de la reconnaissance du CMV,³⁰ de la cytotoxicité par les lymphocytes NK des cellules infectées,³⁰⁻³² et de l'immunité adaptative. Cette dernière comprend l'activation des lymphocytes B (responsables de l'immunité dite humorale, c'est-à-dire de la production d'immunoglobulines), et l'instauration d'un dialogue entre lymphocytes B et T,³³ à l'origine (entre autres acteurs) de l'activation des lymphocytes T,^{34,35} principaux responsables de l'immunité dite cellulaire. Parmi eux, les lymphocytes T-CD8+ sont considérés comme prépondérants

dans la défense anti-CMV.³⁰ Ils sont la cible des immunosuppresseurs chez le greffé cardiaque,³⁶ mais ne font à l'heure actuelle pas l'objet d'un test de leur activité en routine.

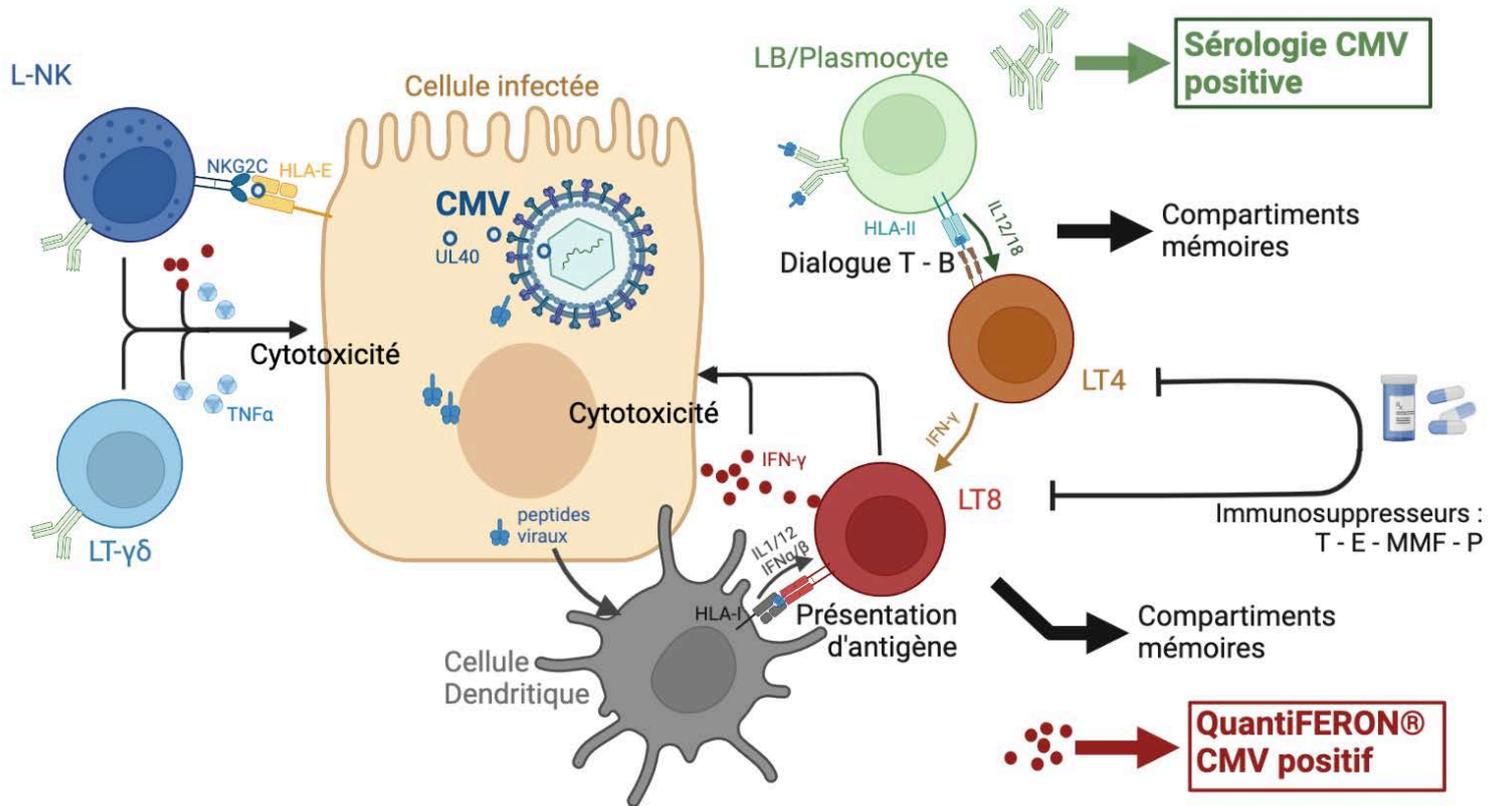


Figure 1 : Schéma simplifié de la réaction immunitaire anti-CMV

LT4/8, Lymphocyte T CD4+/CD8+ ; LT- $\gamma\delta$, Lymphocyte T au CD3 $\gamma\delta$; L-NK, Lymphocyte Natural Killer ; LB, Lymphocyte B ; HLA, Human Leukocyte Antigen ; TNF α , Tumor Necrosis Factor α ; IFN γ , Interferon γ ; IL1/12/18, Interleukine 1/12/18 ; T, Tacrolimus ; E, Everolimus ; MMF, Mycophénolate mofétil ; P, Prednisone ; \rightarrow activation cellulaire ou inducteur de prolifération ; \neg , inhibition

Les lymphocytes T CD8+ sont les principaux acteurs de l'immunité anti-CMV. Après reconnaissance d'antigènes du CMV suite à la présentation par les cellules dendritiques, ils sécrètent de l'IFN- γ , détecté par le QF-CMV qui devient alors positif. L'IFN- γ provoque une cytotoxicité essentielle dans l'immunité anti-virale car permettant d'éliminer la cellule infectée. Les lymphocytes T CD4+ participent également à la défense anti-CMV, notamment par la sécrétion de cytokines aidant les CD8+ et la création de compartiments mémoires. Les lymphocytes B produisent des immunoglobulines spécifiques d'antigènes du CMV, détectés par la sérologie qui devient alors positive. Ils dialoguent également avec le lymphocyte T CD4+ pour favoriser son activation. Les lymphocytes NK jouent un rôle important dans la cytotoxicité des cellules infectées notamment par la reconnaissance de l'antigène UL40 couplé au HLA-E, via le récepteur quasi-spécifique du CMV NKG2C. Tout comme les lymphocytes NK, les lymphocytes T- $\gamma\delta$ sont aussi capables de lier les anticorps reconnaissant les antigènes spécifiques du CMV et de participer à la cytotoxicité. Les immunosuppresseurs utilisés en transplantation solide inhibent principalement les lymphocytes T, médiateurs du rejet d'organe.

Le QF-CMV est un test décrit pour la première fois en 2007³⁷ pour tenter de répondre à ce besoin. Il comporte trois tubes dont un témoin négatif, un témoin positif (contenant de la phytohémagglutinine) et un tube contenant des épitopes du CMV (pp50, pp65, IE-1) restreints au CMH-I (Complexe Majeur d'Histocompatibilité, plus précisément HLA A et B). Ces épitopes vont stimuler les lymphocytes T-CD8+ du patient, qui sont les principaux à produire alors de l'interféron gamma (IFN γ), les lymphocytes NK n'étant pas activés par le test. Cytokine centrale dans l'immunité anti-CMV,³⁸ l'IFN γ est détectable par le reste du kit grâce à un test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, dosage d'immuno-absorption par enzyme liée). Le test est standardisé, sur sang total et techniquement réalisable en laboratoire de virologie.

2. Validation et performance biologique

L'article princeps propose un premier aperçu des performances de détection d'immunité du QF-CMV chez des sujets sains ou TOS, corrélé à 100% avec les résultats de sérologie.³⁷ D'autres équipes ont toutefois décrit, en pré-transplantation rénale et pulmonaire, 69% de positivité uniquement chez des patients séropositifs pour le CMV, signant une possible discordance entre immunité humorale et cellulaire même sans immunosuppression.³⁹

Ces données ont été confrontées en contexte clinique avec des valeurs prédictives positives (VPP, de non-infection) et négatives (VPN, d'infection) difficiles à établir et estimées respectivement à 93 et 24 % dans une cohorte prospective.⁴⁰ Le brevet de création du test a été cédé à Qiagen® (Venlo, Pays-Bas) et certains auteurs ont finalement proposé des seuils de positivité différents pour optimiser les caractéristiques de test, à ce jour non communément validés.^{40,41}

3. Validation et impact clinique actuels

Il existe une littérature positionnant le QF-CMV pour guider les indications et durées de prophylaxies primaire et secondaire en fonction de son résultat, par exemple par épargne de traitement en cas de QF-CMV positif.

a) Études observationnelles

Quelques études ont cherché à valider l'intérêt du QF-CMV dans la prédiction de l'infection à CMV. Elles ont été menées en 2009 et 2013 chez des cohortes tous organes greffés confondus et comprenant souvent peu de greffés cardiaques, avec toutefois des résultats prometteurs.^{40,42} L'étude de Manuel *et al.* rapporte une différence de 15 à 17% de patients développant une infection à CMV dans l'année post-greffe, en comparant ceux présentant un QF-CMV positif aux QF-CMV négatifs. L'étude issue d'un sous-ensemble de greffés cardiaques à moyen risque (R+) de l'essai PROTECT suggère une capacité du QF-CMV à prédire la survenue d'une infection à CMV dans le cas d'un schéma prophylactique.⁴³ Toutefois ces données sont monocentriques, rétrospectives sur un faible effectif (n = 24) ne permettant pas d'atteindre une significativité statistique.

b) Études interventionnelles

Dans l'objectif d'optimiser la durée de prophylaxie primaire, un essai randomisé a été mené en 2018 chez 118 transplantés pulmonaires (à haut risque d'infection à CMV) montrant une réduction de 21% de réplifications dans les lavages broncho-alvéolaires en cas d'arrêt de prophylaxie primaire lorsque le QF-CMV était positif.⁴⁴ En greffe rénale, une autre étude de 2021 montre avec cette même stratégie l'absence d'augmentation des infections chez 150 greffés rénaux de risque intermédiaire en regard d'une diminution de 29% des neutropénies pharmaco-induites par diminution de consommation de

VGCV.⁴⁵ En greffe cardiaque, un essai prospectif non randomisé de 2020 suggère avec le même type de stratégie, que la survenue d'infections à CMV à 1 an post-greffe diminue d'environ 14% (5% vs 19% en groupe contrôle).⁴⁶

Concernant la prophylaxie secondaire (après infection à CMV), une étude de 2017 réalisée sur un nombre réduit de patients TOS non cardiaques, retrouve une différence de récurrences selon le QF-CMV : 7% pour les résultats positifs, 69% pour les négatifs, en faveur d'une stratégie personnalisée de prophylaxie secondaire selon ce monitoring immun.⁴⁷ L'étude australienne en greffe pulmonaire, citée plus haut, note également une diminution de 13% de récurrence de répliquions sanguines dans le groupe à durée de prophylaxie modulée par le QF-CMV.⁴⁴

Intégrant ces données, les recommandations internationales actuelles sont en faveur de la réalisation d'un monitoring de l'immunité cellulaire T^{1,9} pour guider à la fois les prophylaxies primaire et secondaire et évaluer le risque de récurrence (recommandations de faible grade), sans précision sur la population de TOS d'application ou la temporalité d'utilisation. Pourtant, chez les transplantés cardiaques, aucune étude n'a à ce jour été publiée sur la capacité du QF-CMV à prédire une récurrence d'infection à CMV après son traitement (donc guidant la prophylaxie secondaire). De la même façon, une seule étude présentée ci-dessus supporte actuellement son utilisation pour guider la prophylaxie primaire en transplantation cardiaque,⁴⁶ avec des validités interne et externe limitant son extrapolabilité.

IV. Spécificités du CHU de Lille

1. Activité et population de transplantés cardiaques

Le CHU de Lille est le seul centre de greffe cardiaque de la région Hauts-de-France avec une activité en récente augmentation : 24 transplantations en 2016, 26 en 2017, 27 en 2018, 35 en 2019, puis maintenue à environ 8% du total national pendant la pandémie de COVID-19.⁴⁸

Le schéma de l'immunosuppression suit les recommandations internationales actuelles⁴⁹ avec comme spécificité une induction quasi-exclusive par Sérum Anti-Lymphocytaire (SAL), le basiliximab (anti-IL2R) étant réservé en cas de très haut risque infectieux (infection de dispositif d'assistance cardiaque par exemple) si le risque immunologique (reposant sur la compatibilité et les anticorps anti-HLA) est faible.

2. Prévention anti-CMV

La prévention post-greffe cardiaque du CMV au CHU de Lille suit les recommandations décrites plus haut, c'est-à-dire une prophylaxie primaire de 6 mois pour les patients D+/R-, 3 mois pour les R+, et une stratégie préemptive pour les patients D-/R-. (**Table 1**). Après une infection à CMV, une prophylaxie secondaire par VGCV à demi-dose est systématique (sous réserve de tolérance) pour une durée de 3 mois, ou 6 mois en cas de rejet traité, de lymphopénie T-CD4+ < 200/mm³, ou s'il s'agit d'une deuxième récurrence.

L'exploration de l'immunité cellulaire par QF-CMV est devenue possible par l'accès au test via la dotation et l'expertise du Centre National de Référence des

Herpesviridae (Laboratoire de Virologie, CHU Limoges) qui réalise le dosage d'IFN γ lui-même, après une première phase pré-analytique assurée par le laboratoire de Virologie du CHU de Lille. Le QF-CMV est réalisé au décours d'un premier épisode d'infection à CMV depuis fin 2018, intégrée à la décision thérapeutique dans une stratégie de meilleure évaluation personnalisée du risque avec comme objectif de réduire la durée de prophylaxie secondaire si le résultat était positif (en l'absence d'autre critère de maintien). Dans le cadre de ce travail, le QF-CMV a également été prélevé depuis 2019 à 3, 6, 12 mois post-greffe et en pré-greffe lorsque cela était possible, et a nécessité la mise en place d'un circuit dédié entre services de transplantation cardiaque, virologie, CNR *Herpesviridae* et maladies infectieuses,

V. Design et objectifs de l'étude

Cette étude rétrospective monocentrique observationnelle avait pour objectif principal d'évaluer la capacité prédictive du QF-CMV du statut de protection contre la récurrence d'infection à CMV chez les greffés cardiaques.

Les objectifs secondaires ont inclus :

- la durée de prophylaxie secondaire selon le résultat du test QF-CMV
- l'existence d'une association entre le statut de protection contre le CMV, et les facteurs explicatifs candidats suivants :
 - o régime immunosuppresseur : mode d'induction et prise d'everolimus
 - o rejet traité (donc $\geq 1B$ ou $pAMR \geq 1$)
 - o statut D/R

- lymphopénie T-CD4+ ou T-CD8+
- l'évaluation des cinétiques intra-individuelles des valeurs du test en dehors d'une infection à CMV à 3, 6 et 12 mois post-greffe, dont le recueil s'est arrêté en février 2021

DISCUSSION GENERALE

Les tests d'exploration de l'immunité cellulaire anti-CMV représentent une approche innovante pour améliorer la prédiction de l'infection à CMV et sa récurrence, mais les données chez les transplantés cardiaques sont très limitées.

Ce travail décrit la première étude sur l'apport du QF-CMV dans l'évaluation du risque de récurrence d'infection à CMV en transplantation cardiaque. Le QF-CMV n'a pas permis dans cette étude d'améliorer la prédiction de la récurrence ni d'optimiser la durée de prophylaxie secondaire.

La récurrence d'infection à CMV est survenue pour 33% des patients dans notre population (**Table 2**), chiffre concordant avec d'autres cohortes.⁴⁷

La seule étude ayant pour objectif d'évaluer le QF-CMV comme biomarqueur de récurrence (TOS non-cardiaques) a été publiée en 2017 par l'équipe canadienne de Kumar *et al.*⁴⁷ Avec un prélèvement immédiat en fin de traitement et une durée de suivi de 3 mois à partir de la fin de la première infection (elle-même survenant à une médiane de 3 mois post-greffe), le résultat du QF-CMV conditionnait la durée de prophylaxie secondaire : 2 mois s'il était négatif, ou interrompue dès qu'un résultat positif était disponible. Les auteurs ont noté une différence notable de récurrences entre patients avec QF-CMV positif (7%) contre QF-CMV négatif (69%). Par ailleurs un sous-ensemble de l'essai PROTECT (non dédié à la question) sur transplantés cardiaques suggère l'absence de récurrence chez les patients ayant fait une première infection puis présentant un QF-CMV positif (réalisé rétrospectivement sur échantillons sanguins conservés à titre systématique pour l'essai).⁴³

Ces travaux sont discordants avec nos résultats puisque 3/9 patients de notre population ayant présenté une récurrence à l'arrêt de la prophylaxie secondaire avaient un QF-CMV positif au préalable (**Table 3**). Plusieurs éléments peuvent expliquer les

différences observées. Dans ces études, la thérapie d'induction est soit incomplètement décrite, soit utilisant majoritairement le basiliximab (antagoniste du récepteur à l'interleukine 2, anti-IL2R), plutôt que sur le SAL. Actuellement l'immunosuppression d'induction à visée anti-rejet est utilisée par environ 50% des équipes de transplantation cardiaque,⁵⁰ utilisant soit les anti-IL2R (attitude prédominante actuellement), soit le SAL.^{51,52} L'effet de l'induction sur la survie globale est toujours débattu, du fait du risque infectieux majoré.⁵³ La grande majorité de nos patients reçoivent une induction par SAL du fait de meilleurs résultats de prévention du rejet. Le SAL entraîne une immunosuppression plus lourde que les anti-IL2R du fait de son mécanisme d'action lympho-déplétant large spectre avec atteinte lourde et prolongée des lymphocytes B, T,⁵⁴ et NK dans une moindre mesure.⁵⁵ Dans ce contexte le QF-CMV pourrait ne pas être suffisant pour évaluer correctement le risque de récurrence. En effet, l'hypothèse déjà suggérée par certains auteurs est que l'immunité anti-CMV reste incomplète malgré une capacité de production d'IFN- γ par les lymphocytes T-CD8+ restaurée (et donc un QF-CMV positif).⁵⁶ Une réaction complète anti-CMV s'appuie en effet sur les lymphocytes T-CD8+, mais également sur les autres compartiments T dont les CD4+,⁵⁷ les gamma-delta,⁵⁸ la présentation d'antigène, les cellules NK, et l'interaction T-B.^{30,31} Par ailleurs, ces autres compartiments pourraient aussi être atteints en cas de rejet traité²⁴ ou d'infection sévère, comme suggérés respectivement par un et deux patients de notre cohorte,

D'autre part, l'hétérogénéité des régimes immunosuppresseurs est un obstacle à la comparabilité inter-études. En effet, la ciclosporine, l'azathioprine et le sirolimus (utilisés chez certains patients de l'étude de Kumar *et al.*⁴⁷) ne sont pas ou plus utilisés dans notre centre en transplantation cardiaque et le risque différentiel d'infection à CMV

sous ces traitements en comparaison respective avec le tacrolimus, le MMF et l'everolimus est peu connu.

De plus, l'étude de Kumar *et al.* rapporte des durées de prophylaxie secondaire plus courtes que les nôtres (cf. plus haut). En lien avec l'immunosuppression longue induite par le SAL, une prophylaxie secondaire longue est habituelle dans notre centre, les récurrences survenant à un délai comparable (médiane de 25 jours après l'arrêt). Ce délai amène les auteurs sus-cités à discuter l'intérêt même de la prophylaxie secondaire qui n'aurait qu'un effet suspensif. Néanmoins leur taux élevé de récurrence (69%) dans le groupe QF-CMV négatif pourrait être expliqué par cette courte durée de prophylaxie. D'autre part, si les récurrences décrites par cette équipe n'ont compris que des répliquations asymptomatiques, un patient dans notre cohorte a présenté une colite hémorragique à CMV entraînant une hospitalisation. De plus, le taux de neutropénie à la reprise du VGCV est élevé quelle que soit la cohorte.

Contrairement aux études ci-dessus, les autres facteurs de risque d'une récurrence d'infection à CMV ont été recherchés de façon systématique dans notre population. Nous n'avons pas démontré ici d'association avec le statut D+/R-, le compte lymphocytaire T-CD4+ ou CD8+, le rejet traité, la durée de prophylaxie primaire ou la charge virale initiale malgré des données en ce sens en transplantation non cardiaque.⁵⁹

Enfin, malgré sa reproductibilité affichée et sa standardisation, le QF-CMV nécessite une mise au point technique et une formation des personnels impliqués du fait des risques de faux positifs et négatifs (discutés plus bas), rarement évoqués dans les études. La répétition du test à différents timings pourrait être une réponse à cette problématique.

Parmi les patients de notre étude, le MMF a été relayé par l'everolimus dans 6/15 cas, un seul d'entre eux ayant par la suite présenté une récurrence d'infection à CMV (en contexte de neutropénie VGCV-induite) (**Figure 2**).

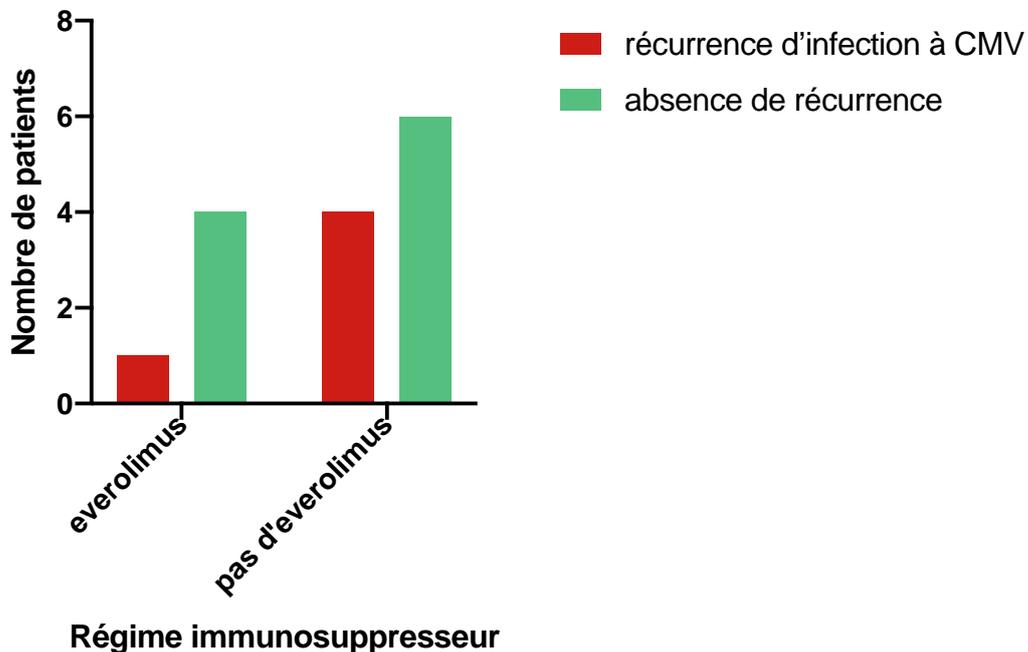


Figure 2 : Récurrences d'infection à CMV chez les transplantés cardiaques selon le régime immunosuppresseur de maintenance

L'everolimus est le principal représentant des inhibiteurs de mammalian target of rapamycin (anti-mTOR) et est de plus en plus utilisé en transplantation cardiaque ces dernières années. Il remplace classiquement un immunosuppresseur (le MMF, parfois l'anti-calcineurine) quand survient une toxicité, ou pour un effet anti-néoplasique⁶⁰ ou anti-viral (incluant CMV et BK virus)⁶¹⁻⁶³ possiblement par sa capacité d'activation et maintien de plusieurs compartiments lymphocytaires T.⁶⁴ Nos résultats ne sont donc pas surprenants mais à notre connaissance aucune étude n'a étudié l'effet d'une stratégie reposant sur l'everolimus dans la prévention de la récurrence d'infection à CMV en transplantation cardiaque. Les principales limites à sa prescription sont le risque

d'œdèmes et d'épanchements, de retard de cicatrisation (empêchant son utilisation dans le premier mois post-greffe) et d'aggravation d'insuffisance rénale lorsqu'elle préexiste. Un relais systématique du MMF vers l'everolimus pourrait être envisagé (en respectant ces limites) pour tous les transplantés cardiaques après une première infection à CMV en cas d'induction par SAL, ce qui devient le cas en pratique au CHU de Lille. La durée de ce relais reste encore à définir.

D'autres stratégies de prévention du CMV ont utilisé le QF-CMV. Baser la durée de prophylaxie primaire sur ce test a permis une réduction de 14% et 20% d'incidence d'infection à CMV, dans une cohorte de patients transplantés respectivement cardiaques et pulmonaires.^{44,46} Une étude a montré également que le niveau de QF-CMV avant transplantation rénale, pourrait être un prédicteur d'une reconstitution immune rapide (c'est-à-dire ≤ 3 mois) lorsqu'il est positif et supérieur à un seuil de 12 UI/mL.⁶⁵

Ces données nous ont conduit à élargir le champ du travail de thèse par un recueil prospectif du QF-CMV réalisé systématiquement en pré-greffe, à 3, 6 et 12 mois post-greffe (M3, M6, M12) pour les transplantés cardiaques séropositifs pour le CMV (R+) ou faisant une primo-infection en post-greffe. Ce recueil est toujours en cours et a été ralenti par la survenue de la pandémie de COVID19. Il a nécessité la mise en place d'un protocole d'identification systématique des patients candidats pré- et post-greffe avec l'aide de l'équipe de greffe cardiaque. L'étude étant observationnelle, aucun changement de durée de prophylaxie anti-CMV n'a été réalisé selon les résultats de ces tests.

Concernant les données pré-greffe, notre recueil préliminaire a montré que presque la moitié des greffes cardiaques surviennent en urgence ou super-urgence dans notre centre, rendant le prélèvement pré-greffe techniquement difficile à réaliser. En effet, la phase pré-analytique précédant l'envoi au CNR a imposé d'exclure les prélèvements

de nuit, et du vendredi au dimanche. D'autre part, nos données montrent pour l'instant un taux de positivité pré-greffe du QF-CMV de 38% parmi les séropositifs CMV, chiffre étonnamment bas qui vient rejoindre un taux similaire chez des patients transplantés pulmonaires et rénaux R+.³⁹ Ainsi, la corrélation entre immunité cellulaire et humorale semble imparfaite et appelle peut-être à une meilleure stratification pré-transplantation du risque d'infection à CMV que le statut D/R. Chez le greffé cardiaque, les capacités immunitaires cellulaires pourraient être sous-estimées en cas d'altération liée à la situation d'urgence (choc cardiogénique, implantation ou infection d'assistance ventriculaire), l'étiologie (infarctus myocardique, myocardite fulminante), ou les comorbidités (comme l'insuffisance rénale chronique).

L'exploration à M3 et M6 montre pour 7/8 patients, un QF-CMV négatif persistant, les données de M12 étant en attente. La valeur du tube mitogène est toujours supérieure au tube CMV en post-greffe, avec 3/8 (38%) et 6/8 (75%) positifs à M3 et M6 respectivement. Ces données sont concordantes avec l'étude de Paez-Vega *et al.*⁶⁵ En effet, cette cohorte de transplantés rénaux avec induction par SAL exclusive, montre que le résultat du QF-CMV est stable à un taux bas en post-greffe (en tout cas jusqu'à M3) si le résultat pré-greffe est < 12 UI/mL, ce qui est le cas de l'ensemble des patients testés dans notre centre pour l'instant. Par ailleurs cette étude ne montre pas de lien entre la cinétique de restauration de valeurs positives au QF-CMV et la dose de SAL utilisée, suggérant que le mode d'induction n'est pas responsable de la persistance de tests négatifs ou indéterminés. Cette question reste débattue car l'étude de Poglajen *et al.*,⁴⁶ où l'induction par anti-IL2R est prépondérante, retrouve une positivité du QF-CMV plus précoce et soutenue, à l'inverse de nos résultats préliminaires après induction par SAL. De plus, une étude canadienne de TOS utilisant un test d'évaluation globale de l'immunité

lymphocytaire T proche du QF-CMV suggère que le SAL est associé à des valeurs plus basses de production d'IFN- γ à M3.⁶⁶

Dans l'étude de Paez-Vega *et al.*, les quelques patients que l'on pourrait qualifier d'« hyper-immunisés CMV » (valeurs pré-greffes > 12 UI/mL, jusqu'à 400 UI/mL, avec une récupération rapide de ces valeurs à M3) pourraient faire l'objet d'un arrêt précoce de prophylaxie primaire dans le cadre d'un protocole. Les valeurs absolues des QF-CMV ne sont pas détaillées dans notre étude car n'étaient pas corrélées à la survenue d'une récurrence ou d'un autre des facteurs recueillis.

En parallèle du QF-CMV d'autres méthodes de monitoring de l'immunité cellulaire anti-CMV ont récemment été développées, comme l'ELISPOT ou l'ICS avec des résultats prometteurs en transplantation rénale notamment.^{67,68} L'ELISPOT présente un intérêt technique par rapport au QF-CMV puisqu'il est réalisé sur un nombre standardisé de lymphocytes T, et englobe les CD4+ et CD8+,¹⁵ permettant de contourner les écueils du QF-CMV décrits plus hauts, au prix d'une réalisation plus complexe.

Néanmoins, il n'existe pour l'instant pas de données concernant l'ELISPOT et l'ICS en transplantation cardiaque permettant de guider la prophylaxie secondaire et de prédire le risque de récurrence. De plus, la réalisation de l'ICS est encore plus complexe (nécessitant un marquage lymphocytaire avant cytométrie en flux) et son utilisation en dehors de quelques centres experts pourrait s'avérer impossible en routine. Des études comparatives entre différentes techniques, éventuellement avec une même population de patients transplantés cardiaques, permettrait de décider du meilleur test dans chaque situation et indication.

Enfin, il est nécessaire de préciser que notre étude présente un certain nombre de limites. En premier lieu, il s'agit d'une étude monocentrique, donc limitée en effectif et en puissance statistique. Néanmoins, cela a aussi permis de centrer l'analyse sur une population homogène en termes de gestion d'immunosuppression et de traitements anti-CMV (SAL systématique, recours à l'everolimus fréquent, prophylaxie secondaire longue) qui font l'objet de pratiques différentes dans les autres centres. L'effectif a été d'autant plus limité par la pandémie de COVID19, et pourrait expliquer un manque de sensibilité dans la recherche d'association entre le risque de récurrence et les facteurs prédictifs candidats au préalable.

Par ailleurs les facteurs techniques de variabilité du résultat du QF-CMV sont aussi apparus nombreux au cours de ce travail. Choisi pour sa reproductibilité et ne nécessitant pas d'expertise supplémentaire, des situations de faux négatifs et faux positifs de ce test ont pourtant été identifiées (résumés dans la **Table 5**). Une vigilance a été assurée au fur et à mesure du travail pour contrôler les tests concernés par ces facteurs et pour corriger ces derniers, de la part des services d'envoi des prélèvements et des laboratoires de virologie du CHU de Lille et de Limoges.

Les résultats décrits dans cette étude sont peut-être biaisés par la stratégie composite de prophylaxie secondaire utilisée dans notre centre. Les stratégies de prophylaxies primaire et secondaire sont centre-dépendantes, selon les habitudes de praticiens, la lourdeur du schéma d'immunosuppression et la fréquence de récurrences d'infections à CMV. De ce fait, le QF-CMV doit probablement être positionné différemment dans cette indication selon l'organe greffé, la stratégie utilisée et les habitudes de pratique. Son accessibilité pourrait également être un obstacle à son utilisation puisqu'à l'heure actuelle il n'est réalisé que par quelques centres en France.

Table 5 : Facteurs techniques d'altération du QF-CMV

Faux Négatifs

Incubation lymphocytaire $\geq 38^{\circ}\text{C}$

Verrouillage de température de l'étuve à 37°C

Formation des personnels et étudiants de virologie

Transport sans réfrigération (envoi direct par les Analyses Extérieures)

Information des personnels du RTE (centre de tri), des services d'envoi

Identification des tests sans phase pré-analytique depuis 2018

Remplissage du tube au-delà du vide prévu

Information des personnels des services d'envoi

Formulaire d'information dans le kit

Faux Positifs

Potentiel, non identifié : incubation lymphocytaire prolongée

Potentiel, non identifié : chute du tube, tube secoué (dont envoi par TAL)

Positifs d'interprétation incertaine

QF-CMV réalisé pendant une réplication CMV

Contrôle du QF-CMV en dehors de réplifications, formation du personnel médical

En gras, facteurs de variation pouvant conduire à un faux positif ou négatif ; indentés, leurs solutions respectives apportées pendant le travail de recueil

En conclusion, le QF-CMV n'a pas permis, dans cette étude de patients transplantés cardiaques avec induction par SAL, d'améliorer la prédiction de la récurrence d'infection à CMV ni d'optimiser la durée de prophylaxie secondaire. L'utilisation de ce test pour interrompre la prophylaxie secondaire pourrait exposer le patient au risque de récurrence. Le positionnement du QF-CMV dans cette indication doit probablement être fonction de son accessibilité, de la stratégie de prophylaxie secondaire, de la thérapie d'induction et des habitudes du centre. Par contre, la présence d'everolimus dans le régime immunosuppresseur semble être un meilleur facteur de protection contre la récurrence d'infection à CMV et justifierait une étude dédiée.

Le QF-CMV reste un outil prometteur pour guider la prophylaxie primaire. Il fera l'objet d'un autre travail de recherche, qu'il sera intéressant de coupler avec une comparaison d'autres techniques de monitoring d'immunité cellulaire.

ARTICLE

Title: Risk of CMV relapse cannot be predicted by IFN- γ release assay in heart transplant recipients with anti-thymocyte globulin-based induction therapy: a retrospective study.

Category: Original science - clinical

Corresponding author:

Kevin Sermet

Unité de Maladies Infectieuses

Centre Hospitalier Universitaire de Lille

2, Avenue Oscar Lambret

59000 Lille, FRANCE

E-mail: kevin.sermet@chu-lille.fr

Phone n°: +33320445743 ; Fax n°: +33320445739

Key-words: *Cytomegalovirus*, Heart Transplantation, QuantiFERON® CMV, Everolimus, Anti-thymocyte globulin, secondary prophylaxis

Word count: 2894

ABSTRACT

BACKGROUND: Cytomegalovirus (CMV) infection remains a major threat after heart transplantation (HT). Despite a relapse rate of 35% after first CMV-infection, its prediction remains challenging and underexplored in HT. We evaluated the capacities of the cell-mediated immunity (CMI) test QuantiFERON® CMV (QF-CMV) and whether it could guide secondary prophylaxis duration.

METHODS: This observational retrospective monocentric study included 15 HT recipients who experienced CMV-infection between January 2018 and December 2020. QF-CMV was performed at the time of (val)ganciclovir curative treatment completion on a routine basis, as part of a multi-component strategy to guide secondary prophylaxis. Outcomes were CMV-relapse and duration of secondary prophylaxis. All variables potentially related to the outcomes were collected.

RESULTS: After a median time of follow-up from first CMV-infection of 418 days, 5 (33%) patients experienced relapse among whom 3 (60%) had a positive QF-CMV. No variable was significantly correlated with CMV-relapse, including occurrence of CMV disease, immunosuppressive maintenance regimen or induction (14/15 by anti-thymocyte globulin), treated rejection, CMV donor/receiver status, or CD4+ T-cells count. Median secondary prophylaxis duration was 130 days and did not differ whether QF-CMV was positive or negative. Only 1/5 patients with everolimus-containing immunosuppressive regimen experienced relapse.

CONCLUSIONS: QuantiFERON® CMV implemented in a multi-component strategy did not help refining the duration of secondary prophylaxis nor predicting relapse in our population of HTR with ATG-based induction. Other CMI tests in this specific population such as ELISPOT and a strategy including everolimus-containing regimen could help CMV relapse prediction and management.

INTRODUCTION

Among the main opportunistic pathogens in solid organ transplantation (SOT), *Cytomegalovirus* (CMV) is responsible for many complications among heart transplant recipients (HTR). Apart from severe infections (colitis, pneumopathy, retinitis, encephalitis), it has been suggested as a risk factor for rejection¹¹⁻¹⁴ and for cardiovascular event independently.¹⁹⁻²¹ Since relapse occurs in up to 35% of CMV-infections post-engraftment,⁵ valganciclovir (VGCV) is sometimes used as secondary prophylaxis in HTR but indications are not well-defined. Because of frequent side effects such as neutropenia, kidney injury and peripheral neuropathy, attempts have been made to better assess the risk of relapse using lymphocyte count, donor/receiver (D/R) status, acute rejection or gravity and duration of first CMV-infection.^{59,9} Strategies based on these factors still lack of reliability and ask for a deeper monitoring of immunity against CMV, which is believed to be supported by cellular rather than humoral immunity.³⁰ Recent cell-mediated immunity (CMI) assays such as QuantiFERON®-CMV (QF-CMV, Qiagen, Venlo, Netherlands) have been studied to better guide primary prophylaxis in SOT recipients.^{44,46} This test relies on MHC-I-restricted CMV epitopes including pp65, immediate early-1 (IE-1), IE-2, and gB recognized by CMV-specific CD8+ T-cells. After incubation, measurement of interferon- γ (IFN- γ) by the kit reveals CD8+ T-cells mediated immunity against CMV with correct test performances according to preliminary data.^{37,40} International guidelines for CMV management in SOT recipients now consider such assays in a routine use but highlight the need for further studies.^{1,9} Recently, clinicians have also shown an increasing interest in personalized relapse-risk assessment and tailoring of secondary prophylaxis with interesting results in non-heart SOT recipients.⁴⁷ Nevertheless, whether CMV-CMI testing is also helpful for prediction of CMV relapse and secondary prophylaxis for HTR is yet to be confirmed.

We thus performed a retrospective analysis of a multi-component strategy including QF-CMV, implemented in our center to help secondary prophylaxis management in HTR experiencing a CMV-infection. Objectives were to evaluate the safety and efficacy of such a strategy.

METHODS

Study design and Ethics approval

A single-center, retrospective, observational, cohort study in Lille University Hospital was designed to assess the prediction capacities of CMV-relapse by QF-CMV testing. This study follows the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement.⁶⁹

All data were collected with the approval of French National Commission of Informatics and Liberty (CNIL declaration n°DEC21-087) and all patients gave informed consent.

Patient population and routine visits

We included all HTR aged ≥ 18 years-old experiencing a CMV infection between January 2018 and December 2020 with informed consent for data collection. Non-inclusion criteria were patients aged ≤ 18 years-old, death before end of initial antiviral therapy, multi-organ transplant recipients and second transplantation.

Visits were scheduled routinely every week for two months after heart transplantation (HT) and then progressively spaced, or on intercurrent events. CMV viremia was assessed at each visit and at least twice per month after three months post-HT.

Anti-rejection immunosuppressive drugs were used in accordance with latest guidelines.^{49,54} Briefly, induction usually used anti-thymocyte globulin (ATG) except if severe infection occurred before transplantation when basiliximab was then preferred (providing that immunological risk was low). Maintenance regimen included tacrolimus, MMF, and prednisone with progressive dose reductions. MMF could be replaced by everolimus according to the clinician's discretion, usually because of disabling diarrheas, cytopenias, CMV-infection or neoplasia.

Endpoints

Data were collected retrospectively. The primary endpoint was CMV relapse, defined as viremia in the 18 months following primary prophylaxis completion and requirement for re-initiation of anti-viral treatment (occurring when viremia was ≥ 1000 international units/mL for 2 consecutive weeks, or when symptoms were attributable to CMV-infection).

Duration of secondary prophylaxis and switch towards everolimus before 3 months following initial CMV infection were collected as secondary endpoints.

In addition to demographic characteristics, other data that could contribute to CMV-relapse and thus constitute biases were collected, including secondary prophylaxis maintenance criteria (see below), immunosuppressive regimens, CMV donor/receiver (D/R) status, replication or disease at the first episode, lymphocyte count, duration of primary prophylaxis before the first episode.

Management of CMV infections and prophylaxis

In our center, D-/R- HTR followed pre-emptive therapy and primary prophylaxis by VGCV was given 3 and 6 months for R+ and D+/R- HTR (or when allograft rejection was treated) respectively provided a good tolerance.

CMV infections were defined according to international consensus⁹ and included both replication (blood viral load assessed by CMV PCR without any symptom) and CMV disease (with symptoms or clinical signs attributed to CMV). The initial anti-viral therapy used ganciclovir (GCV) or VGCV until blood viral load declined to an undetectable level (defined by less than 100 IU/mL or $2\log_{10}$ /mL of whole blood) confirmed at a 1-week interval. Search for anti-viral therapy resistance and subsequent management were conducted according to latest consensus.¹

Half-dose VGCV was then maintained as secondary prophylaxis for 3 months and up to 6 months if one of the following maintenance criteria was met: treated rejection, blood CD4+ T-cells count $<200/\text{mm}^3$, second episode of CMV infection, provided a good tolerance. It was shortened to 6 weeks if a positive QF-CMV (performed for every HTR experiencing a CMV infection) result was available, provided that no other criterion was met. Of note, everolimus-containing regimen was not a criterion of duration modification.

Laboratory testing

CMV viremia: viremia was assessed on whole blood samples by a commercially available PCR assay (RT-qPCR AltoStar[®] kit 1.5, Altona Diagnostics, Hamburg, Germany) with a positivity threshold of 100 international units (IU)/mL.

QuantiFERON[®] CMV: CMV cell-mediated immunity was assessed using QuantiFERON[®] CMV assay (QIAGEN, Venlo, Netherlands) as per manufacturer's

instructions. Briefly, three 1-mL aliquots of whole blood are collected each in a tube coated with reactants. The CMV tube is coated with MHC-I-restricted CMV epitopes including pp65, immediate early-1 (IE-1), IE-2, and gB. The positive control tube (mitogen) is coated with phytohemagglutinin whereas the negative control only contains excipient. Tubes are incubated overnight at 37°C, then centrifuged by a technician blinded to the status of the patient, and IFN- γ is measured in the supernatant using an ELISA assay. As per manufacturer's instructions, a positive result was considered if IFN- γ value was ≥ 0.2 IU/mL higher in the CMV tube than in the negative control. If the level was < 0.2 IU/mL and the mitogen control was positive (≥ 0.5 IU/mL higher than the negative control tube) the status was considered non-reactive. If both tubes were negative, this result was considered indeterminate. Non-reactive and indeterminate results were both considered QF-CMV negative for the CMV-relapse analysis.

Statistical analysis:

The software Prism v.8.2.1 (GraphPad Software, San Diego, USA) was used for the following tests (statistical significance was considered if $p < 0.05$):

- Mann-Whitney test for comparisons of means when variables followed a non-parametric distribution (bilateral hypothesis test)
- Fisher's exact test for two-proportions comparisons (bilateral hypothesis test) with confidence intervals of odds-ratios calculated by Baptista-Pike method

RESULTS

Patient Characteristics

Ninety-three patients underwent HT from April 2017 to May 2020 in our center. CMV infection occurred in 16/93 patients during the above defined period, among which 15 were tested for QF-CMV because one patient died at week-8 post-HT of intra-cranial hemorrhage before completion of the initial anti-viral therapy. Baseline demographic data are shown in **Table 1**. Most of patients (11/15, 73%) had a moderate risk of CMV infection (D+/R+ and D-/R+). All except D-/R- patients (1/15, 6%) received VGCV-based primary prophylaxis for a median duration of 189 days (range 112-234 days) for D+/R- and 101 days (range 88-181 days) for R+ patients. Immunosuppressive regimens mostly comprised tacrolimus, mycophenolate mofetil (MMF) and prednisolone following induction by ATG. MMF was switched to everolimus after first CMV infection in 6/15 patients (40%). Among them, 4/6 were switched for anti-CMV purpose, 1/6 for anti-neoplastic purpose and 1/6 for disabling diarrheas attributed to MMF.

CMV infections

Data of CMV infections are summarized in **Table 2**. CMV infections were asymptomatic in 10/15 patients (66%) before QF-CMV testing. All patients received anti-intravenous ganciclovir (GCV) or oral valganciclovir (VGCV) and reached an undetectable viral load. Median maximal blood viral load during first CMV infection was 6218 IU/mL (range: 482-810321 IU/mL). Median time from cessation of primary prophylaxis to first episode was 77 days (range 28-256 days). Interestingly, CMV-relapse occurred shortly after cessation of secondary prophylaxis with a median of 25 days (range 15-42 days).

The median time of follow-up from first CMV infection was 418 days (range 199-547 days); no severe transplant failure or death was reported during this period.

Five patients (33%) experienced CMV-relapses, of which most were asymptomatic (4/5, 80%). Median time from cessation of primary prophylaxis to CMV-relapse was 321 days (range 91-551 days). Median maximal blood viral load during CMV-relapse was 7762 IU/mL (range: 3817-30902 IU/mL). No resistance to anti-viral therapy was noted.

QF-CMV results

QF-CMV was measured at a median time of 1 day after the end of initial curative therapy. Nine patients had a positive result for CMV-specific antigen (60%). Among these positive results, mean and median IFN- γ value were respectively 4.71 IU/mL and 1.40 IU/mL (range 0.27-25 IU/mL). Among non-positive patients, 2 (13%) were indeterminate and 4 (27%) were non-reactive. All were considered as negative results.

CMV-relapses and secondary prophylaxis

Data about CMV-relapses in the 18 months following primary prophylaxis completion (cf *Methods*) are shown in **Table 3**.

No patient experienced CMV-relapse while being under secondary prophylaxis. Mean duration of secondary prophylaxis was 130 days (range 0-270 days). No difference of secondary prophylaxis duration was found between relapse and no relapse-experiencing patients, nor between positive and negative QF-CMV displaying patients (respectively 119 and 148 days, $p=0,61$).

Association between QF-CMV and protection against CMV-relapse was not shown in our population (OR = 1,00, IC95% [0,14-7,66], $p >0,99$). Indeed, among CMV relapse-free patients, 4/10 (40%) were negative for QF-CMV testing. Importantly, among CMV-relapse patients, QF-CMV testing was positive for 3/5 (60%) of them (details of clinical data available in **Table 4**), shortly after secondary prophylaxis discontinuation. IFN- γ values

from the CMV-tube in these 3 patients were not lower than CMV relapse-free patients (median of 6,31 IU/mL, range 1,40-25,0 IU/mL) and even above those from mitogen-tube for two of them. Remarkably, this phenomenon of inversion did not happen among CMV relapse-free patients. Basiliximab and ATG were used as induction respectively for one and two patients. The patient receiving basiliximab experienced acute cellular rejection at day 60 post-engraftment and was treated by increased dose of steroids. Regarding immunosuppression, steroid dose at the time of CMV-relapse was very variable (median 7,5mg daily, range 5-25mg daily) and one patient had MMF switched for everolimus before QF-CMV testing.

Of note, everolimus-containing regimen in the 3 months following initial CMV infection tended to be protecting against CMV-relapse although statistical significance was not reached (OR 0,38, IC95% [0,03-4,12], $p = 0,60$). More practically, an everolimus-based strategy prediction would have exposed to CMV-relapse only one patient in our population because of precocious stop of secondary prophylaxis (**Figure 1**).

Four patients out of 9 without everolimus-containing regimen did not experience CMV-relapse. Among them, one had a positive QF-CMV.

DISCUSSION

Novel approaches for CMV cell-mediated immunity (CMI) such as QF-CMV are raising high expectations to help optimizing prophylaxis and reduce CMV burden.^{45,46} Nevertheless, positioning of these biomarkers in secondary prophylaxis optimization remains challenging, especially in HT due to lack of data. Here we described a cohort of HTR experiencing CMV infection where QF-CMV-assessed CMI following curative anti-viral therapy could neither predict relapse nor help shorten secondary prophylaxis.

CMV-relapse occurred in 33% of the patients of our study, consistent with other descriptions.⁴⁷ Our analysis did not demonstrate any association between relapse and presumed factors including D/R status, CD4+ or CD8+ T-cells count, treated allograft rejection, severity of CMV-infection, duration of primary or secondary prophylaxis, despite previous descriptions in SOT (predominantly non-heart).⁵⁹ Importantly, QF-CMV result and relapse status was discordant in 3/9 positive patients, where discontinuation of secondary prophylaxis was followed by CMV-relapse. Moreover, despite our attempt to tailor the secondary prophylaxis duration, no significant difference was found between positive and negative patients for QF-CMV.

To date, only one other study evaluating QF-CMV as a predictor of relapse in non-heart SOT recipients is published. Kumar and colleagues highlighted in this work a remarkable difference of relapse rate between positive and negative QF-CMV patients (respectively 7% and 69%), with a similar timing and duration of follow-up than our study.⁴⁷ Also, a small nested study focusing on HTR suggested a spontaneous control of CMV-infection when retrospectively performed QF-CMV reached positivity (in 3/7 patients).⁴³ Notably, induction in these studies was either incompletely described or predominantly using anti-IL2R such as basiliximab rather than anti-thymocyte globulin (ATG). Currently, induction is used in about 50% of HT teams⁵⁰ with anti-IL2R being slightly preferred, and impact on

survival remains controversial.⁵³ Patients from our center underwent almost constantly ATG-based induction based on better results on acute and late rejection⁵¹ and according to practices in other HT teams.⁵² ATG is reputed for higher immunosuppressive potency with both T- and B-cell activities being heavily dampened.⁵⁴ It might alter the aptitude of QF-CMV to predict a fully-restored immunization and thus the risk of relapse. As suspected by other authors,⁵⁶ we hypothesize that despite a restored capacity of IFN- γ production after the initial CMV infection shown by a QF-CMV positive test, immunity against CMV remains incomplete with such induction. Indeed, a complete immune reaction against CMV also relies on antigen-presentation, possibly T-cell/B-cell interaction, NK cells,^{30,31} and among T-cells all compartments including CD4+,⁵⁷ CD8+ and probably gamma-delta T-cells⁵⁸ must be functional. One or several immune compartments may also be dampened despite a positive QF-CMV test when treatment of acute rejection is required, or non-CMV severe infections occur, as suggested respectively by one and two patients in our cohort and previously reported.²⁴

Differences in maintenance immunosuppressive regimen could also explain discrepancies between our results and the aforementioned studies. Indeed, we did not use ciclosporine, azathioprine or sirolimus and little is known about the differential risk of CMV-infection under these regimens when compared to tacrolimus, mycophenolate or everolimus respectively.

Besides, Kumar et al. presumably reported a shorter time of secondary prophylaxis (up to 2 months) than our study. In accordance to longer ATG-induced immunosuppression, we tended to extend prophylaxis after a CMV-infection. Relapse occurred shortly after secondary prophylaxis discontinuation (median of 25 days), similarly to Kumar and colleagues. This delay led them to question utility of secondary prophylaxis; but the higher rate of relapse (69%) in their QF-CMV negative group of

patients could be explained by the short duration of this prophylaxis. As in their study, relapses among our patients were mostly replications rather than CMV diseases, but one experienced hemorrhagic colitis requiring hospital admission.

Eventually, despite its standardized design, technical issues of QF-CMV should not be underestimated and staff training should be provided. Specifically, it seems that false-positive should be suspected when value of CMV-tube is higher than the positive control (mitogen-tube). False-positive can also be encountered in any case of lymphocyte stress (such as blood sample shaking or delayed transportation). Repeated QF-CMV testing at different time points after CMV infection might be recommended to overcome this issue.

Among patients described in our study, 6/15 underwent switching from MMF to everolimus and only one experienced CMV-relapse (with VGCV-induced neutropenia). Everolimus belongs to the class of inhibitors of mammalian target of rapamycin (mTOR) and has been increasingly used these last years in HT. Indeed, it now frequently replaces calcineurin-inhibitors or MMF when toxicity occurs, except in the first month post-transplantation to avoid slow wound healing. Benefits also rely on anti-tumor⁶⁰ and anti-viral effects (including CMV and BK virus)^{61–63} possibly due to multiples T-cells compartments activation.⁶⁴ Switching to everolimus might be considered in HTR when CMV-infection occurs, especially if ATG was used for induction; this strategy is now implemented in our center provided good tolerance (requiring proteinuria monitoring and follow-up for effusions).

Our study suffers limitations. First, it was performed in a single center. However, since strategies of immunosuppressive regimen management often diverge from a transplantation center to another, it also allowed to focus on a population with frequent

use of ATG for induction and of everolimus as a resort for maintenance. Second, the population size is limited, owing to its single-center design and partly due to less HT procedures during the first phase of Covid-19 pandemic period. As a consequence, a lack of sensitivity could explain that no factor was associated with relapse.

Other CMI assays have been described in kidney transplant recipients such as enzyme-linked immunosorbent spot IFN- γ detection (ELISPOT) or intra-cellular staining (ICS) with interesting prediction results of initial CMV-infection.^{67,68} Particularly, ELISPOT is performed on a standardized number of cells instead of whole blood and not only tests CD8+ but also CD4+ T-cells activity.⁷⁰ It could thus overcome the pitfalls described above. However, data about ELISPOT, ICS and subsequent CMI-guided strategies remain scarce in HT, with specifically no report in secondary prophylaxis and relapse risk assessment.⁷¹ Besides, routine feasibility of ICS is questionable since it requires time, resources and expertise unavailable in many centers, thus impeding its implementation in a common international practice. More studies comparing these CMI assays in the specific population of HT seem required to select the best strategy for each situation.

In conclusion, QuantiFERON® CMV did not help to predict CMV relapse in our population of HTR with ATG-based induction. Its implementation in a multi-component strategy of secondary prophylaxis duration might even be hazardous in this population. A strategy including everolimus-based immunosuppressive regimen may better predict the risk of CMV-relapse, as well as ELISPOT-based CMV-immunity assessment. Further studies in this specific population are opportune to refine our strategy of CMV-infection management.

Financial disclosure: The authors of this manuscript have no conflicts of interest to disclose. This work was financially supported by the National Center of Reference (CNR *Herpesviridae*) of Limoges University Hospital and Lille University Hospital.

TABLES AND FIGURES

Figure 1. CMV-relapse among everolimus-containing immunosuppressive regimen in ATG-induced heart-transplant recipient

Table 1. Baseline population characteristics

Table 2. CMV infection characteristics

Table 3. Predictors of protection against CMV relapse

Table 4. Details about CMV-relapsing patients despite positive QF-CMV

Table 1: Baseline Patients Characteristics

Characteristics	n = 15
Age, mean (range), years	46 (29-69)
Sex Ratio (Male/Female)	0,66 (6/9)
Causative Cardiopathy, n (%)	
Dilated	5 (33)
Ischemic	3 (20)
ARVD	1 (7)
Hypertrophic ¹	0
Other ²	5 (33)
Induction therapy, n (%)	
Anti-thymocyte globulin (ATG)	14 (93)
Basiliximab	1 (7)
MMF switched to everolimus before relapse, n (%)	6 (40)
Treated Rejection before relapse, n (%)	
None or untreated rejection	7 (46)
Treated rejection	8 (53)
D/R Status, n (%)	
D+/R-	3 (20)
D+/R+	9 (60)
D-/R+	2 (13)
D-/R-	1 (7)

Abbreviations: CMV, Cytomegalovirus; ARVD, arhythmogenic right ventricular dysplasia; MMF, mycophenolate mofetil; D, donor; R, recipient

¹mitochondrial or not; ²ventricular aneurysm, myocarditis, Tetralogy of Fallot

Table 2: CMV infection characteristics

Characteristics	n = 15
CMV first episode	
Disease, n (%)	5 (33)
Asymptomatic replication, n (%)	10 (67)
Maximal viral load, median (range), IU/mL	6218 (482-810321)
QF-CMV positive after first episode, n (%)	9 (60)
Time from primary prophylaxis cessation, median (range), days	77 (28-256)
CMV relapse, n (%)	5 (33)
Disease, n (%)	1 (20)
Asymptomatic replication, n (%)	4 (80)
Maximal viral load, median (range), IU/mL	7762 (3817-30902)
Time from primary prophylaxis cessation, median (range), days	367 (91-551)
Time from secondary prophylaxis cessation, median (range), days	25 (15-42)

Abbreviations: CMV, Cytomegalovirus; QF, QuantiFERON®

Table 3: Predictors of protection against CMV-relapse

Characteristics	CMV-relapse status		Odds ratio [CI95]	p value
	Relapse (n = 5)	No Relapse (n = 10)		
Quantiferon® CMV status				
positive	3	6		
negative	2	4	1,00 [0.14 - 7.66]	> 0,99
D/R status				
D+/R-	1	2		
D+/R+	4	5		
D-/R+	0	2		na
D-/R-	0	1		
Age, mean [CI95], years	45 [34,7 ; 63,3]	47 [34,5 ; 53,5]		0,74
Gender				
Female	4	5		
Male	1	5		0,58
Induction				
Anti-thymocyte Globulin	7	7		
Basiliximab	1	0		> 0,99
Everolimus in the 3 months following initial infection				
everolimus	1	4		
no everolimus	4	6	0,38 [0,03-4,12]	0,60
Treated Rejection				
No	3	5		
Yes	2	5		> 0,99
CMV initial infection type				
Replication	4	6		
Disease	1	4		0,60
Median maximal viral load at initial infection (range, IU/mL)	2349 (482-239883)	10993 (1479-810321)		0,31
Duration of CMV prophylaxis (days)				
Primary, median (range)	97 (91-112)	129 (88-234)		0,31
Secondary, median (range)	148 (4-270)	141 (0-252)		0,21
Lymphocyte count (≤ 1 month before or after QF-CMV, /mm ³)				
CD4, mean (range)	158 (105-250)	160 (24-399)		> 0,99
CD8, mean (range)	237 (131-496)	314 (33-780)		> 0,99

Abbreviations: CMV, Cytomegalovirus; QF-CMV, QuantIFERON® CMV; D, donor; R, recipient; na, not applicable

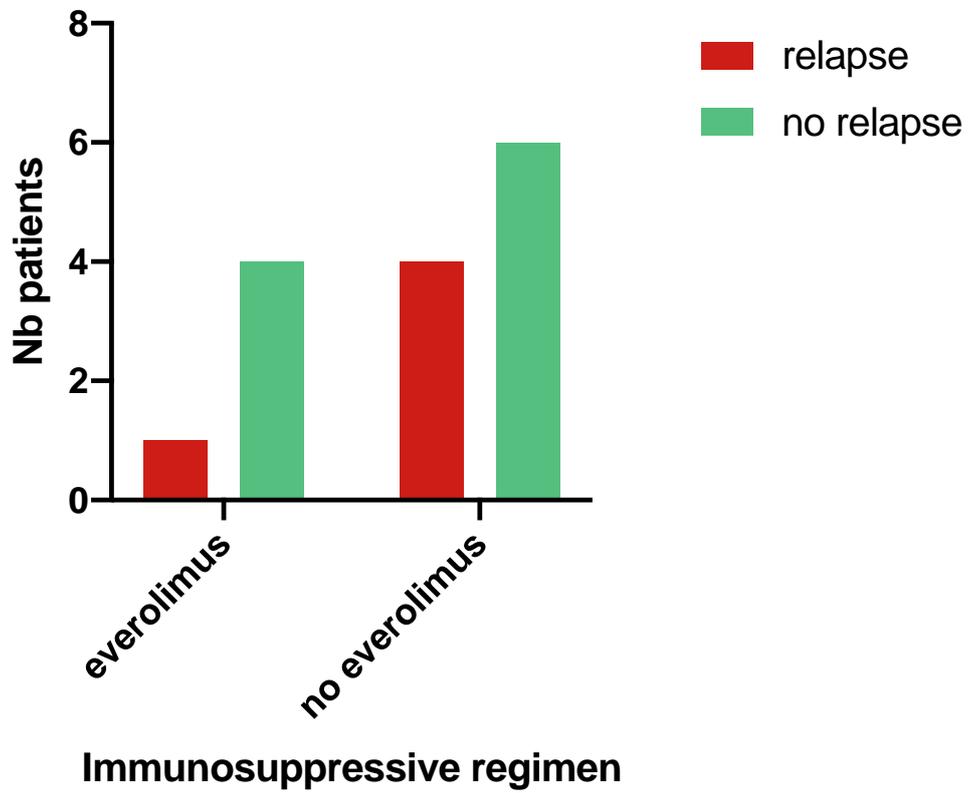
Table 4: Details on CMV relapsing patients despite positive QF-CMV

N°	Age	Gender	Time to QF-CMV (months)	CMV status	1 st episode	Relapse	Duration 1 st episode (days)	Secondary prophylaxis duration (days)	Prednisone at relapse (mg/day)	Induction	Treated rejection	Everolimus before recurrence	MG-tube, IU/mL	CMV-tube, IU/mL
1	70	M	11	D+/R+	Replication	Disease	11	270	7.5	Basiliximab	Yes	No	3.9	25
2	61	F	20	D+/R+	Replication	Replication	39	4	25	ATG	No	No	0,729	1,401
3	32	F	12	D+/R-	Replication	Replication	128	148	5	ATG	No	Yes	10	6,31

Abbreviations: CMV, Cytomegalovirus; QF-CMV, QuantiferON® CMV; D, donor; R, recipient; ATG, anti-thymocyte globulin; MG, mitogen

Figure 1: CMV-relapse among everolimus-containing immunosuppressive regimen in ATG-induced heart-transplant recipient

Red bar, CMV-relapse experiencing patients (number of patients); green bar, no CMV-relapse.



REFERENCES

1. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. *Transplantation*. 2018;102(6):900-931. doi:10.1097/TP.0000000000002191
2. Merigan TC, Renlund DG, Keay S, et al. A Controlled Trial of Ganciclovir to Prevent Cytomegalovirus Disease after Heart Transplantation. *NEJM*. 1992. doi:10.1056/NEJM199204303261803
3. Humar A, Uknis M, Carlone-Jambor C, Gruessner RW, Dunn DL, Matas A. Cytomegalovirus Disease Recurrence After Ganciclovir Treatment In Kidney And Kidney-Pancreas Transplant Recipients. *Transplantation*. 1999;67(1):94-97.
4. van den Berg AP, van Son WJ, Haagsma EB, et al. Prediction of recurrent cytomegalovirus disease after treatment with ganciclovir in solid-organ transplant recipients. *Transplantation*. 1993;55(4):847-851. doi:10.1097/00007890-199304000-00031
5. Åsberg A, Humar A, Rollag H, et al. Oral Valganciclovir Is Noninferior to Intravenous Ganciclovir for the Treatment of Cytomegalovirus Disease in Solid Organ Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation*. 2007;7(9):2106-2113. doi:10.1111/j.1600-6143.2007.01910.x
6. Limaye AP, Corey L, Koelle DM, Davis CL, Boeckh M. Emergence of ganciclovir-resistant cytomegalovirus disease among recipients of solid-organ transplants. *The Lancet*. 2000;356(9230):645-649. doi:10.1016/S0140-6736(00)02607-6
7. El Chaer F, Shah DP, Chemaly RF. How I treat resistant cytomegalovirus infection in hematopoietic cell transplantation recipients. *Blood*. 2016;128(23):2624-2636. doi:10.1182/blood-2016-06-688432
8. Hofmann E, Sidler D, Dahdal S, et al. Emergence of letermovir resistance in solid organ transplant recipients with ganciclovir resistant cytomegalovirus infection: A case series and review of the literature. *Transpl Infect Dis*. 2020. doi:10.1111/tid.13515
9. Razonable RR, Humar A. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients—Guidelines of the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clinical Transplantation*. 2019. doi:10.1111/ctr.13512
10. Fishman JA. Infection in Organ-Transplant Recipients. *The New England Journal of Medicine*. 1998. doi: 10.1056/NEJM199806113382407
11. Delgado JF, Reyne AG, de Dios S, et al. Influence of cytomegalovirus infection in the development of cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2015. doi:10.1016/j.healun.2015.03.015
12. Klimczak-Tomaniak D, Roest S, Brugts JJ, et al. The Association Between Cytomegalovirus Infection and Cardiac Allograft Vasculopathy in the Era of Antiviral Valganciclovir Prophylaxis. *Transplantation*. 2020. doi:10.1097/TP.0000000000003015

13. Orloff SL, Hwee YK, Kreklywich C, et al. Cytomegalovirus Latency Promotes Cardiac Lymphoid Neogenesis and Accelerated Allograft Rejection in CMV Naïve Recipients: CMV Latency Promotes Cardiac TLOs. *American Journal of Transplantation*. 2011;11(1):45-55. doi:10.1111/j.1600-6143.2010.03365.x
14. Jones IKA, Orloff S, Burg JM, et al. Blocking the IL-1 receptor reduces cardiac transplant ischemia and reperfusion injury and mitigates CMV-accelerated chronic rejection. *Am J Transplant*. 2021;21(1):44-59. doi:10.1111/ajt.16149
15. Yong MK, Slavin MA, Kontoyiannis DP. Invasive fungal disease and cytomegalovirus infection: is there an association? *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2018;31(6):481-489. doi:10.1097/QCO.0000000000000502
16. Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-second Official Adult Heart Transplantation Report—2015; Focus Theme: Early Graft Failure. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2015;34(10):1244-1254. doi:10.1016/j.healun.2015.08.003
17. Lund LH, Khush KK, Cherikh WS, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fourth Adult Heart Transplantation Report—2017; Focus Theme: Allograft ischemic time. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2017;36(10):1037-1046. doi:10.1016/j.healun.2017.07.019
18. Khush KK, Hsich E, Potena L, et al. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-eighth adult heart transplantation report — 2021; Focus on recipient characteristics. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2021;40(10):1035-1049. doi:10.1016/j.healun.2021.07.015
19. Broadley I, Pera A, Morrow G, Davies KA, Kern F. Expansions of Cytotoxic CD4+CD28- T Cells Drive Excess Cardiovascular Mortality in Rheumatoid Arthritis and Other Chronic Inflammatory Conditions and Are Triggered by CMV Infection. *Front Immunol*. 2017;8. doi:10.3389/fimmu.2017.00195
20. Pera A, Caserta S, Albanese F, et al. CD28^{null} pro-atherogenic CD4 T-cells explain the link between CMV infection and an increased risk of cardiovascular death. *Theranostics*. 2018;8(16):4509-4519. doi:10.7150/thno.27428
21. Garg A, Gianella S, Nakazawa M, Trout R, Spector SA. Association of Cytomegalovirus DNA and Immunologic Markers of Cardiovascular Disease. *Open Forum Infectious Diseases*. 2019;6(5):ofz113. doi:10.1093/ofid/ofz113
22. Potena L, Valentine HA. Cytomegalovirus-associated allograft rejection in heart transplant patients: *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2007;20(4):425-431. doi:10.1097/QCO.0b013e328259c33b
23. Mendez-Eirin E, Paniagua-Martín MJ, Marzoa-Rivas R, et al. Cumulative Incidence of Cytomegalovirus Infection and Disease After Heart Transplantation in the Last Decade: Effect of Preemptive Therapy. *Transplantation Proceedings*. 2012;44(9):2660-2662. doi:10.1016/j.transproceed.2012.09.035

24. Jorgenson MR, Descourouez JL, Lyu B, et al. The risk of cytomegalovirus infection after treatment of acute rejection in renal transplant recipients. *Clin Transplant*. 2019;33(8):e13636. doi:10.1111/ctr.13636
25. Sarmiento E, Fernández-Yáñez J, Muñoz P, et al. Hypogammaglobulinemia after heart transplantation: use of intravenous immunoglobulin replacement therapy in relapsing CMV disease. *International Immunopharmacology*. 2005;5(1):97-101. doi:10.1016/j.intimp.2004.09.006
26. Yamani MH, Avery RK, Mawhorter SD, et al. Hypogammaglobulinemia following cardiac transplantation: a link between rejection and infection. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2001;20(4):425-430. doi:10.1016/S1053-2498(00)00331-4
27. Sester M, Sester U, Gartner B, et al. Levels of virus-specific CD4 T cells correlate with cytomegalovirus control and predict virus-induced disease after renal transplantation. *Transplantation*. 2001;71(9):1287-1294.
28. Gardiner BJ, Nierenberg NE, Chow JK, Ruthazer R, Kent DM, Snyderman DR. Absolute Lymphocyte Count: A Predictor of Recurrent Cytomegalovirus Disease in Solid Organ Transplant Recipients. *Clinical Infectious Diseases*. 2018;67(9):1395-1402. doi:10.1093/cid/ciy295
29. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) Virus Load Kinetics to Predict Recurrent Disease in Solid-Organ Transplant Patients with CMV Disease. *The Journal of Infectious Diseases*. 2002;186(6):829-833. doi:10.1086/342601
30. Crough T, Khanna R. Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009;22(1):76-98. doi:10.1128/CMR.00034-08
31. Chiche L, Forel JM, Thomas G, et al. Interferon- γ production by natural killer cells and cytomegalovirus in critically ill patients: *Critical Care Medicine*. 2012;40(12):3162-3169. doi:10.1097/CCM.0b013e318260c90e
32. Ulbrecht M, Martinozzi S, Grzeschik M, et al. Cutting Edge: The Human Cytomegalovirus UL40 Gene Product Contains a Ligand for HLA-E and Prevents NK Cell-Mediated Lysis. *The Journal of Immunology*. 2000;164(10):5019-5022. doi:10.4049/jimmunol.164.10.5019
33. Varani S, Cederarv M, Feld S, et al. Human Cytomegalovirus Differentially Controls B Cell and T Cell Responses through Effects on Plasmacytoid Dendritic Cells. *The Journal of Immunology*. 2007;179(11):7767-7776. doi:10.4049/jimmunol.179.11.7767
34. Khairallah C, Déchanet-Merville J, Capone M. $\gamma\delta$ T Cell-Mediated Immunity to Cytomegalovirus Infection. *Front Immunol*. 2017;8. doi:10.3389/fimmu.2017.00105
35. Lim EY, Jackson SE, Wills MR. The CD4⁺ T Cell Response to Human Cytomegalovirus in Healthy and Immunocompromised People. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:202. doi:10.3389/fcimb.2020.00202

36. Halloran PF. Immunosuppressive Drugs for Kidney Transplantation. *The New England Journal of Medicine*. Published online 2004:15.
37. Walker S, Fazou C, Crough T, et al. Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8+ T-cell responses using QuantiFERON®-CMV. *Transplant Infectious Disease*. 2007;9(2):165-170. doi:10.1111/j.1399-3062.2006.00199.x
38. Hengel H, Koszinowski UH, Conzelmann KK. Viruses know it all: new insights into IFN networks. *Trends in Immunology*. 2005;26(7):396-401. doi:10.1016/j.it.2005.05.004
39. Cantisán S, Lara R, Montejo M, et al. Pretransplant Interferon- γ Secretion by CMV-Specific CD8+ T Cells Informs the Risk of CMV Replication After Transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2013;13(3):738-745. doi:10.1111/ajt.12049
40. Manuel O, Husain S, Kumar D, et al. Assessment of Cytomegalovirus-Specific Cell-Mediated Immunity for the Prediction of Cytomegalovirus Disease in High-Risk Solid-Organ Transplant Recipients: A Multicenter Cohort Study. *Clinical Infectious Diseases*. 2013;56(6):817-824. doi:10.1093/cid/cis993
41. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, et al. Initiation of Inappropriate Antimicrobial Therapy Results in a Fivefold Reduction of Survival in Human Septic Shock. *Chest*. 2009;136(5):1237-1248. doi:10.1378/chest.09-0087
42. Kumar D, Chernenko S, Moussa G, et al. Cell-Mediated Immunity to Predict Cytomegalovirus Disease in High-Risk Solid Organ Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation*. 2009;9(5):1214-1222. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02618.x
43. Chiereghin A, Potena L, Borgese L, et al. Monitoring of Cytomegalovirus (CMV)-Specific Cell-Mediated Immunity in Heart Transplant Recipients: Clinical Utility of the QuantiFERON-CMV Assay for Management of Posttransplant CMV Infection. Tang YW, ed. *Journal of Clinical Microbiology*. 2018;56(4). doi:10.1128/JCM.01040-17
44. Westall GP, Cristiano Y, Levvey BJ, et al. A Randomized Study of Quantiferon-CMV-Directed Versus Fixed Duration Valganciclovir Prophylaxis to Reduce Late CMV Following Lung Transplantation: *Transplantation*. Published online September 2018:1. doi:10.1097/TP.0000000000002454
45. Páez-Vega A, Gutiérrez-Gutiérrez B, Agüera ML, et al. Immunoguided Discontinuation of Prophylaxis for Cytomegalovirus Disease in Kidney Transplant Recipients Treated With Antithymocyte Globulin: A Randomized Clinical Trial. *Clinical Infectious Diseases*. Published online June 22, 2021:ciab574. doi:10.1093/cid/ciab574
46. Poglajen G, Zemljič G, Frljak S, et al. QuantiFERON-CMV guided virostatic prophylaxis after heart transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2020;39(3):278-281. doi:10.1016/j.healun.2020.01.001
47. Kumar D, Mian M, Singer L, Humar A. An Interventional Study Using Cell-Mediated Immunity to Personalize Therapy for Cytomegalovirus Infection After Transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2017;17(9):2468-2473. doi:10.1111/ajt.14347

48. Agence de la Biomédecine. Une hausse de 19,3% des greffes d'organes en 2021. Agence de la biomédecine. Published January 12, 2022. Accessed January 25, 2022. <https://presse.agence-biomedecine.fr/une-hausse-de-193-des-greffes-dorganes-en-2021-grace-a-la-mobilisation-et-lengagement-de-tous-les-professionnels-de-la-chaine-du-don-a-la-greffe/>
49. Costanzo MR, Costanzo MR, Dipchand A, et al. The International Society of Heart and Lung Transplantation Guidelines for the care of heart transplant recipients. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2010;29(8):914-956. doi:10.1016/j.healun.2010.05.034
50. Briasoulis A, Inampudi C, Pala M, Asleh R, Alvarez P, Bhama J. Induction immunosuppressive therapy in cardiac transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Heart Fail Rev*. 2018;23(5):641-649. doi:10.1007/s10741-018-9691-2
51. Ansari D, Lund LH, Stehlik J, et al. Induction with anti-thymocyte globulin in heart transplantation is associated with better long-term survival compared with basiliximab. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2015;34(10):1283-1291. doi:10.1016/j.healun.2015.04.001
52. Zuckermann A, Schulz U, Deuse T, et al. Thymoglobulin induction in heart transplantation: patient selection and implications for maintenance immunosuppression. *Transpl Int*. 2015;28(3):259-269. doi:10.1111/tri.12480
53. Nozohoor S, Stehlik J, Lund LH, Ansari D, Andersson B, Nilsson J. Induction immunosuppression strategies and long-term outcomes after heart transplantation. *Clin Transplant*. 2020;34(7). doi:10.1111/ctr.13871
54. Penninga L, Møller CH, Gustafsson F, Gluud C, Steinbrüchel DA. Immunosuppressive T-cell antibody induction for heart transplant recipients. Cochrane Heart Group, ed. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013. doi:10.1002/14651858.CD008842.pub2
55. Kho MML, Bouvy AP, Cadogan M, Kraaijeveld R, Baan CC, Weimar W. The effect of low and ultra-low dosages Thymoglobulin on peripheral T, B and NK cells in kidney transplant recipients. *Transplant Immunology*. 2012;26(4):186-190. doi:10.1016/j.trim.2012.02.003
56. Lerner AH, Farmakiotis D. CMV cell-mediated immunity assays: Focus on CD4+ cells. *American Journal of Transplantation*. 2020;20(8):2285-2286. doi:10.1111/ajt.15866
57. Jackson SE, Sedikides GX, Mason GM, Okecha G, Wills MR. Human Cytomegalovirus (HCMV)-Specific CD4+ T Cells Are Polyfunctional and Can Respond to HCMV-Infected Dendritic Cells In Vitro. *Journal of Virology*. 2017. doi:10.1128/JVI.02128-16
58. Kaminski H, Ménard C, El Hayani B, et al. Characterization of a Unique $\gamma\delta$ T-Cell Subset as a Specific Marker of Cytomegalovirus Infection Severity. *The Journal of Infectious Diseases*. 2021;223(4):655-666. doi:10.1093/infdis/jiaa400
59. Natori Y, Humar A, Husain S, et al. Recurrence of CMV Infection and the Effect of Prolonged Antivirals in Organ Transplant Recipients. *Transplantation*. 2017;101(6):1449-1454. doi:10.1097/TP.0000000000001338

60. Holdaas H, De Simone P, Zuckermann A. Everolimus and Malignancy after Solid Organ Transplantation: A Clinical Update. *Journal of Transplantation*. 2016;2016:1-11. doi:10.1155/2016/4369574
61. Eisen HJ, Kobashigawa J, Starling RC, et al. Everolimus Versus Mycophenolate Mofetil in Heart Transplantation: A Randomized, Multicenter Trial. *American Journal of Transplantation*. 2013;13(5):1203-1216. doi:https://doi.org/10.1111/ajt.12181
62. Díaz Molina B, Velasco Alonso E, Lambert Rodríguez JL, et al. Effect of Early Conversion to Everolimus Together With Prophylaxis With Valganciclovir in the Prevention of Cytomegalovirus Infection in Heart Transplant Recipients. *Transplantation Proceedings*. 2015;47(1):130-131. doi:10.1016/j.transproceed.2014.11.026
63. Pascual J, Berger SP, Witzke O, et al. Everolimus with Reduced Calcineurin Inhibitor Exposure in Renal Transplantation. *JASN*. 2018;29(7):1979-1991. doi:10.1681/ASN.2018010009
64. Kaminski H, Marseres G, Yared N, et al. mTOR Inhibitors Prevent CMV Infection through the Restoration of Functional $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells in Kidney Transplantation. *JASN*. 2022;33(1):121-137. doi:10.1681/ASN.2020121753
65. Páez-Vega A, Cantisán S, Agüera ML, et al. Pretransplant CMV-specific T-cell immunity but not dose of antithymocyte globulin is associated with recovery of specific immunity after kidney transplantation. *The Journal of Infectious Diseases*. 2020. doi:10.1093/infdis/jiaa503
66. Mian M, Natori Y, Ferreira V, et al. Evaluation of a Novel Global Immunity Assay to Predict Infection in Organ Transplant Recipients. *Clinical Infectious Diseases*. 2018;66(9):1392-1397. doi:10.1093/cid/cix1008
67. Kumar D, Chin-Hong P, Kayler L, et al. A prospective multicenter observational study of cell-mediated immunity as a predictor for cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients. *American Journal of Transplantation*. 2019. doi:10.1111/ajt.15315
68. Fernández-Ruiz M, Giménez E, Vinuesa V, et al. Regular monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity in intermediate-risk kidney transplant recipients: predictive value of the immediate post-transplant assessment. *Clinical Microbiology and Infection*. Published online May 2018. doi:10.1016/j.cmi.2018.05.010
69. Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Journal of Clinical Epidemiology*. 2008;61(4):344-349. doi:10.1016/j.jclinepi.2007.11.008
70. Yong MK, Lewin SR, Manuel O. Immune Monitoring for CMV in Transplantation. *Current Infectious Disease Reports*. 2018;20(4). doi:10.1007/s11908-018-0610-4
71. Abate D, Fiscon M, Saldan A, et al. Human Cytomegalovirus-Specific T-Cell Immune Reconstitution in Preemptively Treated Heart Transplant Recipients Identifies Subjects at Critical Risk for Infection. *Journal of Clinical Microbiology*. Published online June 2012. doi:10.1128/JCM.06406-11

AUTEUR : Nom : SERMET

Prénom : Kevin

Date de soutenance : 18/03/2022

Titre de la thèse : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE LA PROPHYLAXIE REPOSANT SUR LE QUANTIFERON®-CMV CHEZ LE PATIENT TRANSPLANTÉ CARDIAQUE

Thèse - Médecine - Lille - 2022

Cadre de classement : Médecine

DES : Maladies Infectieuses et Tropicales

Mots-clés : Quantiferon®-CMV, Cytomégalovirus, Transplantation cardiaque, Everolimus

Résumé :

Contexte : Le Cytomégalovirus (CMV) est responsable d'infections complexes chez le patient transplanté d'organe solide (TOS), en particulier cardiaque, et dégrade le pronostic de la greffe à court et long terme. Après une première infection à CMV, 30% des patients TOS présentent une récurrence. Ce taux justifie une prophylaxie secondaire dans certains centres sans consensus établi à ce jour. De nouveaux tests de l'immunité cellulaire anti-CMV comme le QuantiFERON®-CMV (QF-CMV) pourraient permettre de guider la prophylaxie secondaire, notamment en l'arrêtant si le résultat est positif. L'objectif de ce travail est d'évaluer la capacité du QF-CMV à prédire la récurrence et optimiser la durée de prophylaxie secondaire en transplantation cardiaque. Il a également compris la mise en place de ce test en suivi hors infection, avant et à 3, 6 et 12 mois après la greffe.

Matériels et Méthodes : Une étude rétrospective monocentrique a été conduite au CHU de Lille, incluant 15 patients transplantés cardiaques ayant présenté une première infection à CMV de janvier 2018 à décembre 2020. Un QF-CMV était réalisé systématiquement en fin d'infection. Les critères de jugement principaux incluaient la durée de prophylaxie secondaire et la survenue d'une récurrence d'infection à CMV. Les autres facteurs potentiellement prédictifs de récurrence ont été recueillis.

Résultats : Après un suivi de 18 mois suivant la fin de prophylaxie primaire, 5 (33%) patients ont présenté une récurrence dont 3 avaient un QF-CMV positif. Aucun autre facteur recueilli n'était associé à la survenue d'une récurrence, incluant la maladie à CMV, le régime d'immunosuppression de maintenance ou d'induction (14/15 patients ont reçu une induction par Sérum Anti-Lymphocytaire -SAL-), le rejet traité, le statut Donneur/Receveur, ou le taux de lymphocytes T CD4+. Toutefois, seulement 1/5 patient recevant de l'everolimus a présenté une récurrence. La médiane de durée de prophylaxie secondaire était de 130 jours sans différence significative que le QF-CMV soit positif ou négatif.

Conclusion : Le QF-CMV n'a pas permis, dans cette étude de patients transplantés cardiaques recevant du SAL en thérapie d'induction, d'améliorer la prédiction de la récurrence d'infection à CMV ni d'optimiser la durée de prophylaxie secondaire. Le positionnement du QF-CMV dans cette indication doit tenir compte de la stratégie de prophylaxie secondaire, de la thérapie d'induction et des habitudes du centre. L'utilisation du QF-CMV pour guider la prophylaxie primaire doit faire l'objet d'autres études.

Composition du Jury :

Présidente : Pr Karine FAURE

Assesseures : Pr Sophie ALAIN, Dr Céline GOEMINNE, Dr Fanny VUOTTO

Directrice de thèse : Dr Fanny VUOTTO