



**HAL**  
open science

## Place des tests immunitaires fonctionnels dans la prise en charge du risque infectieux et de la gestion des thérapies immunosuppressives chez les patients immunodéprimés non-VIH

M. Boccard, C. Albert-Vega, W. Mouton, I. Durieu, K. Brengel-Pesce, F. Venet, S. Trouillet-Assant, F. Ader

### ► To cite this version:

M. Boccard, C. Albert-Vega, W. Mouton, I. Durieu, K. Brengel-Pesce, et al.. Place des tests immunitaires fonctionnels dans la prise en charge du risque infectieux et de la gestion des thérapies immunosuppressives chez les patients immunodéprimés non-VIH. *La Revue de Médecine Interne*, 2020, 41, pp.545 - 551. 10.1016/j.revmed.2020.04.008 . hal-03492205

**HAL Id: hal-03492205**

**<https://hal.science/hal-03492205>**

Submitted on 14 Sep 2022

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

## **Place des tests immunitaires fonctionnels dans la prise en charge du risque infectieux et de la gestion des thérapies immunosuppressives chez les patients immunodéprimés non-VIH**

### ***Functional immunoassays in the setting of infectious risk and immunosuppressive therapy of non-HIV immunocompromised patients.***

M. Boccard<sup>1,2,3,#</sup>, C. Albert-Vega<sup>3</sup>, W. Mouton<sup>3,5</sup>, I. Durieu<sup>2</sup>, K. Brengel-Pesce<sup>3</sup>, F. Venet<sup>3,7,8</sup>, S. Trouillet-Assant<sup>3</sup>, F. Ader<sup>1,4,5</sup>

#### **Affiliations :**

<sup>1</sup>Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Inserm 1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École Normale Supérieure de Lyon, Univ Lyon, F-69007, Lyon, France.

<sup>2</sup>Département de Médecine Interne et Vasculaire, Hospices Civils de Lyon, F-69310, Pierre-Bénite, France.

<sup>3</sup>Joint Research Unit, Hospices Civils de Lyon-BioMérieux, Lyon, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Pierre Bénite, 69495 Lyon, France

<sup>4</sup>Département des Maladies infectieuses et tropicales, Hospices Civils de Lyon, F-69004, Lyon, France.

<sup>5</sup>Faculté de Médecine Lyon Est, Virpath-Université Lyon, CIRI, INSERM U1111, CNRS 5308, ENS, UCBL, Lyon, France

<sup>6</sup>Hospices Civils de Lyon, Edouard Herriot Hospital, Laboratoire d'Immunologie, F-69003, Lyon, France

<sup>7</sup>Laboratoire d'Immunologie, Hospices Civils de Lyon, F-69008, Lyon, France.

<sup>8</sup>EA7426 UCBL1-HCL-bioMérieux Pathophysiology of Injury-induced Immunosuppression, Lyon, France.

**#Auteur correspondant** : Mathilde Boccard, Département de Médecine Interne et Vasculaire, Centre Hospitalier de Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France. ☎ : +33 (0)6 48 31 54 13 ; ✉: mathilde.boccard@chu-lyon.fr

**<sup>5</sup>Au nom du Lyon HEMINF study group** : F. Ader, V. Alcazer, E. Bachy, M. Balsat, F. Barraco, M. Boccard, G. Billaud, C. Chidiac, A. Conrad, S. Ducastelle-Leprêtre, O. Dumitrescu, D. Dupont, V. Escuret, T. Ferry, E. Frobert, H. Ghesquières, M. Heiblig, H. Labussière-Wallet, M-V. Larcher, F. Laurent, B. Lina, G. Lina, C. Malcus, J. Menotti, P. Miaillhes, G. Monneret, F. Morfin-Sherpa, T. Perpoint, F. Poitevin-Latter, M. Rabodonirina, M. Renault, C. Roure-Sobas, G. Salles, X. Thomas, S. Trouillet-Assant, F. Valour, F. Venet, F. Wallet, M. Wallon.

## **ABSTRACT**

L'approche holistique du système immunitaire humain repose sur l'analyse de ses composants déterminant collectivement une réponse à un stimulus immunogène. L'étude de la réponse immunitaire induite *ex vivo* est basée sur la reproduction d'une condition pour mesurer une altération immunitaire fonctionnelle. Les domaines d'application de ces tests de fonctionnalité immunitaire sont vastes et croissants, allant du diagnostic des déficits immunitaires primaires ou secondaires, à l'immunothérapie dans le cancer, à la gestion du risque infectieux dont l'immunoprophylaxie vaccinale. Ces tests sont des outils de monitoring immunitaire contribuant à une évolution des pratiques vers une médecine de précision et personnalisée.

Le but de cette revue est de présenter les tests immunitaires fonctionnels disponibles dans le contexte des déficits immunitaires secondaires non-VIH. Leurs intérêts seront d'abord expliqués dans le contexte du risque infectieux (notamment des réactivations virales), puis dans le domaine de la vaccination et de la gestion des thérapies immunosuppressives.

## **ABSTRACT**

*The holistic approach of the human immune system is based on the study of its components collectively driving a functional response to an immunogenic stimulus. To appreciate a specific immune dysfunction, a condition is mimicked ex vivo and the immune response induced is assessed. The application field of such assays are broad and expanding, from the diagnosis of primary and secondary immunodeficiencies, immunotherapy for cancer to the management of patients at-risk for infections and vaccination. These assays are immune monitoring tools that may contribute to a personalized and precision medicine.*

*The purpose of this review is to describe immune functional assays available in the setting of non-HIV acquired immune deficiency. First, we will address the use of these assays in the diagnosis of opportunistic infections such as viral reactivation. Secondly, we will report the usefulness of these assays to assess vaccine efficacy and to manage immunosuppressive therapies.*

## **Mots clés :**

Immunodépression, monitoring immunitaire, risque infectieux, transplantation, vaccination

## **Keywords:**

*Immunosuppression, immunomonitoring, infectious risk, transplantation, vaccination*

**Mots/Counts** : résumé : 150 ; texte : 4368 mots

## INTRODUCTION

Le système immunitaire est un système complexe, organisé en réseaux interconnectés capable de déployer des stratégies d'adaptation, de compensation et de redondance fonctionnelle pour maintenir un état d'homéostasie [1]. Son rôle principal est la défense de l'organisme contre des agressions internes ou externes. Ainsi, une ou des cascade(s) d'événement(s) générant un déséquilibre durable du système peut aboutir à une pathologie aiguë ou chronique déterminée par un excès ou une insuffisance de réponse immunitaire (susceptibilité aux infections, inflammation, auto-immunité, allergie, oncogenèse) [2,3].

Le système immunitaire comprend une multitude de composants cellulaires et moléculaires répartis dans tout l'organisme et rapidement mobilisables. La connaissance des mécanismes régissant son fonctionnement a considérablement progressé en peu de temps, favorisée par des avancées majeures telles que la vaccination, les techniques de transplantations, jusqu'aux immunothérapies actuelles en plein essor [3]. Outre sa composition, la complexité de ce système tient aussi à la succession de phénomènes dynamiques. Ainsi, les tests disponibles en routine comme le compte cellulaire, la mesure de marqueurs solubles ou de surface (cytokines, anticorps ou système du complément) et l'analyse du phénotype cellulaire en cytométrie de flux ont leurs limites et peuvent méconnaître des altérations fonctionnelles. Contrairement à ces marqueurs traditionnels explorant des déficits quantitatifs ou phénotypiques, les tests évaluant la réponse immunitaire induite après stimulation ont pour but de mimer une condition *in vivo* permettant d'appréhender une altération immunitaire fonctionnelle [4]. Ces tests que nous appellerons IFAs, acronyme anglophone de « Immune Functional Assays », sont connus depuis longtemps, en l'occurrence lors des premiers essais antivarioliques. Depuis, ils sont accessibles en routine dans le cadre nosologique de l'infection tuberculeuse latente (*i.e.* intradermoréaction à la tuberculine ou test de production d'interféron [IFN]- $\gamma$ ) et le diagnostic des déficits immunitaires primitifs [5]. Actuellement, ils font partis du panel ou « immunomonitoring » des patients atteints de déficit immunitaire, pour des prises en charge liées à la vaccinologie, l'infectiologie, la transplantation d'organes solides (TOS) et de cellules souches hématopoïétiques (CSH), l'allergologie, la cancérologie et les immunothérapies plus récentes [6]. L'enjeu actuel est le positionnement des IFAs dans le concept plus large « d'immunologie des systèmes ». Ce concept résulte de la rapidité des avancées technologiques à partir d'un échantillon sanguin et la capacité à générer et à analyser une somme très importante de données à une échelle individuelle. Cela permet de développer une approche translationnelle, connectant la pratique médicale clinique aux avancées fondamentales et technologiques (« from bench to bedside ») [1,7]. Dans une optique de médecine personnalisée, son but est la stratification des patients et la modélisation de biomarqueurs accessibles et reproductibles [1]. La possibilité de « cartographier »

un statut immunitaire est une avancée majeure en immunologie clinique, car l'application des connaissances développées à partir des modèles expérimentaux mammifères (le plus souvent murins) s'est avérée souvent limitée [4].

L'objet de cette revue est de décrire les applications des IFAs dans l'immunomonitoring des déficits immunitaires acquis, notamment au sein de populations dont le nombre et la diversité croissent, tels que les receveurs de TOS ou de CSH (hors infection par le VIH).

## **I. IFAs et risques infectieux**

Le développement des IFAs est particulièrement adapté au domaine de l'infectiologie car ils permettent de quantifier la réponse immunitaire contre un microorganisme grâce à une stimulation *ex vivo* d'un agent immunogène précis. Actuellement, les IFAs sont utilisés comme marqueurs biologiques pour l'évaluation du risque infectieux lié à une pathologie affectant le système immunitaire ou lié à une immunodépression induite par des thérapies. Ils permettent également d'évaluer l'efficacité vaccinale notamment lorsque la réponse vaccinale est impactée en cas d'immunosénescence et d'immunodépression secondaire.

Citons d'abord leur développement dans la prise en charge de l'infection à *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). La réponse immunitaire cellulaire joue un rôle pivot dans le contrôle de l'infection *via* la production d'interféron-gamma (IFN- $\gamma$ ). La détection de l'infection tuberculeuse latente est l'élément majeur du dispositif préemptif visant à diminuer le risque de tuberculose maladie. Dans ce cas, la mise en culture d'un échantillon par les techniques classiques de microbiologie pour l'identification du Mtb est vouée à l'échec. Outre la classique intradermoréaction décrite par Koch *et al.* en 1890 qui mesure la réponse d'hypersensibilité retardée dépendante des lymphocytes T *in vivo* après exposition intradermique à la protéine ubiquitaire mycobactérienne tuberculine. Les tests récents cherchent à améliorer les performances diagnostiques *ex vivo*. Il s'agit de tests appelés Interferon-Gamma Release Assays (IGRAs) détectant l'IFN- $\gamma$  sécrété après stimulation du sang total par des antigènes spécifiques de Mtb [5]. La détection de production d'IFN- $\gamma$  quantifiée en comparaison aux contrôles simultanés négatif et positif indique la présence dans l'échantillon de sang total de lymphocytes T réactifs à la présentation spécifique de l'antigène Mtb. Cette réponse indique un signal mémoriel sans discrimination temporelle de la primo-infection ni valeur prédictive positive du développement ultérieur d'une tuberculose maladie. En conséquence, les IGRAs ne permettent pas la distinction entre une infection tuberculeuse latente et une tuberculose maladie. Ce test à la spécificité élevée est indiqué dans les cas suivants : (1) pour l'enquête autour d'un cas confirmé ; (2) lors de l'embauche des professionnels à risque d'exposition, dont les professionnels de santé ; (3) pour l'aide à l'orientation diagnostique des formes extra-pulmonaires de la tuberculose-maladie ; (4) avant la mise en route d'un traitement par anti-TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor-alpha) ; (5)

chez le patient infecté par le VIH ; (6) chez les enfants migrants de moins de 15 ans [8]. Deux IGRA commerciaux sont disponibles en France : le QuantiFERON-TB Gold in Tube® et le -SPOT-TB®. Le premier quantifie la production *ex vivo* d'IFN- $\gamma$  après stimulation de sang total par les protéines spécifiques du Mtb (ESAT-6, CFP10 et TB7.7) grâce à la technique ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Le deuxième test repose sur l'utilisation de la technique ELISpot (Enzyme-Linked ImmunoSorbent spot). Il s'agit d'une stimulation par des protéines spécifiques du Mtb (ESAT-6 et CFP10) d'un nombre défini de cellules mononuclées du sang périphériques préalablement purifiées, le nombre de spots mesuré révèle la quantité d'IFN- $\gamma$  sécrétée à l'échelle cellulaire ce qui suggère une meilleure sensibilité de ce test. Ainsi le SPOT-TB® est préférablement utilisé en routine chez les patients immunodéprimés ou avant la mise en route d'un traitement par anti-TNF $\alpha$ . Même si la sensibilité des IGRA est supérieure à celle de l'IDR dans ces contextes, le manque de données comparant ces deux IGRA suggère de combiner leur résultat en cas d'incertitude [9,10].

Des travaux en cours testent le principe de l'IGRA en réponse à une adhésine de membrane de Mtb nommée HBHA (Heparin Binding Haemagglutinin Adhesin), ligand immunogène puissant des lymphocytes T (en particulier des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> disposant d'une fonction cytotoxique) associés à l'immunisation contre la maladie [11]. Les premiers résultats cliniques suggèrent que l'IGRA HBHA serait un test immunologique diagnostique de tuberculose maladie et possiblement pronostique dans la mesure où une forte réactivité à la protéine HBHA serait associée à un contrôle de la maladie [12].

#### **A. IFAs et réactivations virales chez le patient immunodéprimé**

Le domaine d'application de l'IGRA concerne aussi les virus, notamment dans le contexte de TOS ou de transplantation de CSH. Dans le contexte de la TOS, la prise d'immunosuppresseurs antirejet à vie est responsable d'une dysimmunité cellulaire, parfois aggravée par des facteurs en lien avec la maladie sous-jacente ou des comorbidités associées. Dans le contexte de transplantation de CSH, les traitements immunosuppresseurs sont en théorie stoppés dans des délais variables selon le type d'hémodopathie sous-jacente et les modalités de transplantation. Néanmoins, après une transplantation allogénique de CSH, la présence d'une maladie du greffon contre l'hôte peut nécessiter le maintien d'un traitement immunosuppresseur. Dans ces circonstances, la latence de certains pathogènes endogènes opportunistes ne peut être maintenue en l'état par une immunité cellulaire sous-optimale, avec des conséquences sur le pronostic de la greffe et la survie des receveurs [13,14].

Les principaux virus concernés appartiennent à la famille des *Herpesviridae*, comme le cytomégalovirus (CMV), le virus d'Epstein-Barr (EBV) et le virus de la varicelle-zona (VZV), herpes virus humain 6 (HHV-6). La plupart des réactivations virales sont accessibles à des stratégies

thérapeutiques prophylactiques et préemptives guidées par le suivi des charges virales sanguines mesurées par *polymerase chain reaction* (PCR). Comme déjà évoqué, la problématique est de disposer d'outils de mesure du seuil immunitaire permettant de prédire le risque de réactivation virale et d'adapter le traitement prophylactique.

### 1. IFAs et Cymétomégalovirus

Les principales études concernent la détection de réactivation du CMV dont la prévalence atteint 37% après transplantation allogénique de CSH et 30% après TOS [15]. L'infection de l'hôte par le CMV est responsable d'une augmentation de la morbi-mortalité en lien avec des effets pathogènes directs (maladie à CMV) et indirect en affectant le greffon *via* une immunomodulation [13].

Le principe de ces tests repose sur la mesure *ex vivo* de l'immunité cellulaire spécifique anti-CMV après stimulation par des antigènes du virus [16,17]. En dehors de protocoles individuels utilisés dans les laboratoires, il existe deux principaux tests validés par le Consensus International du CMV et possédant le certificat de *Conformité Européenne* pour le monitoring de l'immunité cellulaire anti-CMV dans les TOS [16–18].

Le premier test appelé QuantiFERON-CMV® (QF-CMV, Cellestis, QIAGEN, Melbourne, Australia), est le plus fréquemment utilisé et le plus simple. Il repose sur la quantification d'IFN- $\gamma$  produit par les lymphocytes TCD8<sup>+</sup> après stimulation de sang total *ex vivo* par un ensemble d'épitopes de protéines immunogènes du CMV (incluant la gB, l'IE-1, la pp65 et la pp50, qui sont spécifiques des molécules HLA de classe I) préalablement coatés dans un tube de prélèvement standardisé puis quantifiés par un test ELISA. Ce test a été évalué dans différentes problématiques liées à la réactivation CMV après TOS comme : (1) la stratification du risque de réactivation en fonction du test réalisé en pré-greffe chez les receveurs CMV-séropositives (R+); (2) la prédiction d'une occurrence tardive après arrêt de la prophylaxie en cas de donneur CMV-séropositif et receveur CMV-séronégatif (D+/R-); (3) la mise en évidence d'une protection immunitaire cellulaire spécifique efficace en lien avec des virémies CMV asymptomatiques chez les receveurs D+/R+; (4) la prédiction de récurrence de maladie ou virémie à CMV chez les receveurs R+ recevant un traitement préemptif ou une prophylaxie secondaire [19–22]. Ces études montrent l'intérêt de réaliser l'immunomonitoring anti-CMV pour guider la prophylaxie antivirale de manière personnalisée [22].

Le deuxième test nommé T-Track CMV® (Lophius Biosciences GmbH, Regensburg, Germany) repose sur un test ELISpot. Il a montré un intérêt similaire, voire supérieur à celui du QF-CMV® en termes de prédiction du risque de réactivation CMV dans la greffe rénale [23–25]. L'inconvénient de ce test est lié à sa technique qui entraîne un coût et un temps de manipulation élevé ainsi que l'absence de seuil de significativité universel.

Les deux tests cités ci-dessus appliqués à une cohorte de 94 receveurs de transplantation allogénique de CSH ont montré une association significative entre une faible production d'IFN- $\gamma$  par les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> et le risque de réactivation et de maladie à CMV avec des valeurs prédictives positive et négative élevées (83 et 98% respectivement) [26]. Les auteurs soulignent les avantages techniques pour des résultats similaires en faveur du QF-CMV<sup>®</sup>. Le QF-CMV<sup>®</sup> a également été évalué dans plusieurs cohortes pédiatriques d'allogreffes de CSH montrant son intérêt dans l'immunomonitoring de la réactivation CMV et sa récurrence [27].

Face à ces tests, la mesure de la prolifération lymphocytaire T en réponse à un antigène de rappel comme le CMV est largement utilisée dans le contexte de protocole de laboratoire individuel [4,28]. Mais la reproductibilité inter laboratoire de ces tests n'est pas connue du fait d'un manque de standardisation et leur utilisation est plus complexe que celle des IGRA. Le principe de ce test est d'évaluer *ex vivo* la capacité de réponse des lymphocytes T en réponse à une stimulation non spécifique par des mitogènes ou antigènes (viral ou bactérien...) induisant la division cellulaire. Des marqueurs de division cellulaire sont utilisés pour mesurer la capacité de prolifération évaluée en cytométrie de flux. L'alternative au marqueur radioactif de la thymidine tritiée est l'utilisation de l'ester carboxyfluoroscéine succinimidyle (CFSE) ou le laser violet colorants excitables (CellTrace Violet : CTV). Plus récemment, le 5-éthynyl-2'-desoxyuridine (EdU) vient remplacer l'utilisation du 5-bromo-2'-désoxyuridine (BrdU) car il permet d'éviter la dénaturation de l'ADN permettant une meilleure reproductibilité et d'améliorer la complexité des protocoles [29].

## **2. IFAs et autres réactivations virales de l'immunodéprimé (EBV, BK polyomavirus, VZV)**

Par analogie, les IGRA ont été étudiées pour d'autres réactivations virales dans le contexte de TOS ou transplantation de CSH, comme la réactivation EBV et BK polyomavirus (BKPyV). Après la greffe, la réactivation EBV peut induire une lymphoprolifération maligne (répondant à l'acronyme anglophone de PTLD, post-transplant lymphoproliferative disease) dans moins de 2% des cas et peut atteindre 20% dans les cas de forte immunosuppression, ce qui amène à proposer des stratégies de thérapie préemptive *via* l'administration de l'anticorps monoclonal chimérique spécifique des lymphocytes B anti-CD20<sup>+</sup> [30]. En dépit du fait que le site de latence à vie de l'EBV soit les lymphocytes B, il est démontré que le contrôle de la réactivation à EBV est sous le contrôle des lymphocytes T cytotoxiques [31]. En cohérence, des travaux ont démontré la possibilité de mesurer la réponse immunitaire cellulaire T EBV-spécifique mais l'application en pratique clinique reste pour l'instant limitée [17]. Par exemple, la technique d'ELISpot en réponse à des peptides d'EBV (EBNA) combinée à la charge virale EBV permet de guider la prophylaxie anti-infectieuse après TOS et greffe de CSH [32,33]. Quant au BKPyV, responsable de néphropathie et rejet après greffe rénale, les résultats des



études préliminaires basées sur la technique ELISpot (après stimulation par des particules antigéniques du BKPyV) étaient en faveur d'une élimination du virus en cas de sécrétion d'IFN- $\gamma$  plus élevée. Ces résultats soulignent l'utilité de ces tests pour guider la gestion des immunosuppresseurs après TOS et diminuer le risque de rejet de greffon [34].

Dans la greffe de CSH, l'intérêt d'un immunomonitoring de l'immunité cellulaire T anti-VZV a été démontré mais il n'existe pas en routine de kit commercial standardisé. Après la greffe de CSH, le déclin immunitaire expose à des complications de la réactivation à VZV, de la névralgie post-zostérienne au zona viscéral disséminé mettant en jeu le pronostic vital. *Ex vivo*, des tests de prolifération lymphocytaire après stimulation de cellules mononucléées du sang périphérique par le VZV ont montré un intérêt dans la détection d'une restauration de l'immunité cellulaire anti-VZV [35]. Les IGRA (*via* ELISA ou ELISpot) ont eux aussi trouvé leur place dans la détection de l'immunité cellulaire anti-VZV avec une sensibilité similaire et une meilleure faisabilité par rapport aux tests de prolifération lymphocytaires. Ces travaux augurent d'une application potentielle en routine pour guider la durée de la prophylaxie anti-VZV et évaluer l'efficacité de candidats vaccins anti-VZV après greffe de CSH [28,36].

#### **B. IFAs et risques infectieux non spécifiques de l'immunodéprimé**

De façon similaire, un IGRA appelé QuantiFERON Monitor<sup>®</sup> (QFM, QIAGEN) est utilisé comme biomarqueur prédictif du risque infectieux dans des cohortes d'immunodéprimés. Il repose sur l'évaluation *ex vivo* de l'immunité non spécifique par la mesure en méthode ELISA de l'IFN- $\gamma$  sécrété dans le surnageant de culture cellulaire. La stimulation de l'échantillon de sang total est obtenue par des microsphères agrégeant un ligand anti-CD3 induisant une stimulation lymphocytaire T et le ligand R848 induisant une stimulation innée *via* le Toll-like receptor (TLR)-7 et le TLR-8 identifiant des particules virales. Mian *et al.* a appliqué ce test chez 137 patients greffés d'organe solide (greffe d'origine rénale, hépatique et pulmonaire) alors qu'étaient colligés les épisodes d'infections bactériennes, virales et fongiques [37]. Le résultat principal associait de façon significative le risque de développer une infection ( $\geq 1$  épisode) à une faible production d'IFN- $\gamma$  jusqu'à 6 mois après la greffe. Pour une mesure d'IFN- $\gamma \leq 10$  UI/mL, le risque infectieux était multiplié par 2 ou 3, selon le délai après la greffe. De la même manière, chez 44 patients cirrhotiques non greffés et 64 patients greffés cardiaque, il existait un sur-risque infectieux significatif (toute infection confondue) en cas de détection plus faible d'IFN- $\gamma$  après stimulation [38,39].

Un autre IFA a montré une corrélation entre le risque infectieux et la mesure de l'immunité cellulaire. Ce test, commercialisé sous le nom d'ImmunoKnow assay<sup>®</sup> (Cylex, Inc.), a été approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) dans le cadre de la transplantation requérant l'utilisation d'immunosuppresseurs majorant le risque infectieux et impactant le pronostic et la survie. Son

principe est d'évaluer la réponse des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> en réponse à un stimulant lymphocytaire non spécifique appelé mitogène (phytohémagglutinine) *via* la mesure de l'ATP produit. L'ATP est la principale source d'énergie cellulaire et est libérée dans les premières heures suivant l'activation des lymphocytes T permettant une évaluation rapide de la fonctionnalité cellulaire. Brièvement, la technique consiste à stimuler du sang total pendant 15 à 18 heures avec de la phytohémagglutinine puis de sélectionner les lymphocytes CD4<sup>+</sup> et de mesurer l'ATP intracellulaire produit après lyse cellulaire par une technique de bioluminescence (Luciférase). Dans une méta-analyse de 504 receveurs de TOS, une réponse diminuée au test Immunknow<sup>®</sup> (<25 ng/mL) était associée à un risque infectieux 12 fois plus élevé [40]. Utilisé en immunomonitoring chez 175 greffés pulmonaire, il a permis d'identifier un sous-groupe de receveurs à haut risque infectieux (odds ratio 2,81) et un sous-groupe de receveurs colonisés fongiques à risque de développer une infection fongique invasive [41]. Ce test est donc positionné actuellement comme une aide à la gestion du niveau d'immunosuppression après la greffe.

Les IFAs sont performants dans la mesure fonctionnelle de l'immunité cellulaire. Cependant, l'étude de l'immunité innée après stimulation *ex vivo* peut également être informative et l'étude de Vallin *et al.* en fait la démonstration. Cette étude montre que chez 45 cas de greffe rénale, une diminution de la synthèse du TNF- $\alpha$  par les monocytes (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) en réponse à un peptide de l'EBV était associée à plus de complications infectieuses après la transplantation [42].

## II. Évaluation de la réponse vaccinale chez les patients immunodéprimés

Les IFAs représentent également le moyen d'évaluer la réponse vaccinale chez le patient immunodéprimé ou dans le contexte d'immunosénescence. Ces deux catégories incluent des patients de compétence immunitaire très variable. C'est pourquoi, malgré des recommandations vaccinales spécifiques à chaque groupe, il est nécessaire dans les années à venir d'affiner les facteurs associés à l'échec vaccinal, à une moindre réponse vaccinale ainsi que la durabilité de la réponse vaccinale [43]. Historiquement, le marqueur de réponse vaccinale est la sérologie mais elle ne permet pas d'évaluer la mémoire à long terme et le titre d'anticorps peut être mésestimé par la supplémentation en dérivés de produits sanguins comme les perfusions d'immunoglobulines polyvalentes ou spécifiques. Le principe des IFAs dans ce domaine repose sur l'utilisation d'antigène de rappel appartenant à la souche vaccinale mis en contact avec tout ou partie des effecteurs cellulaires immunitaires. L'évaluation de la réponse immunitaire fonctionnelle en réponse à l'antigène vaccinal dépend de la nature du vaccin. Les antigènes de type protéique (vaccins vivants, inactivés, toxoïdes ou des sous-unités du virus de l'hépatite B, coqueluche et grippe) induisent une réponse cellulaire B dépendante des lymphocytes T grâce à une coopération active des lymphocytes T-helper (CD4<sup>+</sup>) produisant des anticorps de forte affinité et une mémoire vaccinale prolongée.

Inversement, les antigènes de type polysaccharidiques ou glyco-conjugués (pneumocoque, méningocoque et *Haemophilus influenzae*) engendrent une réponse lymphocytaire B T-indépendante avec une production d'anticorps spécifiques rapide mais transitoire, de faible affinité et n'induisant peu ou pas de mémoire immunitaire [44].

#### **A. IFAs et réponse vaccinale T-dépendante**

Pour évaluer la réponse vaccinale cellulaire T-dépendante, les principaux IFAs utilisés sont le test de prolifération lymphocytaire T et la détection de cytokines de type Th1 (principalement l'IFN- $\gamma$ ) après stimulation par l'antigène de rappel *ex vivo*. L'intérêt de ces tests est donc de mesurer l'efficacité de la réponse vaccinale non humorale en cas d'immunosuppression. En effet, l'activité lymphocytaire T a un rôle direct dans la clairance virale d'un virus tel que la grippe, *via* la libération de cytokines par les lymphocytes T cytotoxiques (CD8<sup>+</sup>), l'activation Fas-FasL liée au programme de mort cellulaire et la potentialisation de l'effet cytotoxique cellulaire et de l'immunité humorale par les lymphocytes T-helper (CD4<sup>+</sup>) [45].

Il s'agit donc d'utiliser des tests similaires à ceux cités précédemment : mesure de cytokines par test ELISA ou ELISpot [4]. La technique ELISpot est la plus utilisée en laboratoire de recherche, elle permet de quantifier avec une grande sensibilité le nombre de cellules sécrétrices d'IFN- $\gamma$  (cellules mémoires et effectrices T) après leur stimulation avec un antigène viral. Des données sont néanmoins disponibles sur la protection vaccinale antigrippale chez des personnes âgées [46]. Dans une autre étude d'Avetisyan *et al.*, la réponse à un antigène grippal a été mesurée chez des patients transplantés de CSH en comparaison à des volontaires sains par un test ELISpot effectué 4 semaines post-vaccination. La réponse IFN- $\gamma$  générées par les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> était significativement augmentée dans les 2 groupes, tandis que le taux d'anticorps au seuil de protection contre le sérotype H1N1 de la grippe n'était observé que chez 29% des receveurs de transplantation [47].

Quant aux tests de prolifération lymphocytaire, les protocoles utilisent de manière similaire un antigène de rappel vaccinal (diphthérie, ténanos...). Après purification, les cellules mononuclées du sang périphérique sont stimulées *in vitro* par l'antigène de rappel pendant plusieurs jours. C'est la division cellulaire qui est mesurée après l'application d'un marqueur en cytométrie de flux. Une différentielle de prolifération cellulaire avant et après vaccination permet d'appréhender la réponse vaccinale. Des protocoles sont largement utilisés en routine à l'échelle locale et en recherche dans le cadre des déficits immunitaires cellulaires, après greffe de CSH ou TOS.

#### **B. IFAs et réponse vaccinale T-indépendante**

Pour évaluer la réponse cellulaire B T-indépendante, il existe des tests ELISpot B mais ils sont peu utilisés du fait de difficultés techniques liées à la faible fréquence des lymphocytes B spécifiques. L'autre test permettant d'observer l'efficacité de ce type de vaccin est l'évaluation de la capacité

d'opsonophagocytation des anticorps spécifiques de l'antigène polysaccharidique. Il a été décrit en 1997 par Romero-Steiner *et al.* pour mesurer la fonctionnalité des anticorps anti-pneumococques [48]. Il est utilisé comme corrélat de protection par mesure *in vitro* des capacités fonctionnelles des anticorps produits grâce à la vaccination. C'est un outil de sélection de vaccin pertinent par la mesure des anticorps vaccinaux induits capables d'activer la voie du complément et par conséquent la destruction du pathogène par opsonophagocytation [49]. Par exemple pour le vaccin anti-pneumococque, il permet d'évaluer l'immunogénicité de chaque polysaccharide présent dans la préparation vaccinale permettant d'optimiser l'immunogénicité vaccinale [50]. Nived *et al.* a mesuré la réponse vaccinale anti-pneumococque au vaccin conjugué 13-valent du pneumocoque par la technique d'opsonophagocytation chez 49 patients atteints de vascularite systémique traités par immunosuppresseur et/ou corticoïdes [51]. La réponse vaccinale était diminuée significativement chez les patients traités par Cyclophosphamide, Azathioprine ou Méthotrexate *versus* les patients recevant seulement des corticoïdes. Cela souligne l'importance d'administrer les vaccins polysaccharidiques aux patients atteints de maladie systémique préalablement à l'introduction des immunosuppresseurs.

### **C. Utilisation en routine des IFAs et perspectives**

En raison de leur complexité, du coût et du temps technique requis, les IFAs ne peuvent être qu'une alternative de deuxième ligne aux tests immunitaires conventionnels de routine. Néanmoins, en s'appuyant sur les résultats cités ci-dessus, nous soulignons que l'IFA ne peut être substituée par un marqueur traditionnel.

Dans la pratique clinique, certains centres élaborent des protocoles utilisant ces tests en routine notamment pour évaluer la réponse au calendrier vaccinale post-transplantation de CSH ou dans le cadre des déficits immunitaires primitifs. Dans ces cas, l'enjeu est double. D'une part il est nécessaire d'évaluer la capacité fonctionnelle du système immunitaire à répondre à une stimulation antigénique permettant de valider le bon timing vaccinal ; d'autre part il est nécessaire de vérifier le niveau de protection vaccinale. C'est ce que propose le Centre de Référence des Déficiences Immunitaires Héritaires (CEREDIH) chez des enfants receveur de greffe allogénique de CSH dans le cadre d'un déficit immunitaire primitif. De la même manière, le Haut Conseil de Santé Publique (HCSP) recommande de réaliser un test de prolifération lymphocytaire en réponse à une stimulation non spécifique (mitogène) *ex vivo* avant l'injection de vaccin vivant atténué dans le syndrome de Di George (déficit immunitaire primitif) responsable d'une lymphopénie dont la sévérité expose à des effets secondaires de ces vaccins. Cependant, ce test ne préjuge pas de la protection vaccinale induite [43].

Certaines limites sont importantes à mentionner : les études récentes soulignent une variabilité inter- et intra-individuelle notable dépendante de critères démographiques (âge, sexe, état métabolique ou inflammation chronique) et socio-économiques constituant un nouveau défi pour les essais de réponse vaccinale et de développement de vaccins. Ainsi le concept d'immunologie des systèmes s'applique de la même manière à la « vaccinologie des systèmes » qui a été développée par Pulendran *et al* [52]. Cette approche utilise des « Omics », c'est-à-dire un ensemble d'outils générant une quantité massive de données composites afférentes à la protéomique, la transcriptomique ou la génomique dont l'analyse *in silico* aura pour but d'identifier des marqueurs prédictifs de la réponse immune innée ou adaptative post-vaccinale [52,53]. La première application de cette approche a permis d'identifier une signature précoce permettant de prédire l'amplitude de la réponse T CD8<sup>+</sup> au vaccin de la fièvre jaune [54]. Une autre approche s'intéressait à prédire la réponse vaccinale en fonction de la voie d'injection du vaccin (sous-cutanée, intradermique ou intramusculaire) par le biais d'une signature de gène de l'immunité innée corrélée à la qualité de la réponse lymphocytaire cytotoxique (CD8<sup>+</sup>) [53]. Les IFAs ont leur place dans ce type d'approche et c'est une équipe de recherche de l'Institut Pasteur qui a récemment développé un IFA standardisé dont les domaines d'application en immunologie clinique sont larges incluant celui de la vaccination [6]. Il s'agit d'une étude de la variance immunologique de l'être humain appelé « Milieu intérieur » qui définit une gamme de réponse immunitaire « normale » en réponse à une stimulation *ex-vivo* par l'évaluation d'une signature moléculaire [55].

### III. IFAs : outils d'évaluation des thérapies immunosuppressives

En dehors du contexte de la vaccination, les IFAs ont leur place dans la gestion des thérapies tels que les immunosuppresseurs à visée antirejet dans le contexte de la TOS. Le rejet de greffe est secondaire au développement d'une réponse cellulaire immunitaire du donneur vis-à-vis du greffon allogénique ; les antirejets sont donc des immunosuppresseurs diminuant cette réponse immunitaire cellulaire. La gestion des antirejets repose sur le dosage du taux sanguin de la molécule.

Le test ImmunoKnow assay<sup>®</sup> (Cylex, Inc.) cité précédemment dans l'évaluation du risque infectieux en post-greffe a aussi montré un intérêt dans l'évaluation du risque de rejet de greffe. Avant une greffe rénale, une augmentation du taux d'ATP intracellulaire des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> était associé à un risque relatif (RR) de rejet de greffe de 1,2 et lorsque le taux augmentait entre la phase pré- et post-greffe, ce risque était majoré (RR= 15,4) [56]. Dans une autre étude portant sur 126 cas de greffe rénale, un taux élevé d'ATP en pré-greffe était associé à des signes histologiques de rejet de greffe cellulaire et des dysfonctions du greffon et ceux présentant un rejet cellulaire aigu était associé à un taux d'ATP augmenté en post-greffe [57]. Dans la méta-analyse de Kowalski *et al.* citée ci-dessus, un taux élevé d'ATP intracellulaire > 700 ng/mL est associé à un risque de rejet cellulaire

(RR= 30). Ainsi, ce test présente un intérêt dans l'immunomonitoring de TOS pour l'évaluation du risque infectieux et celui du rejet afin d'aider à la gestion des immunosuppresseurs et la prédiction des complications.

St Pierre *et al.* expose un concept d'évaluation de l'impact des thérapies immunosuppressives sur le système immunitaire dans le contexte des désordres immunitaires. Ils ont développé une plateforme de tests immunitaires fonctionnels permettant d'évaluer l'impact qualitatif et quantitatif des modulateurs pharmacologiques au profit de la prédiction de l'efficacité thérapeutique et risques notamment infectieux [58]. Les IFAs utilisés en réponse à chaque immunomodulateur sont les tests mesurant la prolifération lymphocytaire, la fonction des cellules natural-killer, la capacité de phagocytose et la réponse des TLR à des stimulants. De manière similaire, les IFAs sont utilisés pour l'évaluation thérapeutique des immunothérapies du traitement des cancers par la mesure de la réponse spécifique cellulaire T anti-tumorale [59,60].

## **CONCLUSION**

Le développement de stratégies d'immunomonitoring « à la carte » associées aux traitements des maladies de système, des déficits immunitaires héréditaires, en onco-hématologie avec l'émergence de l'immunothérapie active ou en médecine de transplantation est l'avenir. Dans cette revue, nous montrons que les IFAs permettent d'obtenir une approche fonctionnelle *via* l'immunomonitoring de la réponse au traitement, de prédire un risque infectieux et d'évaluer la réponse vaccinale dans certaines populations de patients immunodéprimés. La limite de ces approches est la prise en compte de la variance immunitaire générant un certain nombre de contraintes technologiques, méthodologiques de standardisation et d'interprétation qu'il conviendra de maîtriser. Pour les patients, l'accès à l'immunomonitoring est l'ouverture vers une médecine personnalisée.

## REMERCIEMENTS :

Nous remercions le Département de Recherche Clinique et Innovations des Hospices Civils de Lyon et les membres du Laboratoire Commun de Recherche Hospices Civils de Lyon-bioMérieux pour leur soutien et encouragement.

**CONFLITS D'INTERETS** : aucun

## REFERENCES

1. Brodin P, Davis MM. Human immune system variation. *Nat Rev Immunol* 2017;17(1):21- 9.
2. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008;454(7203):428- 35.
3. Murphy K, Weaver C. *Janeway's Immunobiology*. Garland Science; 2016
4. Lindemann M. Ex vivo assessment of cellular immune function - applications in patient care and clinical studies. *Tissue Antigens* 2014;84(5):439- 49.
5. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000;356(9235):1099- 104.
6. Duffy D. Standardized Immunomonitoring: Separating the Signals from the Noise. *Trends Biotechnol* 2018;36(11):1107- 15.
7. Feldman AM. Bench-to-Bedside; Clinical and Translational Research; Personalized Medicine; Precision Medicine-What's in a Name? *Clin Transl Sci* 2015;8(3):171- 3.
8. Haute Autorité de Santé. Tests in vitro de dépistage de l'infection tuberculeuse latente par détection de production d'interféron gamma. [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2021762/fr/tests-in-vitro-de-depistage-de-l-infection-tuberculeuse-latente-par-detection-de-production-d-interferon-gamma](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2021762/fr/tests-in-vitro-de-depistage-de-l-infection-tuberculeuse-latente-par-detection-de-production-d-interferon-gamma) [Accès au site le 27 Août 2019]
9. Bocchino M, Matarese A, Bellofiore B, Giacomelli P, Santoro G, Balato N, et al. Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of Mycobacterium tuberculosis infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27(10):907- 13.
10. Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K, et al. Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep* 2010;59(RR-5):1- 25.
11. Aerts L, Selis E, Corbière V, Smits K, Praet AV, Dauby N, et al. HBHA-Induced Polycytotoxic CD4+ T Lymphocytes Are Associated with the Control of Mycobacterium tuberculosis Infection in Humans. *J Immunol* 2019;202(2):421- 7.
12. Sali M, Buonsenso D, D'Alfonso P, De Maio F, Ceccarelli M, Battah B, et al. Combined use of Quantiferon and HBHA-based IGRA supports tuberculosis diagnosis and therapy management in children. *J Infect* 2018;77(6):526- 33.
13. Torre-Cisneros J, Aguado JM, Caston JJ, Almenar L, Alonso A, Cantisán S, et al. Management of cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients: SET/GESITRA-SEIMC/REIPI

recommendations. *Transplant Rev* 2016;30(3):119- 43.

14. Ljungman P. CMV infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008;42 Suppl 1:S70- 2.

15. Styczynski J. Who Is the Patient at Risk of CMV Recurrence: A Review of the Current Scientific Evidence with a Focus on Hematopoietic Cell Transplantation. *Infect Dis Ther* 2018;7(1):1- 16.

16. Han SH. Immunological Prediction of Cytomegalovirus (CMV) Replication Risk in Solid Organ Transplantation Recipients: Approaches for Regulating the Targeted Anti-CMV Prevention Strategies. *Infect Chemother* 2017;49(3):161- 75.

17. Fernández-Ruiz M, Kumar D, Humar A. Clinical immune-monitoring strategies for predicting infection risk in solid organ transplantation. *Clin Transl Immunology* 2014;3(2):e12.

18. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation* 2013;96(4):333- 60.

19. Manuel O, Husain S, Kumar D, Zayas C, Mawhorter S, Levi ME, 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. *Clin Infect Dis* 2013;56(6):817- 24.

20. Cantisán S, Lara R, Montejo M, Redel J, Rodríguez-Benot A, Gutiérrez-Aroca J, et al. Pretransplant interferon- $\gamma$  secretion by CMV-specific CD8+ T cells informs the risk of CMV replication after transplantation. *Am J Transplant* 2013;13(3):738- 45.

21. Kumar D, Chernenko S, Moussa G, Cobos I, Manuel O, Preiksaitis J, et al. Cell-mediated immunity to predict cytomegalovirus disease in high-risk solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2009;9(5):1214- 22.

22. Kumar D, Mian M, Singer L, Humar A. An Interventional Study Using Cell-Mediated Immunity to Personalize Therapy for Cytomegalovirus Infection After Transplantation. *Am J Transplant* 2017;17(9):2468- 73.

23. Abate D, Saldan A, Mengoli C, Fiscon M, Silvestre C, Fallico L, et al. Comparison of cytomegalovirus (CMV) enzyme-linked immunosorbent spot and CMV quantiferon gamma interferon-releasing assays in assessing risk of CMV infection in kidney transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2013;51(8):2501- 7.

24. Lee H, Park KH, Ryu JH, Choi A-R, Yu JH, Lim J, et al. Cytomegalovirus (CMV) immune monitoring with ELISPOT and QuantiFERON-CMV assay in seropositive kidney transplant recipients. *PLoS One* 2017;12(12):e0189488.

25. Ruan Y, Guo W, Liang S, Xu Z, Niu T. Diagnostic performance of cytomegalovirus (CMV) immune monitoring with ELISPOT and QuantiFERON-CMV assay in kidney transplantation: A PRISMA-compliant article. *Medicine* 2019;98(16):e15228.

26. Yong MK, Cameron PU, Slavin M, Morrissey CO, Bergin K, Spencer A, et al. Identifying Cytomegalovirus Complications Using the QuantiFERON-CMV Assay After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Infect Dis* 2017;215(11):1684- 94.

27. Paouri B, Soldatou A, Petrakou E, Theodosaki M, Tsentidis C, Kaisari K, et al. QuantiFERON-



Cytomegalovirus assay: A potentially useful tool in the evaluation of CMV-specific CD8+ T-cell reconstitution in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients. *Pediatr Transplant* 2018;22(5):e13220.

28. Merindol N, Salem Fourati I, Brito R-M, Grenier A-J, Charrier E, Cordeiro P, et al. Reconstitution of protective immune responses against cytomegalovirus and varicella zoster virus does not require disease development in pediatric recipients of umbilical cord blood transplantation. *J Immunol*. 2012;189(10):5016- 28.

29. Poujol F, Monneret G, Friggeri A, Rimmelé T, Malcus C, Poitevin-Later F, et al. Flow cytometric evaluation of lymphocyte transformation test based on 5-ethynyl-2'-deoxyuridine incorporation as a clinical alternative to tritiated thymidine uptake measurement. *J Immunol Methods* 2014;415:71- 9.

30. Allen UD, Preiksaitis JK, AST Infectious Diseases Community of Practice. Post-transplant lymphoproliferative disorders, Epstein-Barr virus infection, and disease in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant* 2019;e13652.

31. Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med* 2000;343(7):481- 92.

32. Calarota SA, Chiesa A, Zelini P, Comolli G, Minoli L, Baldanti F. Detection of Epstein-Barr virus-specific memory CD4+ T cells using a peptide-based cultured enzyme-linked immunospot assay. *Immunology* 2013;139(4):533- 44.

33. D'Aveni M, Aïssi-Rothé L, Venard V, Salmon A, Falenga A, Decot V, et al. The clinical value of concomitant Epstein Barr virus (EBV)-DNA load and specific immune reconstitution monitoring after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Immunol* 2011;24(4):224- 32.

34. Schachtner T, Müller K, Stein M, Diezemann C, Sefrin A, Babel N, et al. BK virus-specific immunity kinetics: a predictor of recovery from polyomavirus BK-associated nephropathy. *Am J Transplant* 2011;11(11):2443- 52.

35. Ljungman P, Lonnqvist B, Gahrton G, Ringden O, Sundqvist VA, Wahren B. Clinical and subclinical reactivations of varicella-zoster virus in immunocompromised patients. *J Infect Dis* 1986;153(5):840- 7.

36. Distler E, Schnurer E, Wagner E, von Auer C, Plachter B, Wehler D, et al. Recovery of varicella-zoster virus-specific T cell immunity after T cell-depleted allogeneic transplantation requires symptomatic virus reactivation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14(12):1417- 24.

37. Mian M, Natori Y, Ferreira V, Selzner N, Husain S, Singer L, et al. Evaluation of a Novel Global Immunity Assay to Predict Infection in Organ Transplant Recipients. *Clin Infect Dis* 2018;66(9):1392- 7.

38. Sood S, Yu L, Visvanathan K, Angus PW, Gow PJ, Testro AG. Immune function biomarker QuantiFERON-monitor is associated with infection risk in cirrhotic patients. *World J Hepatol* 2016;8(35):1569- 75.

39. Potena L, Righini L, Manfredini V, Borgese L, Sgreccia D, Chiereghin A, et al. Quantiferon Monitor: A Novel Assay for Prediction of Infectious Risk in Heart Transplant Recipients. *J Heart Lung Transplant* 2016;35(4):S106.

40. Kowalski RJ, Post DR, Mannon RB, Sebastian A, Wright HI, Sigle G, et al. Assessing relative

risks of infection and rejection: a meta-analysis using an immune function assay. *Transplantation* 2006;82(5):663- 8.

41. Husain S, Raza K, Pilewski JM, Zaltonis D, Crespo M, Toyoda Y, et al. Experience with immune monitoring in lung transplant recipients: correlation of low immune function with infection. *Transplantation* 2009;87(12):1852- 7.
42. Vallin P, Déry O, Béland S, Bouchard-Boivin F, Houde I, De Serres SA. Impaired Secretion of TNF- $\alpha$  by Monocytes Stimulated With EBV Peptides Associates With Infectious Complications After Kidney Transplantation. *Transplantation* 2018;102(6):1005- 13.
43. Haut Conseil de la Santé Publique. Vaccination des personnes immunodéprimées ou aspléniques. <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=504> [Accès au site le 16 Mai 2018]
44. Siegrist CA. Vaccine immunology. In: Plotkin S, Orenstein W, Offit P, ed. *Vaccines 6<sup>th</sup> Edition*. Elsevier; 2013. p. 14-32
45. Coughlan L, Lambe T. Measuring Cellular Immunity to Influenza: Methods of Detection, Applications and Challenges. *Vaccines* 2015;3(2):293- 319.
46. McElhaney JE, Kuchel GA, Zhou X, Swain SL, Haynes L. T-Cell Immunity to Influenza in Older Adults: A Pathophysiological Framework for Development of More Effective Vaccines. *Front Immunol* 2016;7:41.
47. Avetisyan G, Aschan J, Hassan M, Ljungman P. Evaluation of immune responses to seasonal influenza vaccination in healthy volunteers and in patients after stem cell transplantation. *Transplantation* 2008;86(2):257- 63.
48. Romero-Steiner S, Frasch CE, Carlone G, Fleck RA, Goldblatt D, Nahm MH. Use of Opsonophagocytosis for Serological Evaluation of Pneumococcal Vaccines. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13(2):165- 9.
49. Dwyer M, Gadjeva M. Opsonophagocytic assay. *Methods Mol Biol* 2014;1100:373- 9.
50. Soininen A, Karpala M, Wahlman S-L, Lehtonen H, Käyhty H. Specificities and opsonophagocytic activities of antibodies to pneumococcal capsular polysaccharides in sera of unimmunized young children. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9(5):1032- 8.
51. Nived P, Nagel J, Saxne T, Geborek P, Jönsson G, Skattum L, et al. Immune response to pneumococcal conjugate vaccine in patients with systemic vasculitis receiving standard of care therapy. *Vaccine* 2017;35(29):3639- 46.
52. Pulendran B. Systems vaccinology: probing humanity's diverse immune systems with vaccines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111(34):12300- 6.
53. Gonçalves E, Bonduelle O, Soria A, Loulergue P, Rousseau A, Cachanado M, et al. Innate gene signature distinguishes humoral versus cytotoxic responses to influenza vaccination. *J Clin Invest* 2019;129(5):1960- 71.
54. Querec TD, Akondy RS, Lee EK, Cao W, Nakaya HI, Teuwen D, et al. Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans. *Nat Immunol* 2009;10(1):116- 25.
55. Urrutia A, Duffy D, Rouilly V, Posseme C, Djebali R, Illanes G, et al. Standardized Whole-Blood Transcriptional Profiling Enables the Deconvolution of Complex Induced Immune Responses. *Cell Rep*

2016;16(10):2777- 91.

56. Cadillo-Chávez R, de Echegaray S, Santiago-Delpín EA, Rodríguez-Trinidad AT, Camacho-Carrazo B, Alfaro T, et al. Assessing the risk of infection and rejection in Hispanic renal transplant recipients by means of an adenosine triphosphate release assay. *Transplant Proc* 2006;38(3):918- 20.

57. Reinsmoen NL, Cornett KMM, Kloehn R, Burnette AD, McHugh L, Flewellen BK, et al. Pretransplant donor-specific and non-specific immune parameters associated with early acute rejection. *Transplantation* 2008;85(3):462- 70.

58. St Pierre C, Guo J, Shin JD, Engstrom LW, Lee H-H, Herbert A, et al. A human tissue-based functional assay platform to evaluate the immune function impact of small molecule inhibitors that target the immune system. *PLoS One* 2017;12(7):e0180870.

59. Lyerly HK. Quantitating cellular immune responses to cancer vaccines. *Semin Oncol* 2003;30(3 Suppl 8):9- 16.

60. Macchia I, Urbani F, Proietti E. Immune monitoring in cancer vaccine clinical trials: critical issues of functional flow cytometry-based assays. *BioMed Res Int* 2013;2013:726239.

### **Credit author statement**

MB a contribué à la conception, recueil des références et l'écriture du manuscrit et sa révision. CAV et WM ont contribué à l'élaboration de la base de données, à la relecture et la révision. ID, KBP et FV ont contribué à la relecture. STA et FA ont contribué à l'élaboration du manuscrit et la relecture.

Tous les auteurs ont lu et approuvé la version finale du manuscrit.