



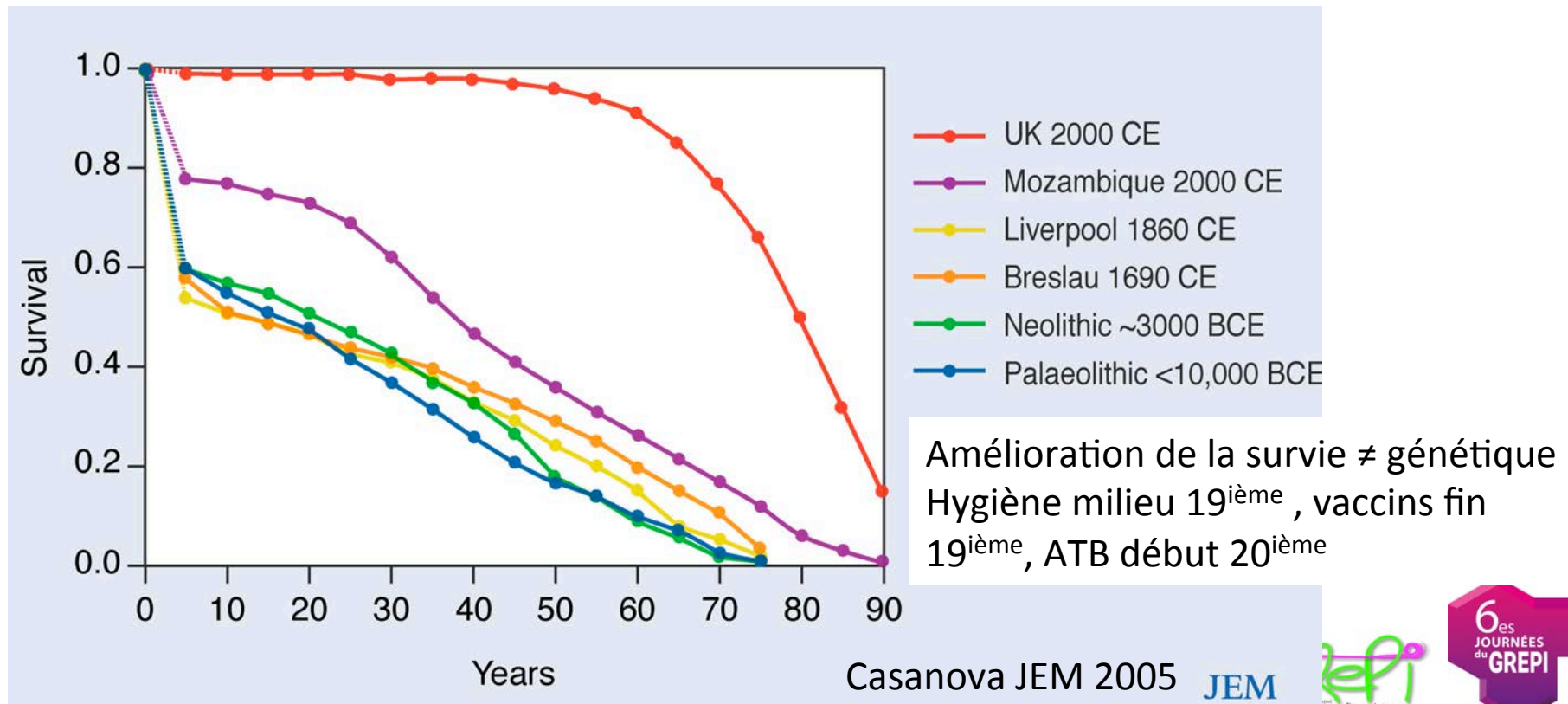
Tous les patients sont ils immunodéprimés?

Emilie Catherinot,
Hôpital Foch, Suresnes



Courbes de mortalité au cours du temps

Un quart des décès dans le Monde (13M) liés à une maladie infectieuse (OMS)



Préambule

- Infections inapparentes (1911, Charles Nicolle)
- Infections bénignes / sévères
- Infections latentes et réactivation (HSV, VZV, tuberculose: 1907 Clement Von Pinquet)
- 10% des sujets infectés contrôlent la tuberculose toute la vie

- Homme: 10 000 Milliard de cellules , 22 000 gènes, Plus de 1600 gènes impliqués dans système immunitaire
- Microbiome humain: 100 000 Milliards de bactéries, 3 millions de gènes

- Reconnaissance des Déficits Immunitaires Primitifs (DIPs) permise par les antibiotiques (réurrences visibles)

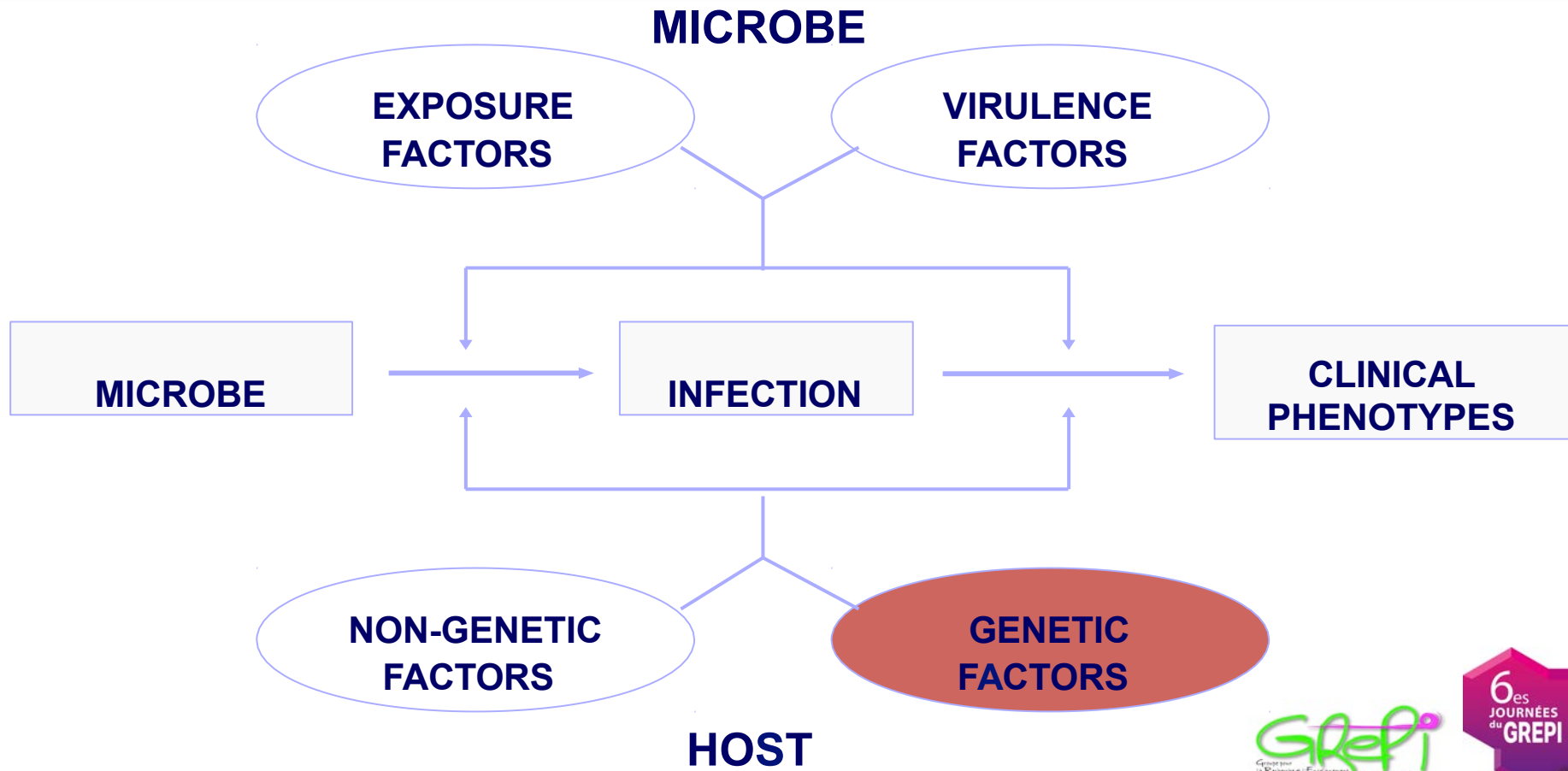
Qu'est ce qu'un système immunitaire normal?

- Normal d'attraper un rhume en hiver mais prédisposition génétique au coup de froid (1)
- Normal d'être différent
- Normal d'être plus susceptible aux infections selon l'âge
- Superman extraordinairement résistant rare: anormal?

- Si nous avons un rhume c'est la preuve que notre système immunitaire peut fléchir
- Sensibilité au rhume ne signifie pas forcément déficit immunitaire sur les tests biologiques
- Normal ranges
- Peut on décrire la normalité en terme de nombre ou de fréquence ou de durée des infections?

(1) M Murris GREPI 2017, Johnson Fam Prac 2005

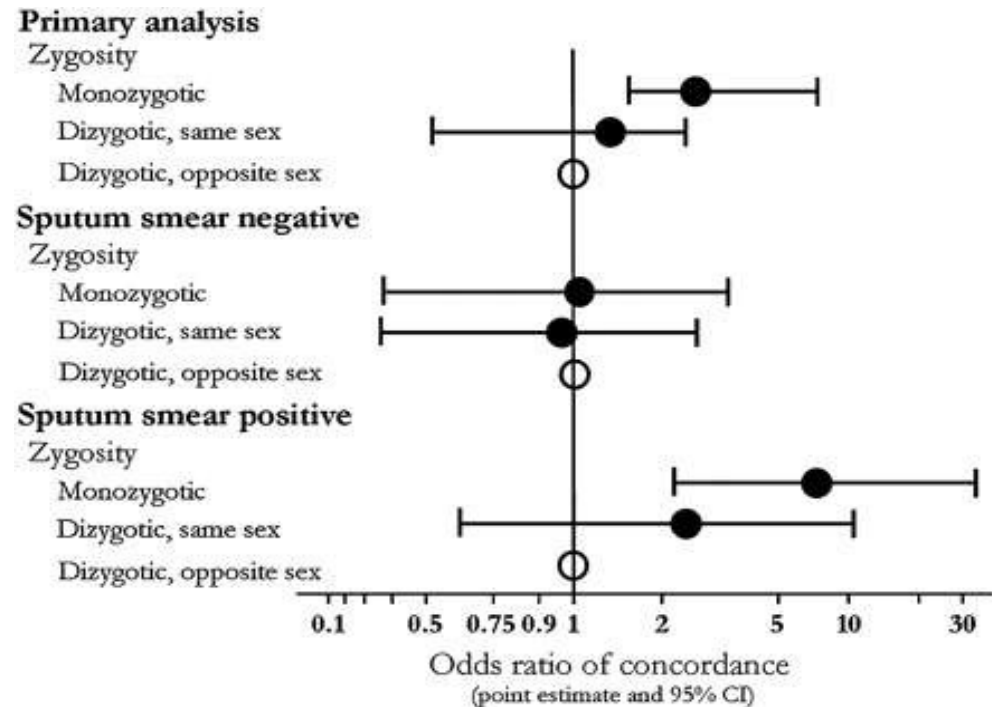
Variabilité de la réponse à l'exposition et l'infection



Théorie Génétique

- Etudes d'adoptés:
 Probabilité de décès précoce
 par maladie infectieuse
 héritable : RR 5,81
 (2,47-13,7), > maladie
 cérébrale et cardio-
 vasculaire >> cancer

Sorensen NEJM 1988;



Comstock Am Rev Respir Dis, 1978

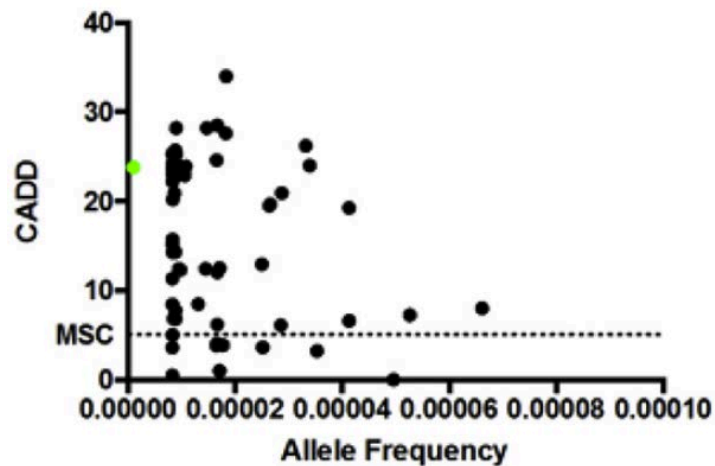
Théorie Génétique : tuberculose

- Accident de Lubeck, Allemagne, 1930
 - 251 children received same dose of MTB
 - Illustre la variabilité de la réponse de l'hôte
 - 47 pas de symptômes; 127 infections cliniques résolutive; 77 décès
- Résistance à la tuberculose corrélée à l'origine géographique exposée/non exposée des ancêtres
- Indiens de Saskatchewan: épidémie de tuberculose, débutant au début des années 1880
 - Préalablement non exposés à la tuberculose
 - Mortalité 10% / an au pic de l'épidémie
 - Après 40 ans, la moitié des familles éradiquées, incidence inférieure à 0,5%

Reider Pneumologie 2003, Abel Am J Human Genet 2000

Théorie Génétique

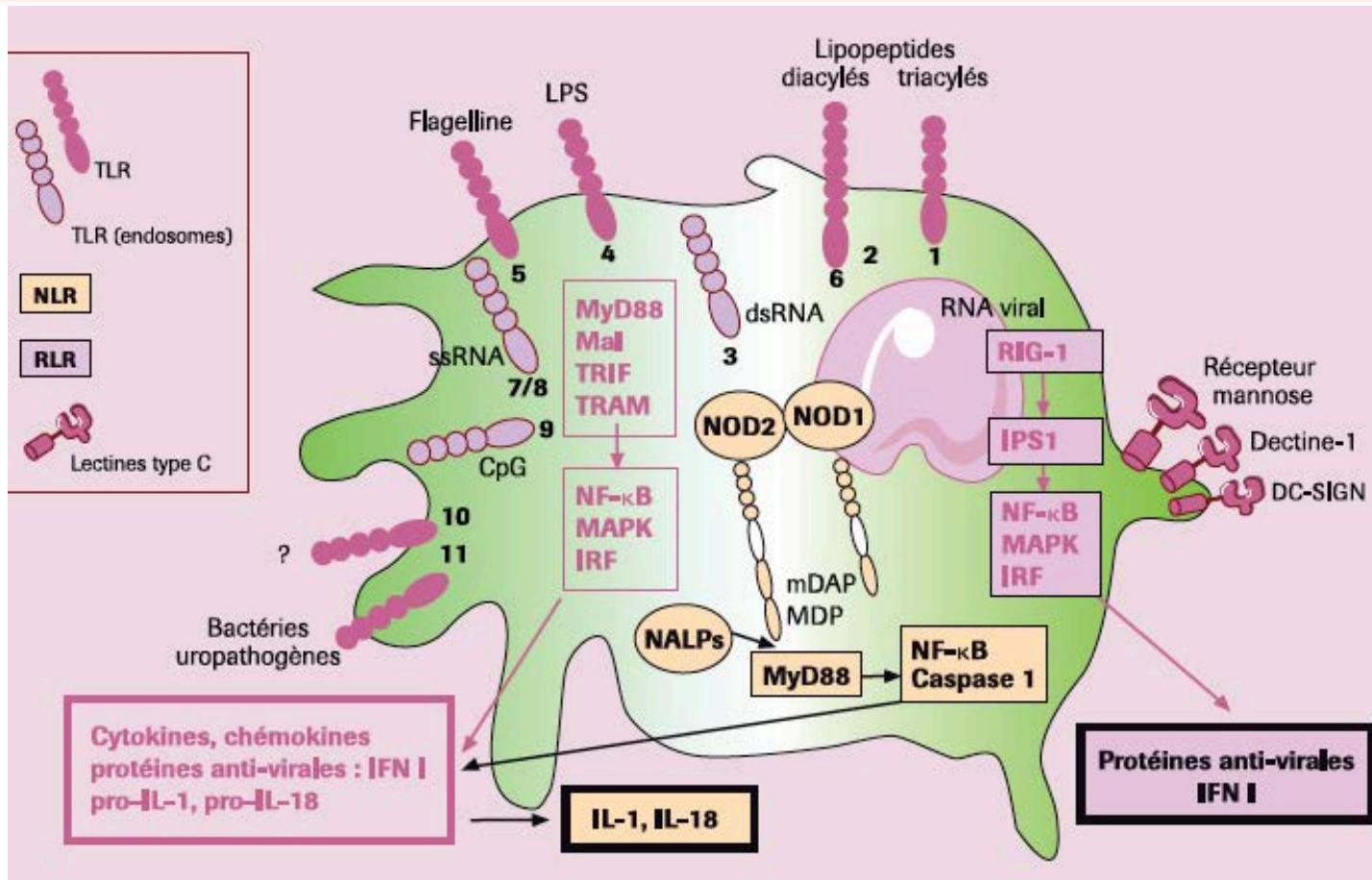
- Erreurs de copies du génome lors de la division cellulaire des gamètes: $1,2 \cdot 10^{-8}$ / nucléotide par génération. 20 000 variants par exome.
- Une mutation génétique peut être délétère ou bénéfique ou neutre
- Evaluation génétique du caractère délétère: scores de prédiction de perte de fonction (stop, épissage, structure) : CADD score, sélection négative. 58% des variants rares localisés dans 2% des gènes



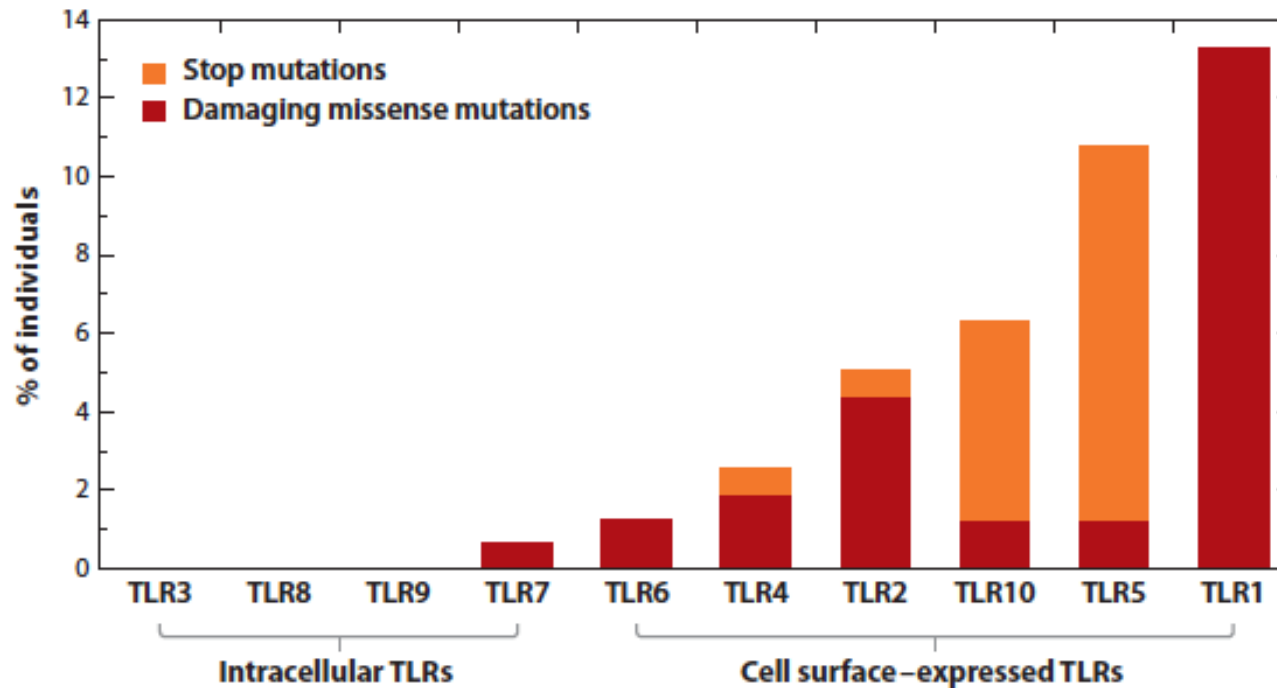
Itan PNAS 2015,
Meyts JACI 2016



Les « Pattern Recognition Receptors »



Sélection positive vs redondance



Une mutation délétère peut être silencieuse sur le plan phénotypique: redondance

Théorie Génétique

- Estimation haute de prévalence des PIDs (enquête téléphonique USA): 6 millions dans le Monde, 638 000 en Europe (Registre ESID: 15000)
- Cas incidents après 15 ans > 50%. Population adulte sous représentée dans le registre français et européen

Region	Europe		
Age group	Expected number of prevalent cases by age at diagnosis ^a	ESID registry	Registry coverage (%)
0-4	66,331	985	1.48 %
5-14	40,569	5,210	12.84 %
15-24	67,126	3,294	4.91 %
25-49	137,721	2,160	1.57 %
50-74	241,637	1,838	0.56 %
75+	84,631	1,838	0.56 %
Total	638,015	13,487	2.11 %

Des déficits immunitaires

- 354 déficits immunitaires, 344 gènes (20% des gènes impliqués dans l'immunité), augmentation depuis 2013
- 50% des patients sans diagnostic génétique (ESID)
- DIP classique Mendélien: prédisposition à de nombreux pathogènes, détectés par les explorations classiques du système immunitaire, faible redondance, haute pénétrance
- PID non classique: gène unique, pénétrance variable, prédisposition à un pathogène unique ou un nombre restreint de pathogènes. Phénotype immunologique non détecté par les tests classiques.
- PID classique polygénique (80%): DICV, déficit en sous classes d'IgG

Ten warning signs of PID: mauvais

- 563 enfants référés pour recherche de PID

Table 1. Ten warning signs of primary immunodeficiency

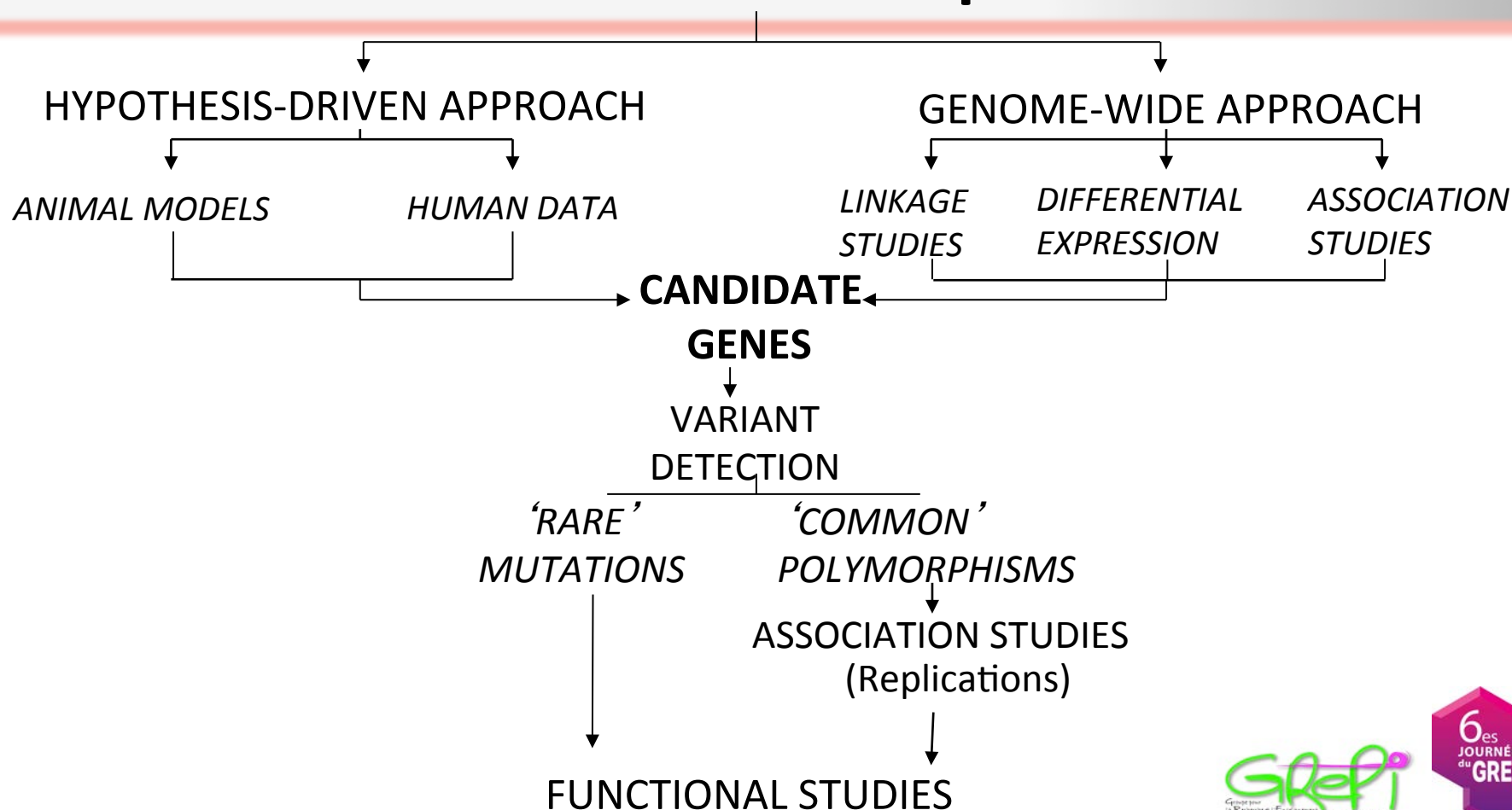
		<2 Warning signs	≥2 Warning signs	Relative risk (95% CI) compared with no PID	
1	≥4 ear infections in one year				
2	≥2 serious sinus infections in one year				
3	≥2 pneumonias in one year				
4	Recurrent, deep skin or organ abscesses				
5	Persistent thrush in mouth or fungal infection on skin				
6	≥2 deep-seated infections including septicemia				
7	≥2 months on antibiotics with little effect				
8	Need for intravenous antibiotics to clear infections				
9	Failure of an infant to gain weight or grow normally				
10	Family history of primary immunodeficiency				
		No PID	70 (52%)	63 (48%)	–
		Any PID	163 (38%)	267 (62%)*	1.8 (1.2–2.7)
		Neutrophil PID	10 (14%)	63 (86%)*	7.0 (3.3–14)
		Complement PID	9 (41%)	13 (59%)	1.6 (0.6–4.0)
		B cell PID	42 (40%)	63 (60%)	1.7 (1.0–2.8)
		T cell PID	102 (44%)	128 (56%)	1.4 (0.9–2.1)

*Significant at $P < 0.01$ by Chi-square, compared with the group that did not have a PID.

Arkwright Ann NY Acad Sci 2011



Hérédité mendélienne et complexe: méthodes



Approches pour l'identification de gènes de susceptibilité

- Un variant (mutation) commun ($>1\%$ en population générale) = polymorphisme génétique
- MAF (minor allele frequency) $< 1\%$ = variant rare

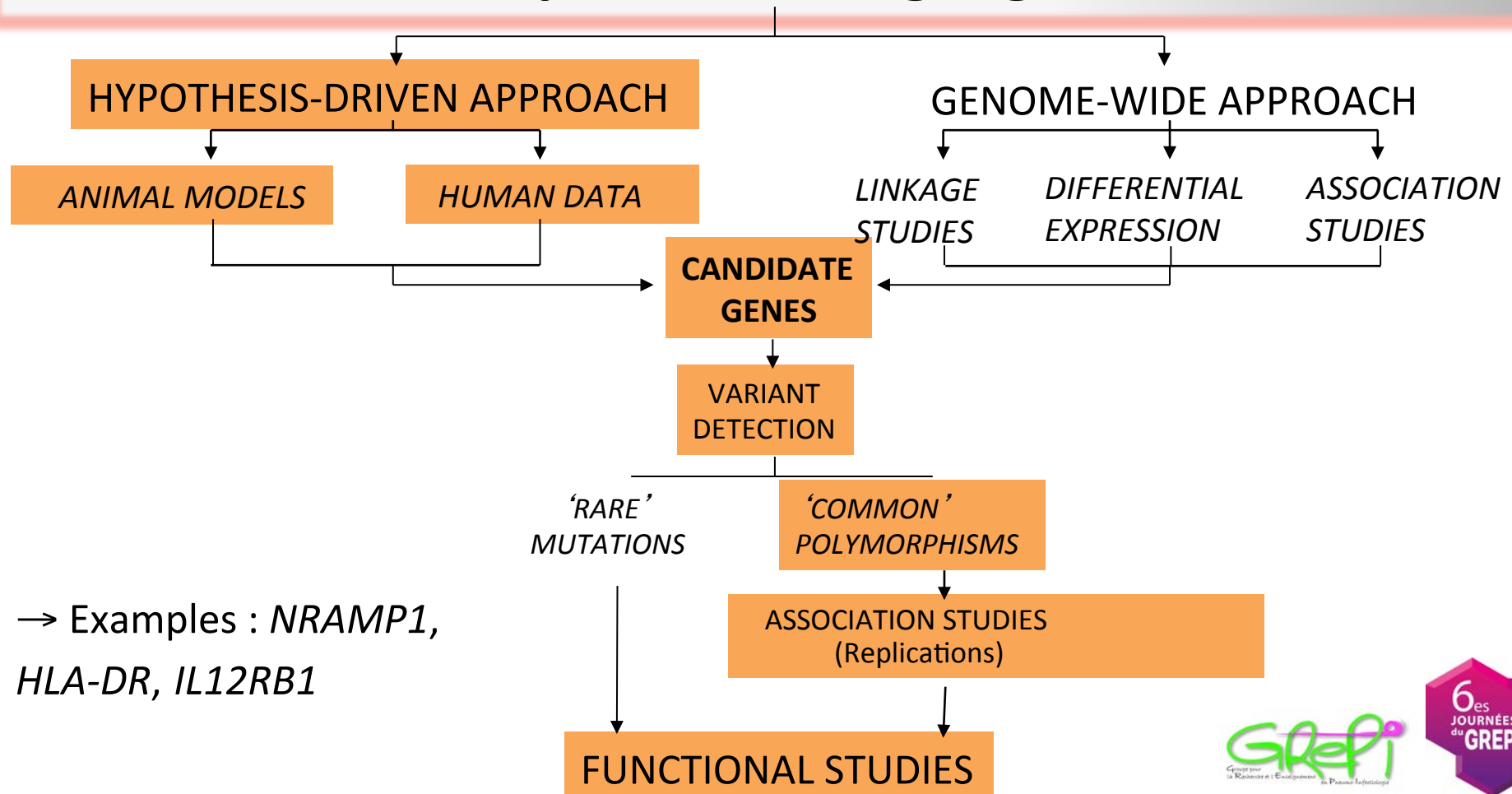
Types de Polymorphismes:

- Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) : substitution d'une base
 - Insertion-deletion Polymorphisms (Indel): 2 à 100 nucleotides
 - Copy Number Polymorphisms (CNP): présence ou absence de 200-bp to 500-Mbp. Ou duplication génique
- SNP = 90% de toutes les différences entre individus. Les SNP sont abondants et distribués uniformément, en moyenne tous les 1-3 kb. 4 millions de SNP recensés dans le génome humain (2005)

Mozzi Infection, Genetics and Evolution 2018



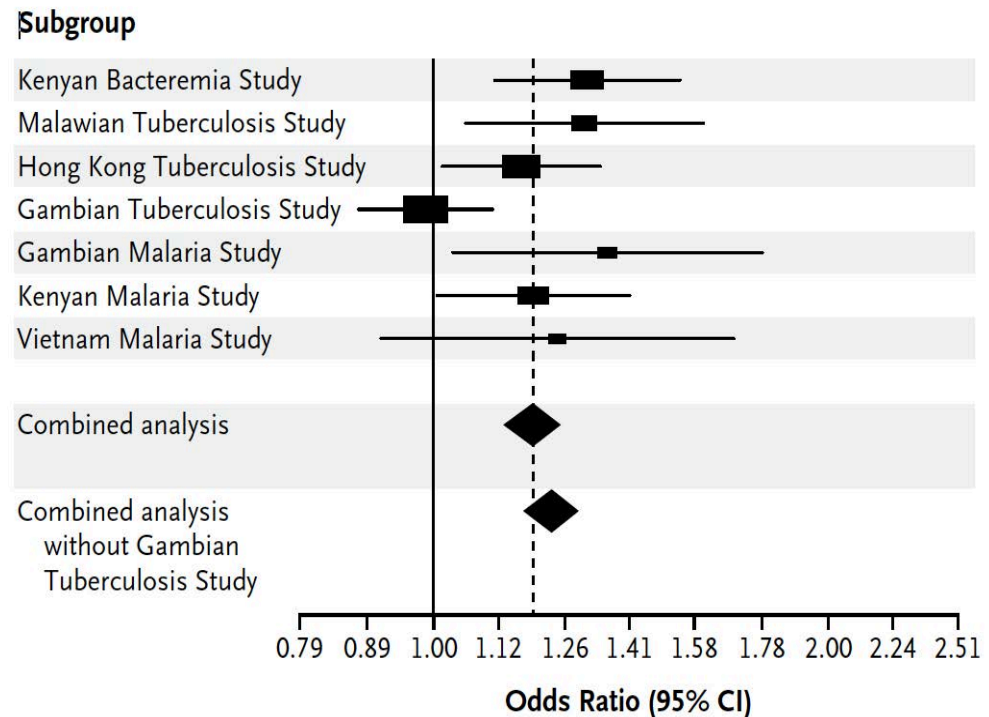
Hérédité complexe: stratégie gène candidat



→ Exemples : *NRAMP1*,
HLA-DR, *IL12RB1*

CISH et susceptibilité aux maladies infectieuses

- Bactériémie chez l'enfant, Tuberculose, paludisme sévère
- Différents groupes ethniques
- Etude cas contrôles, 8402 patients
- Analyse fonctionnelle: diminution de l'expression en réponse à l'IL-2 de 25 à 40%

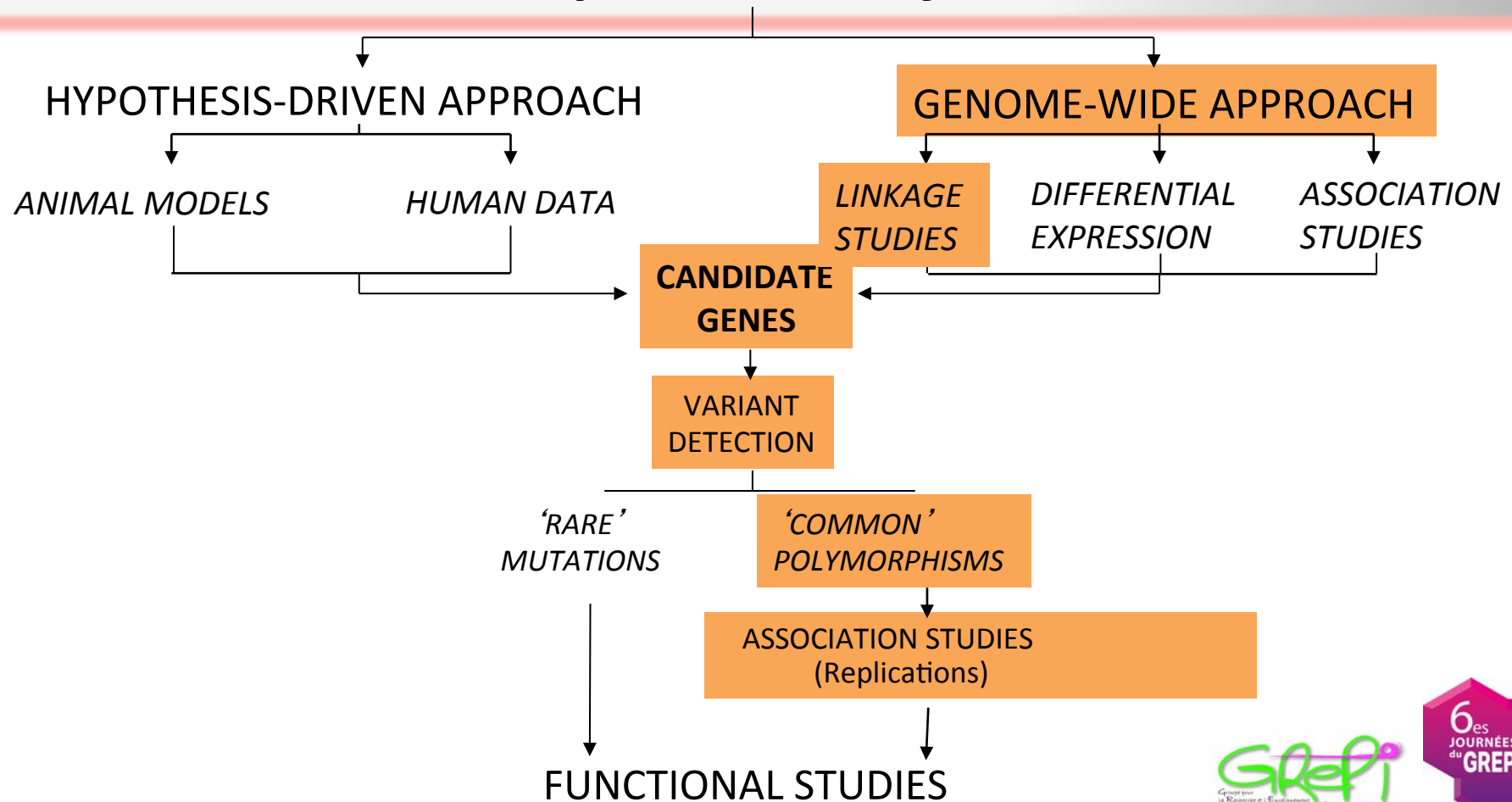


Limites de l'approche gène candidat

Le degré de replication entre les études de gènes candidats est souvent faible

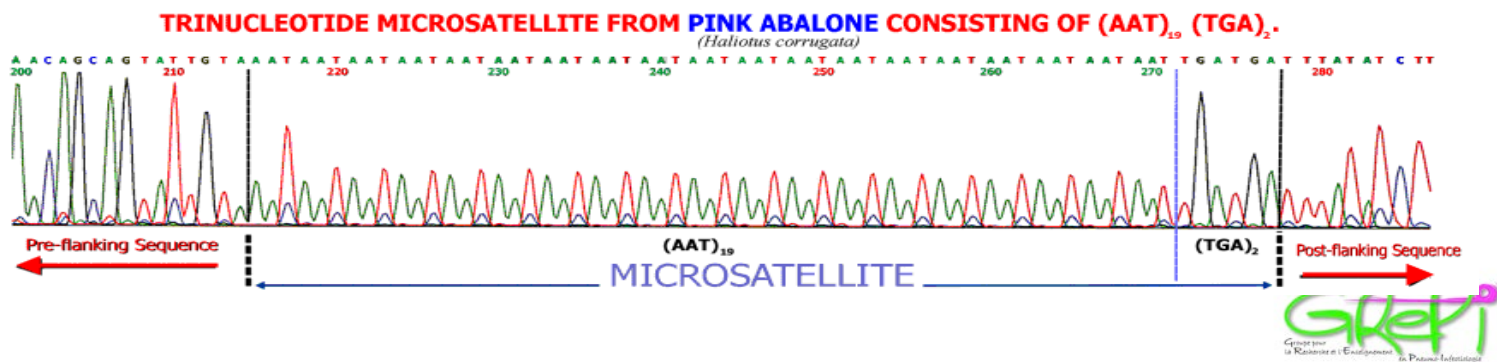
- Validité du choix des gènes candidats !!!
- Petite taille des échantillons
- Stratification inadéquate de la population (hétérogénéité phénotypique, plusieurs sous populations)
- Différences méthodologiques dans les analyses statistiques
- Différences dans les modalités/critères d'analyse phénotypique (microbio/immuno)

Hérédité complexe : analyses de liaison



Analyse de liaison avec microsatellites

- Petites séquences (1 à 4 pb) répétées dans le génome.
- Distribution ubiquitaire, fréquence d'environ 1 microsatellite par 10 kb. **Polymorphisme de longueur** (nombre de répétitions) au même endroit du génome (jusqu'à 40).
- Taux de mutation élevé par rapport au reste du génome ; ils permettent des études évolutives



Hérédité complexe : analyses de liaison

Lod Score, Analyse Paramétrique, Morton, 1955

- \log_{10} du rapport entre la vraisemblance de liaison entre la marqueur (position connue) et le gène de la maladie (position inconnue) pour une distance génétique donnée représentée par le taux de recombinaison q ($0 < \theta < 0,5$) et l'hypothèse d'indépendance génétique entre ce marqueur et le gène recherché (hypothèse nulle: $\theta = 0,5$).
- Plus le lod-score est élevé, plus la probabilité de liaison entre gène et marqueur est grande et inversement
- Lod score $> +3$: hypothèse d'indépendance rejetée, $P = 10^{-4}$. Il y a liaison génétique
- Lod score < -2 : hypothèse de liaison rejetée (pas de "linkage")

Analyse de liaison: l'exemple de la lèpre

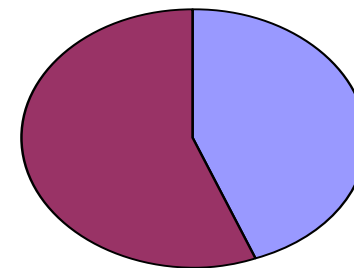


86 familles multiplex

# affected Offspring	2	3	4	5
# families	63	15	6	2

Sous type de lèpre

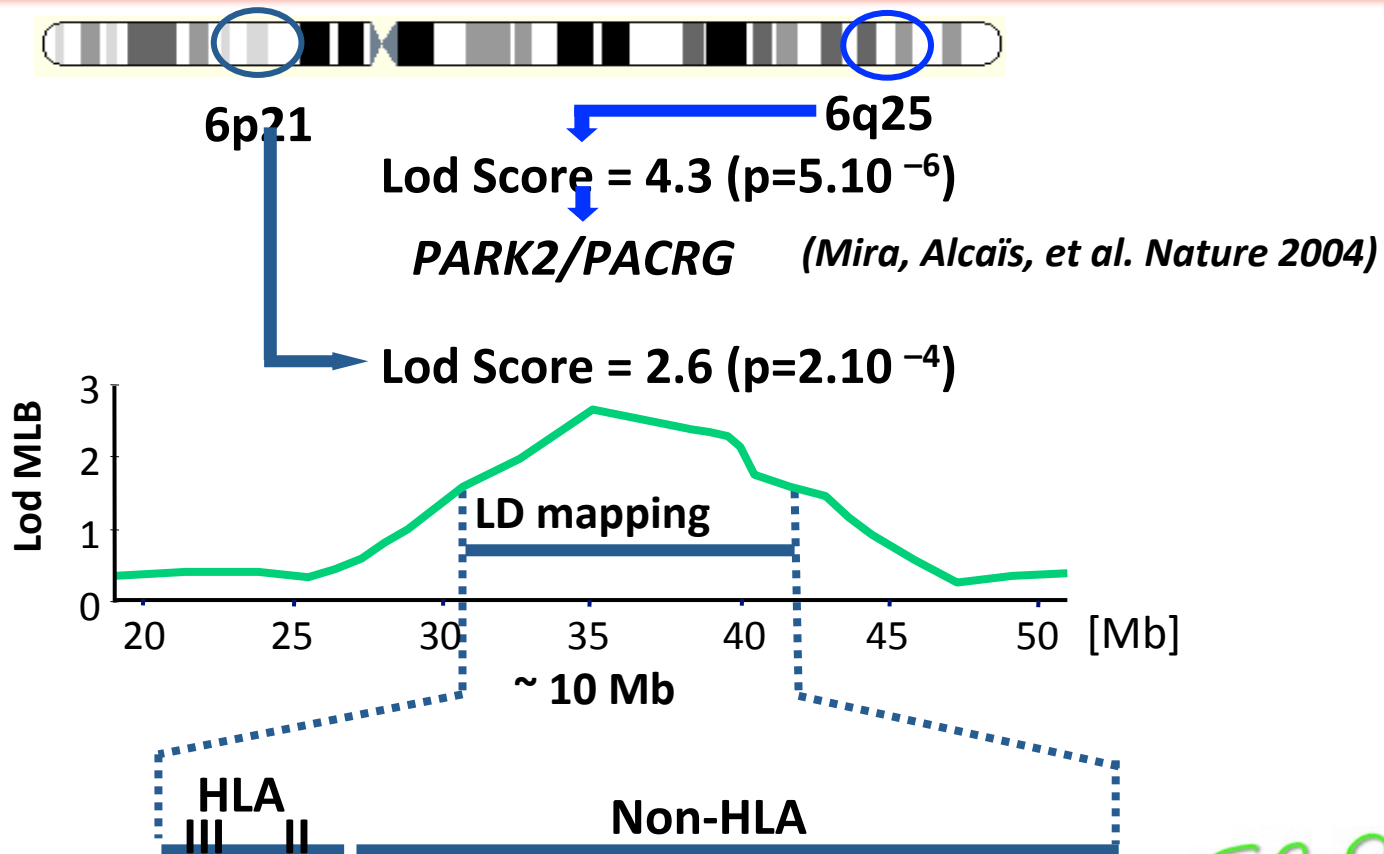
Multi-bacillaire



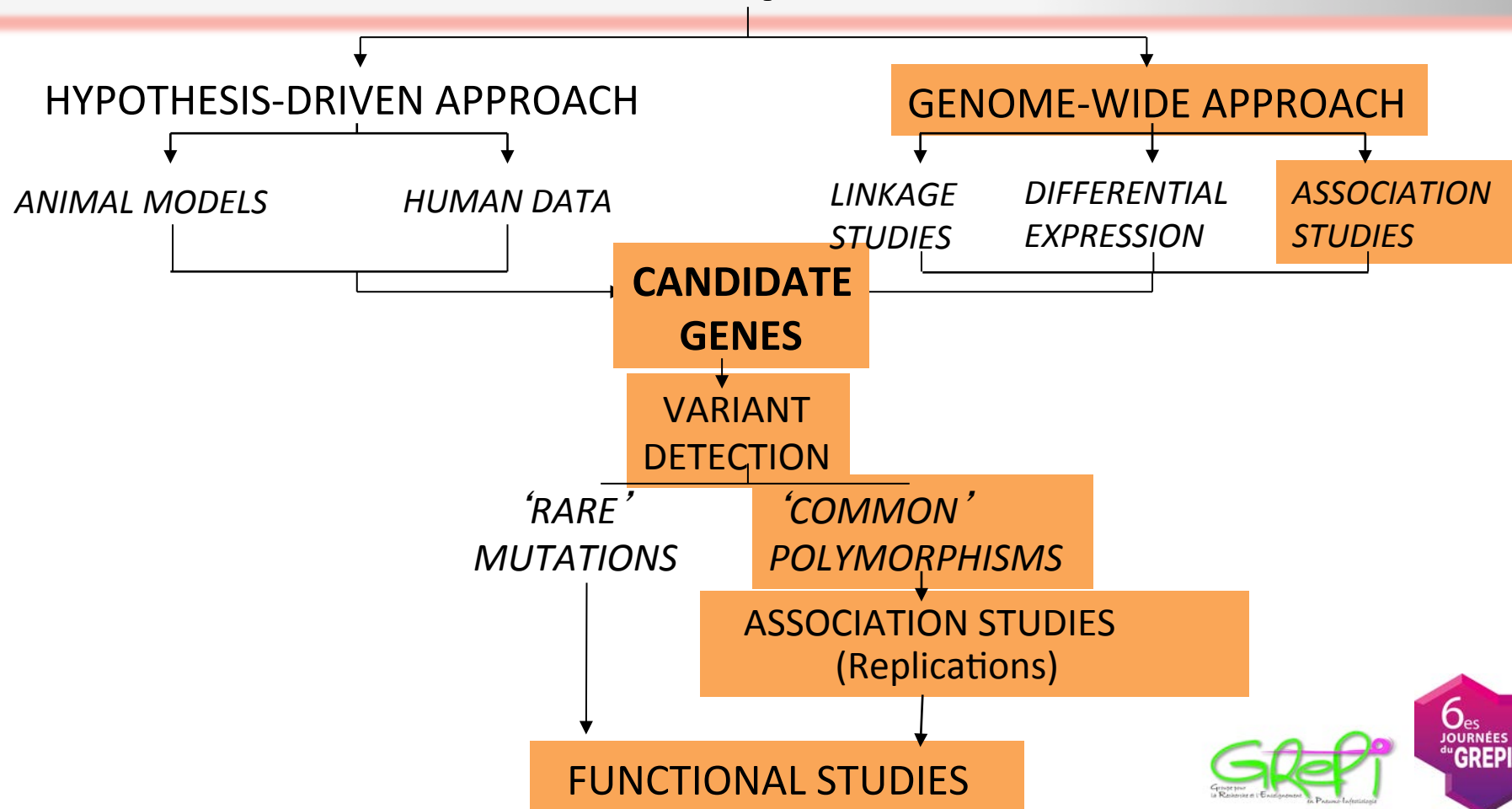
Pauci-bacillaire

Mira et al, Nat Genet, 2003

Analyse de liaison: l'exemple de la lèpre

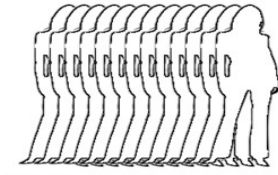


Hérédité complexe: GWAS

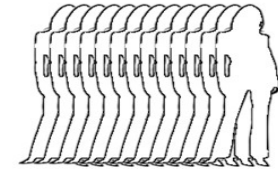


Approche GWAS (Genome Wide Association Studies)

- **Hypothèse:** "Common disease, common variant » . RR 1,1-1,5
- WGS: coût 1M dollars en 2008, 5000 en 2013, WES: 1% du génome
- Rendue possible par les évolutions technologiques récentes: Séquençage du génome humain; génotypage à haut débit par "micro arrays »
- Nécessité de larges cohortes (puissance statistique pour détecter de vraies associations après corrections par des tests multiples): **Standards acceptés** p value $< 10^{-8}$
- Exigence de taille devient énorme pour des maladies moins communes



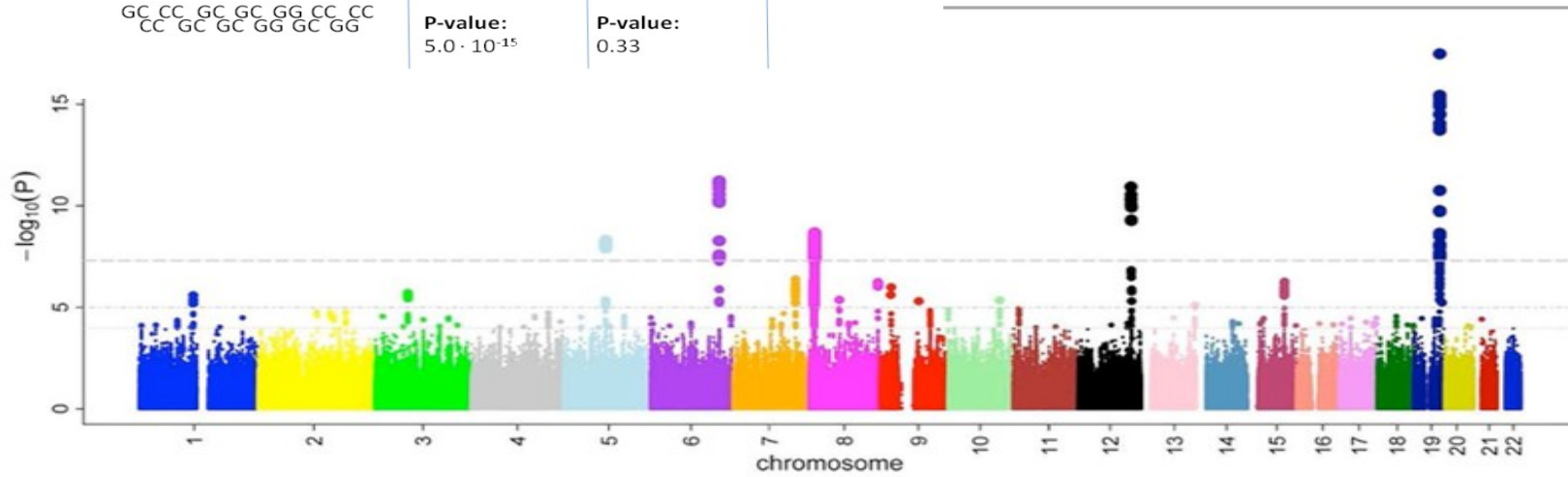
GC CC GG GC CC GC GC
GG CC GC GG GC GG



GC CC GC GC GG CC CC
CC GC GC GG GC GG

SNP1	SNP2	SNP...
Cases Count of G: 2104 of 4000	Cases Count of G: 1648 of 4000	<i>Repeat for all SNPs</i>
Frequency of G: 52.6%	Frequency of G: 41.2%	
Controls Count of G: 2676 of 6000	Controls Count of G: 2532 of 6000	
Frequency of G: 44.6%	Frequency of G: 42.2%	
P-value: $5.0 \cdot 10^{-15}$	P-value: 0.33	

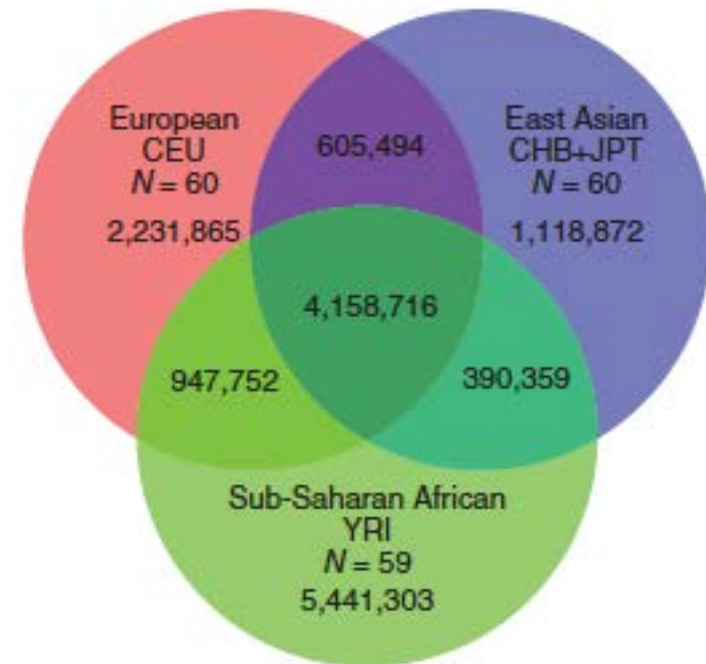
An illustration of a Manhattan plot depicting several strongly associated risk loci. Each dot represents a SNP, with the y-axis...



GWAS: limites

- Populations africaines: Plus grande diversité génétique. Régions en déséquilibre de liaison plus courtes (LD) que dans les autres populations
- Nécessité d'un génotypage effectué à plus haute densité sur des groupes ethniques spécifiques (stratification) pour assurer une couverture correcte à l'échelle du génome

Manolio J. 2010. N Engl J Med
Manry CSHPM 2013



Nombre de SNPs identifiés dans l'étude pilote du 1000 Genomes Project

GWAS: limites

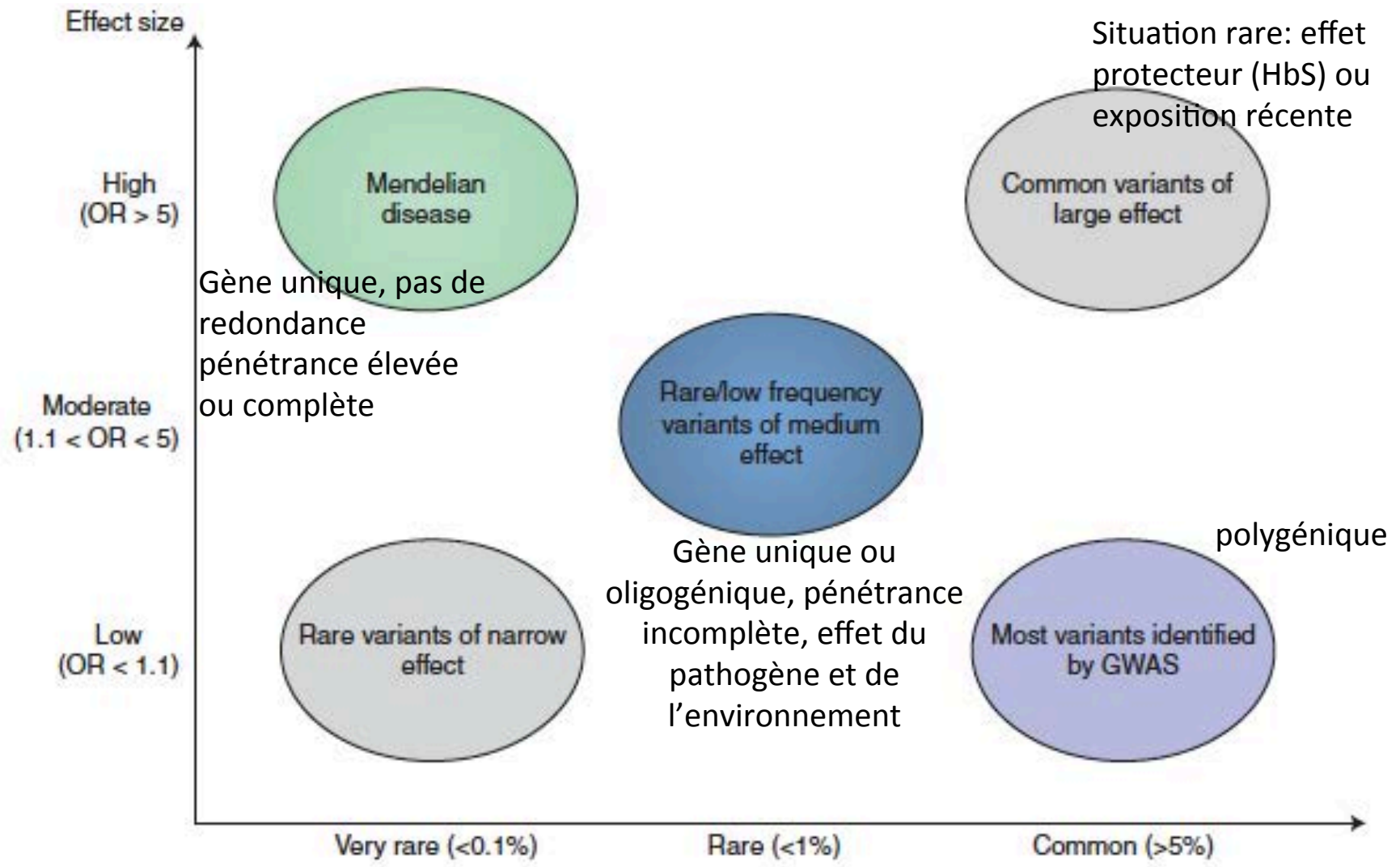
- La plupart des études GWAS reposent sur des "arrays" centrés sur des polymorphismes génétiques communs. Beaucoup de SNP sont rares.
- «Héritabilité manquante»: Variants rares d'effet plus fort non détectés. Le séquençage profond de nouvelle génération devrait permettre l'identification de ces variants rares. Coûts...

Table 1 | Estimates of heritability and number of loci for several complex traits

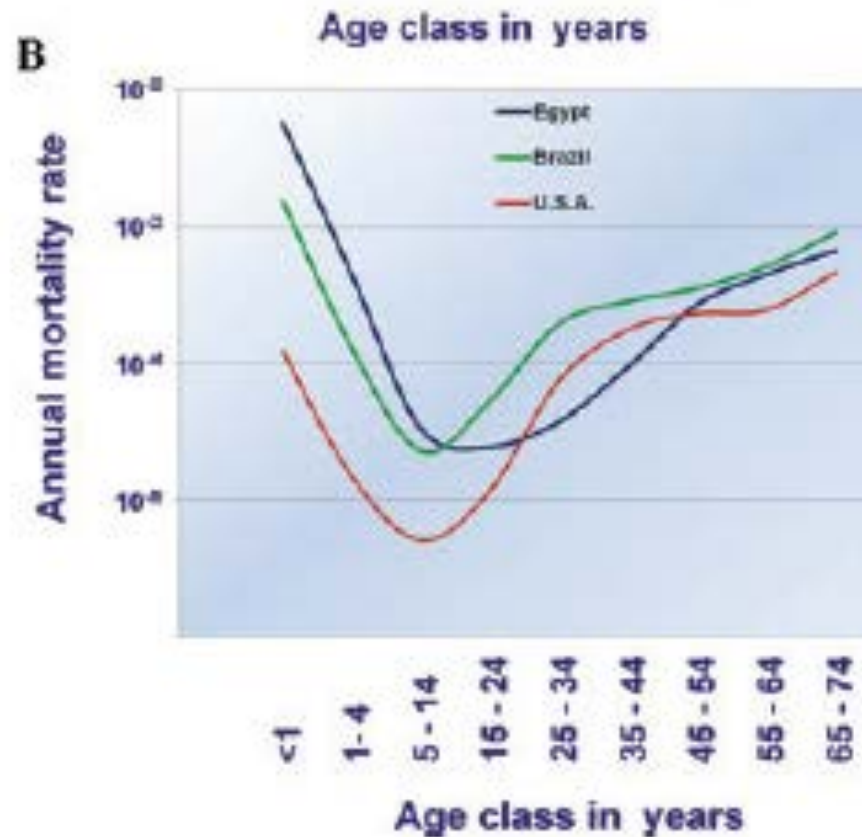
Disease	Number of loci	Proportion of heritability explained
Age-related macular degeneration ⁷²	5	50%
Crohn's disease ²¹	32	20%
Systemic lupus erythematosus ⁷³	6	15%
Type 2 diabetes ⁷⁴	18	6%
HDL cholesterol ⁷⁵	7	5.2%
Height ¹⁵	40	5%
Early onset myocardial infarction ⁷⁶	9	2.8%
Fasting glucose ⁷⁷	4	1.5%

* Residual is after adjustment for age, gender, diabetes.



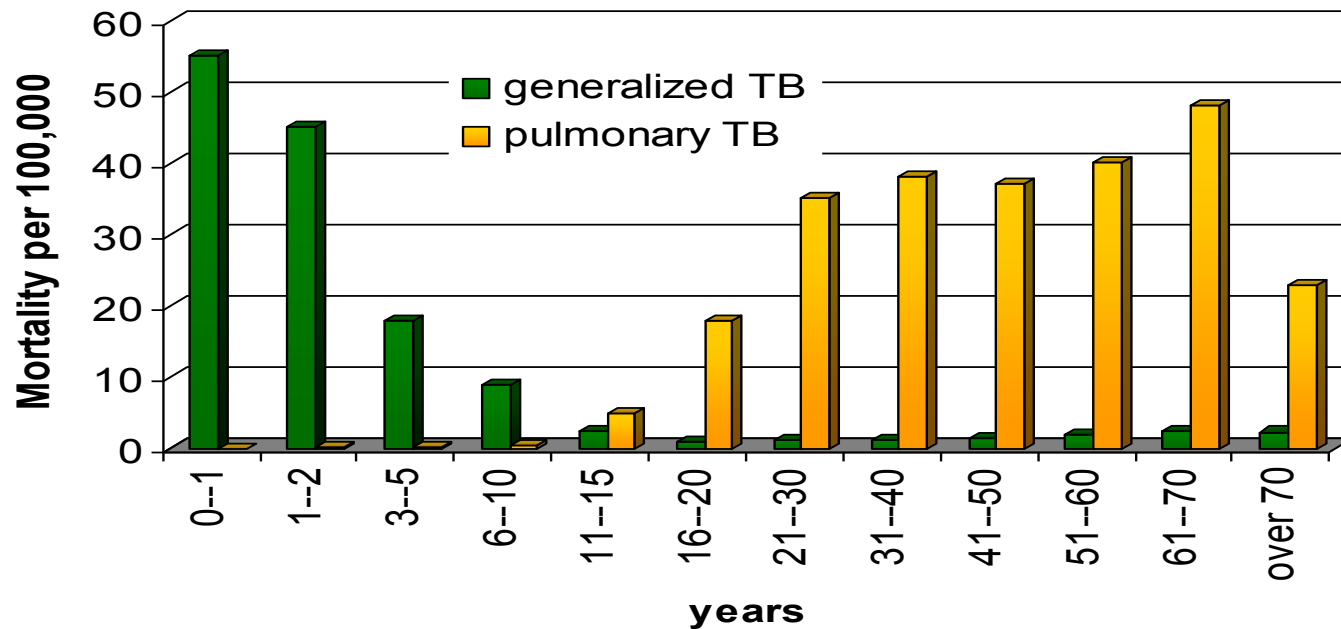


Mortalité par maladie infectieuse



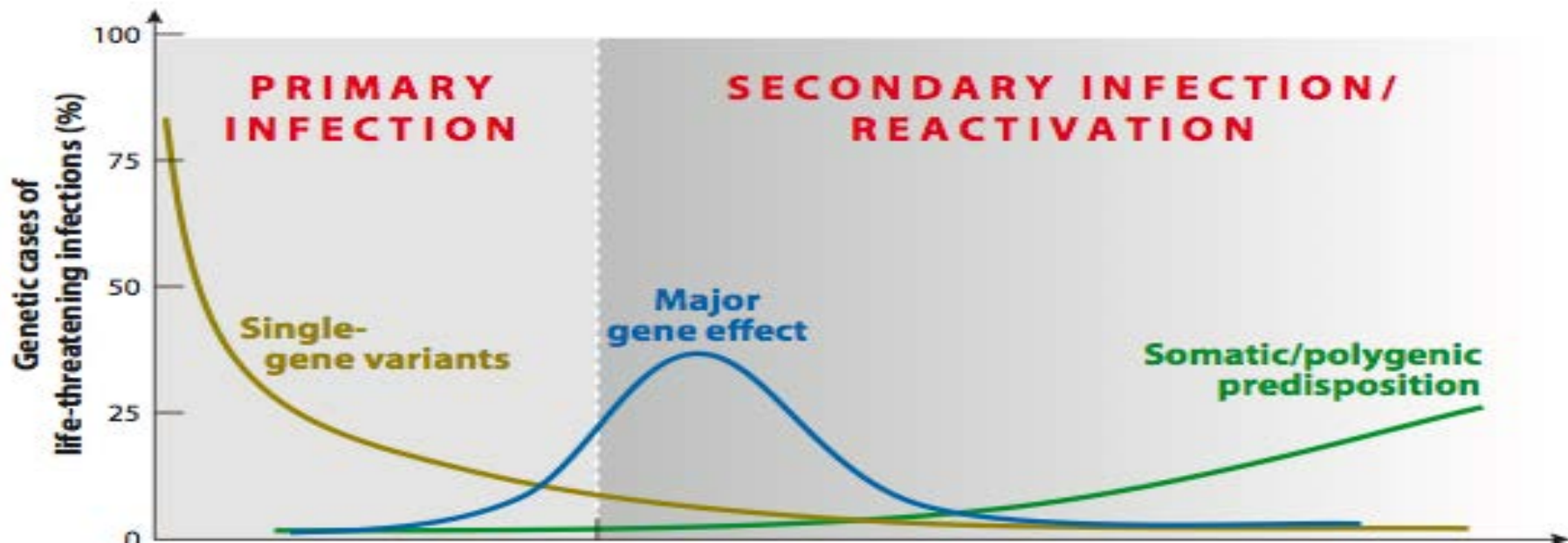
Alcaïs Ann NY Acad Sci 2010

Variabilité de la réponse à la tuberculose



Ranke, K. 1910. *Diagnose und Epidemiologie der Lungentuberculose des Kindes*. *Archiv für Kinderheilkunde* 54:279-306.

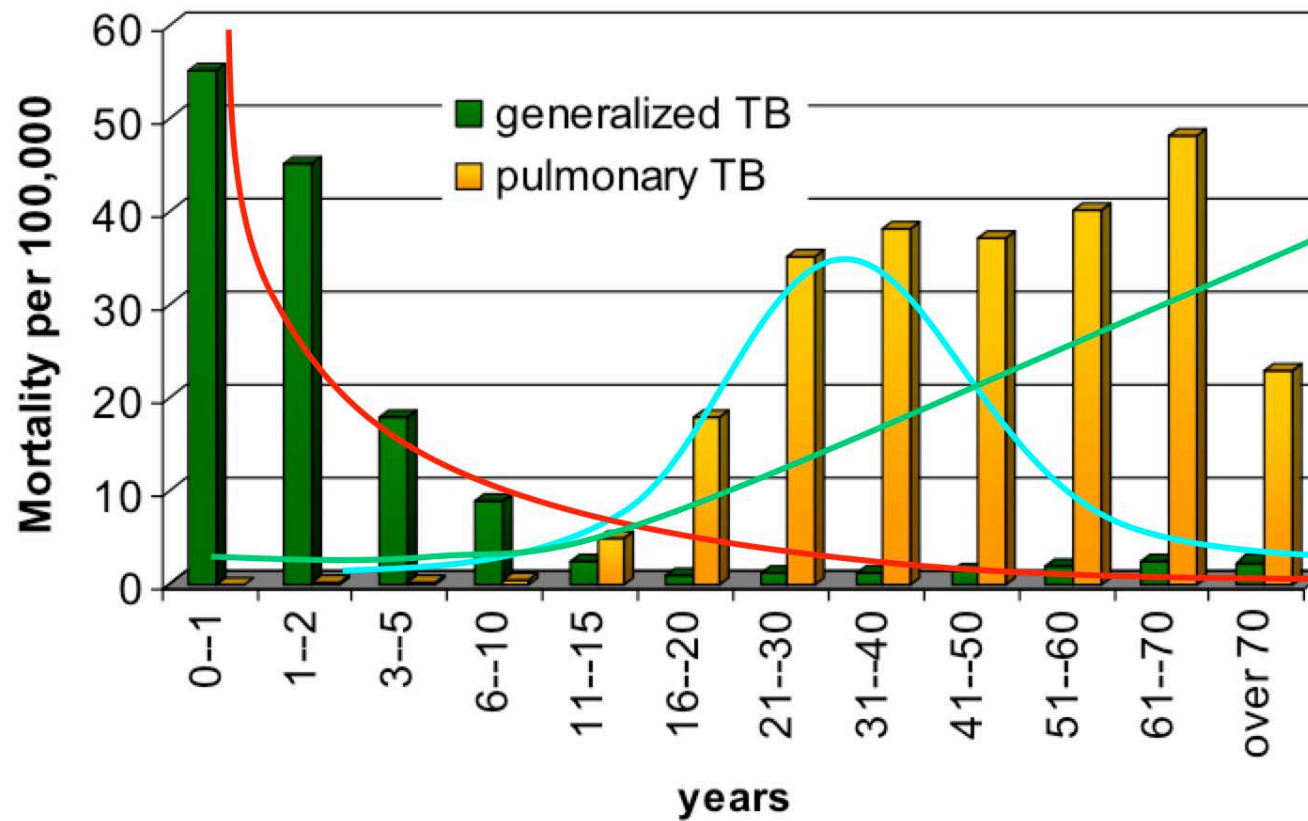
Hypothèse gène unique vs polygénique



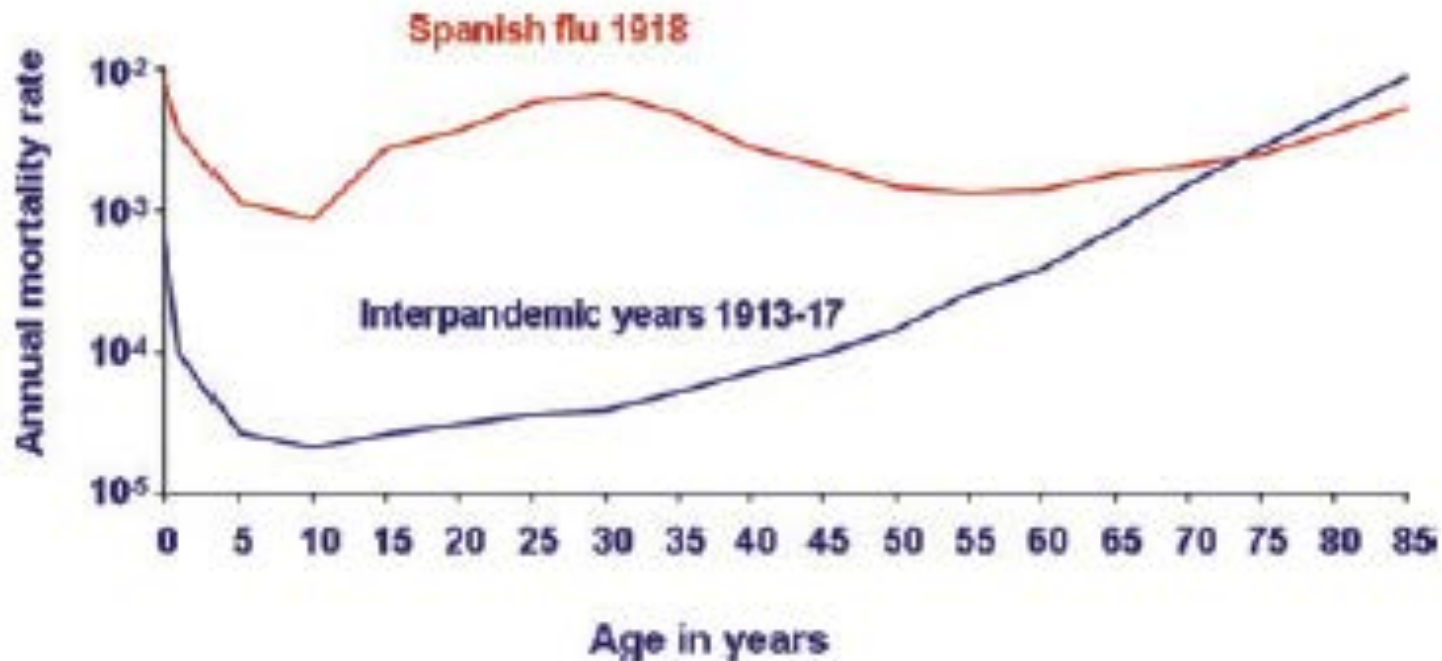
Moins de redondance du système immunitaire pour le contrôle de l'infection primaire que secondaire (moins de gènes impliqués)

Alcaï's Ann NY Acad Sci 2010

Hypothèse gène unique vs polygénique



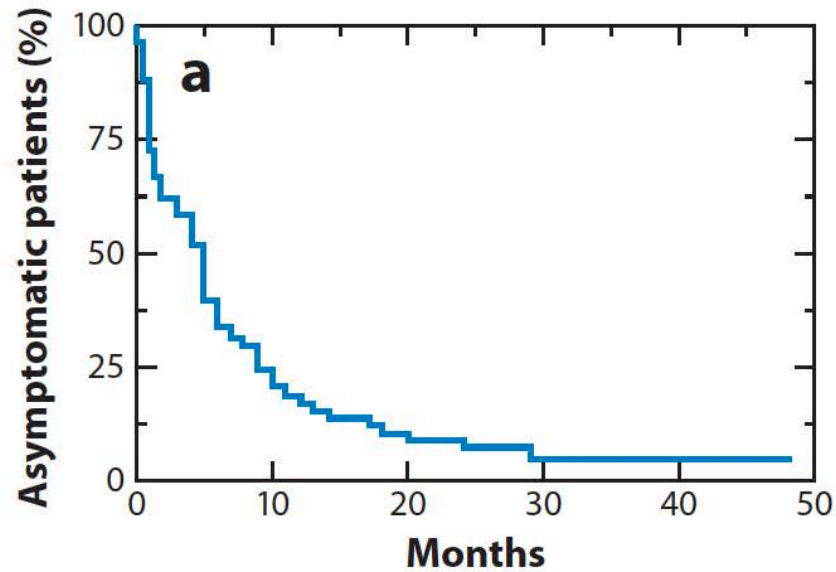
Variabilité de la réponse à la grippe



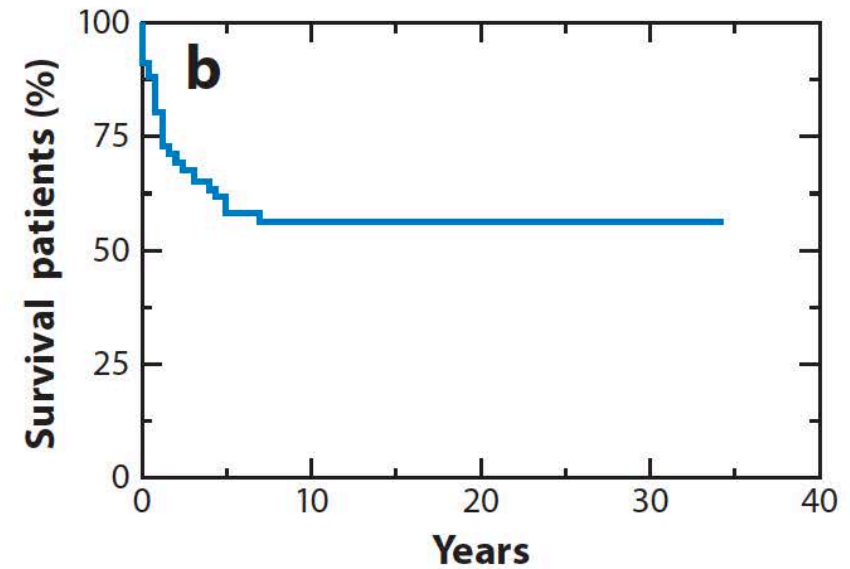
Pourcentage de formes sévères varie de 0,04 à 0,4% des cas symptomatiques pendant la saison habituelle à 1-10% pendant la pandémie

Alcaïs Ann NY Acad Sci 2010

Infections primaires vs secondaires, exemple d'IRAK4/MYD88

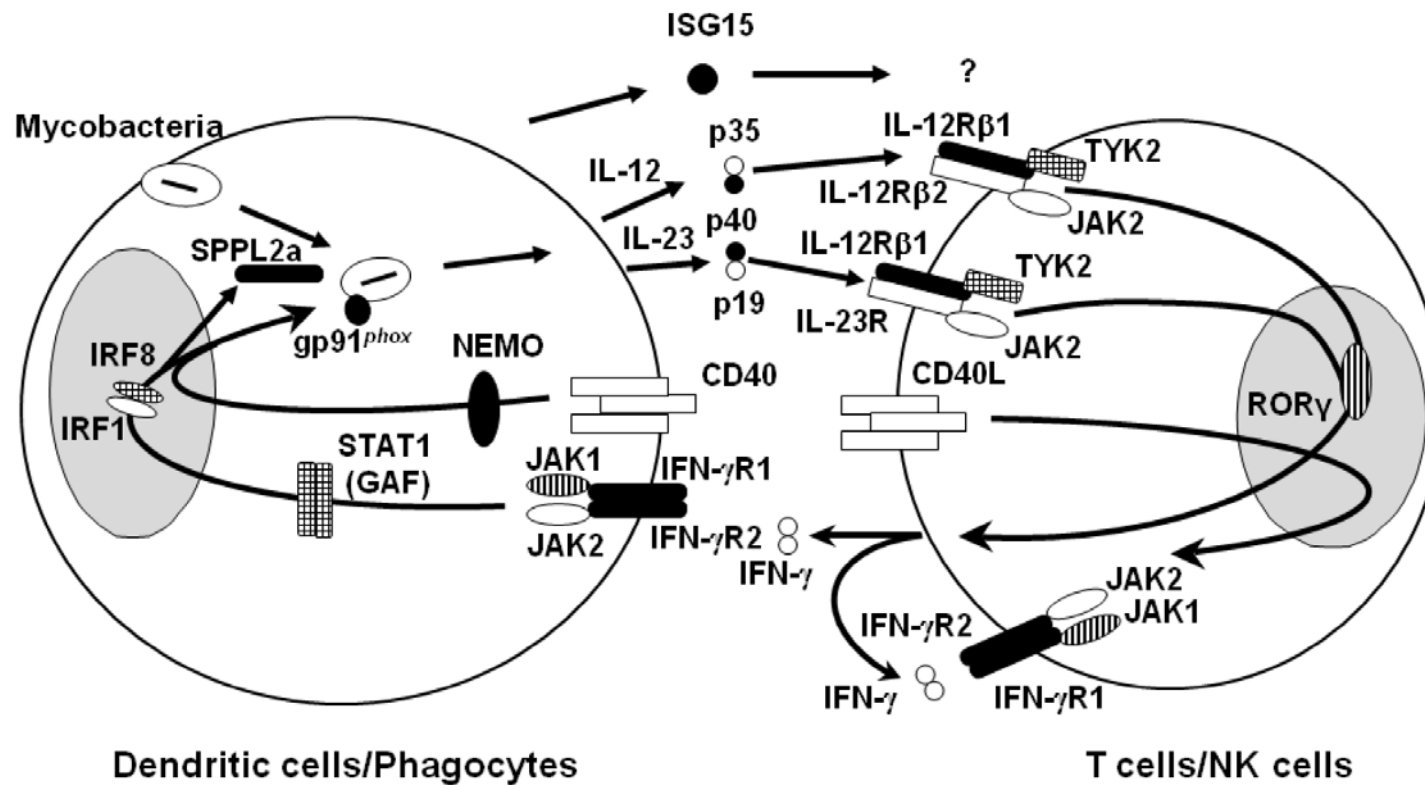


Number of patients without infection



Number of alive patients

Susceptibilité mendélienne aux infections mycobactériennes



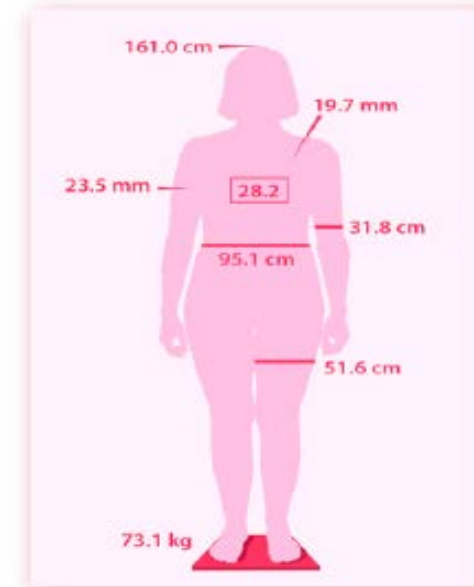
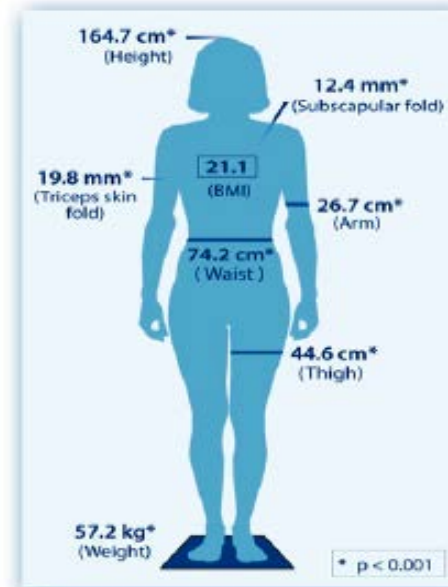
Dendritic cells/Phagocytes

T cells/NK cells

Rosain Immunol Cell Biol 2018

Susceptibilité génétique aux infections pulmonaires à MNT?

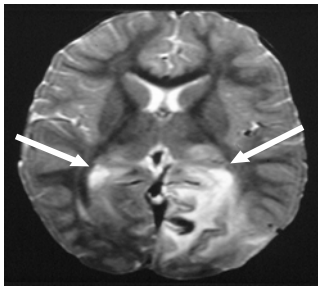
- Femme de plus de 60 ans, plus grande et plus mince que les contrôles
- Fréquence augmentée de:
 - Scoliose
 - Pectus excavatum ou rétrécissement antero-postérieur du thorax
 - Prolapsus valvulaire mitral



Iseman Am Rev Respir Dis 1991
Maekawa Chest 2011
Kim AJRCCM 2008
Kartalija AJRCCM 2012

Anomalies morphologiques liées sur le plan génétique, phénotype marfanoïde

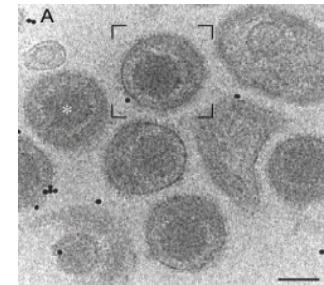
Encéphalite à Herpes simplex (HSE)



ISOLATION OF THE VIRUS OF HERPES SIMPLEX
AND THE DEMONSTRATION OF INTRANUCLEAR INCLUSIONS
IN A CASE OF ACUTE ENCEPHALITIS*

MARGARET G. SMITH, M.D., EDWIN H. LENNETTE, M.D., AND
HAROLD R. REAMES, Ph.D.

*(From the Department of Pathology, Washington University
School of Medicine, St. Louis, Mo.)*



Am J Pathol, 1941

Plus de 85% des adultes infectés à HSV dans le monde, infections asymptomatiques ou bénignes.

Encéphalite sporadique: 2-4 personnes par million par an, enfants, 12% de consanguinité
Pas de susceptibilité aux autres infections, pas de PID associé
aux encéphalites herpétiques

Casrouge et al, Science, 2006

GREPI
Groupe pour la Recherche et l'Enseignement en Pédiatrie Infectieuse

6^{es}
JOURNÉES
du GREPI

HSE: une maladie génétique? Stratégie

HSE Cohort

Candidate Pathway

>150 patients

IFN- α , β Production

IFN- α , β Response

→ Genetic Screening

Genome-wide

21 consanguineous families

Linkage Scan

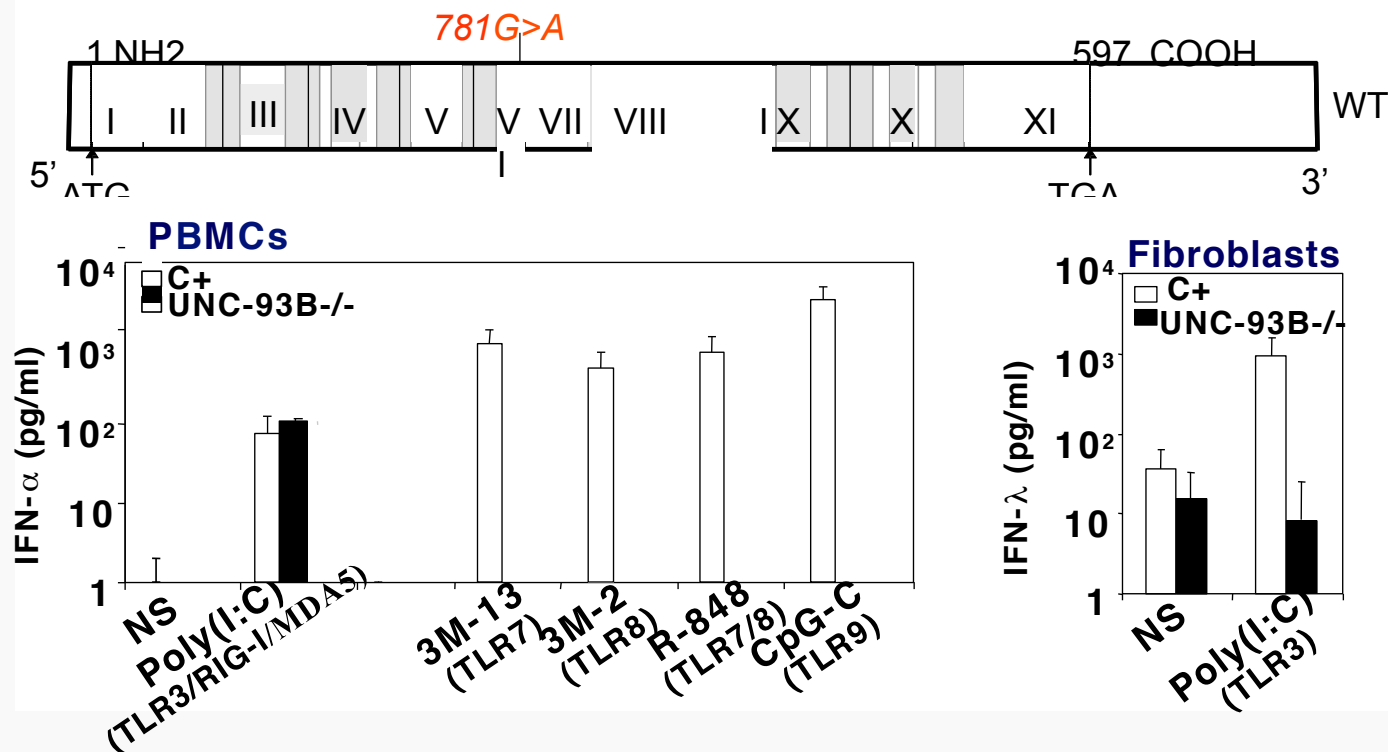
Fine Mapping

→ Candidate Genes

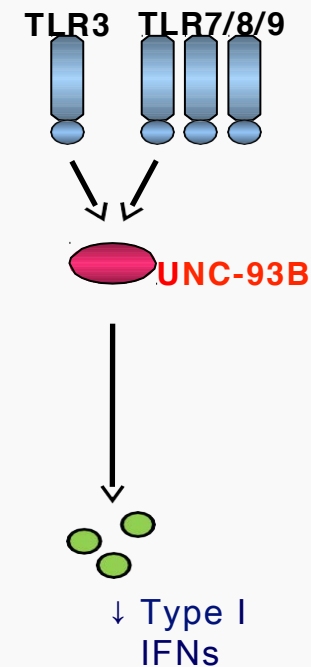
Exome sequencing



Autosomal Recessive (AR) UNC-93B deficiency: First genetic etiology of isolated HSE



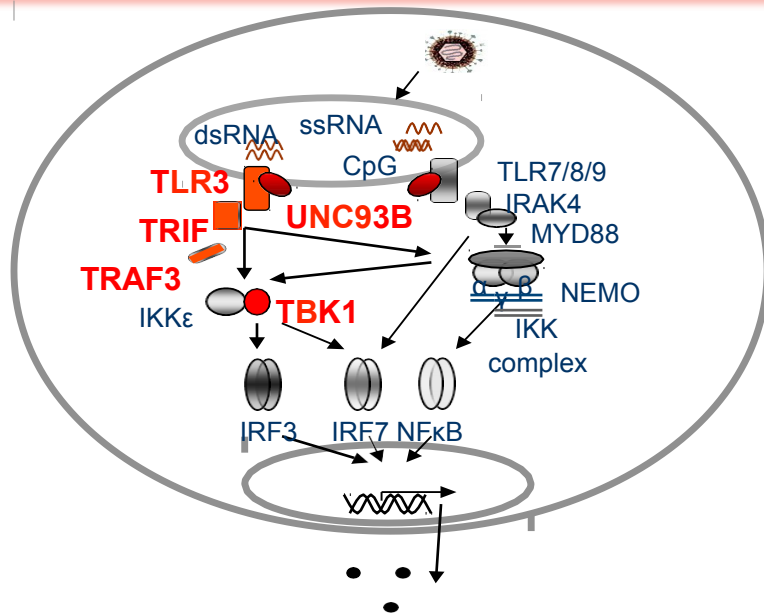
2 patients homozygous for LOF *UNC93B* mutations



- Impaired production of IFN-α , -β, and -λ
- no response to TLR3, TLR7, TLR8, TLR9

Casrouge et al, Science, 2006

Gènes de susceptibilité à l'encéphalite herpétique dans la voie TLR3



UNC93B: AR
TLR3: AD and AR
TRIF: AD and AR
TRAF3: AD
TBK1: AD

Impaired production of IFN- α , - β \rightarrow IFN- α treatment in addition to acyclovir?

Genome-wide search for the role of other genes/pathways

- Positional cloning in consanguineous families
- Whole exome sequencing

Casanova, GHMI

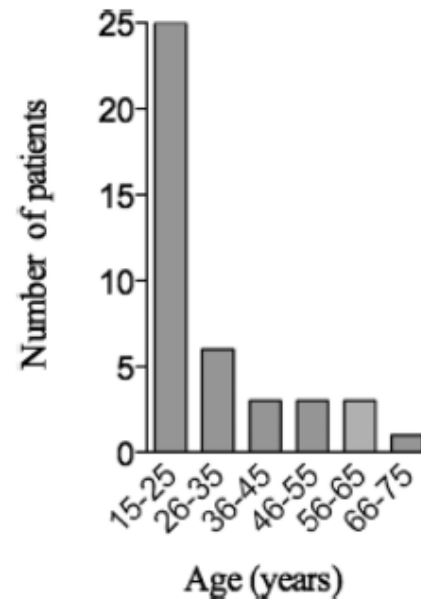
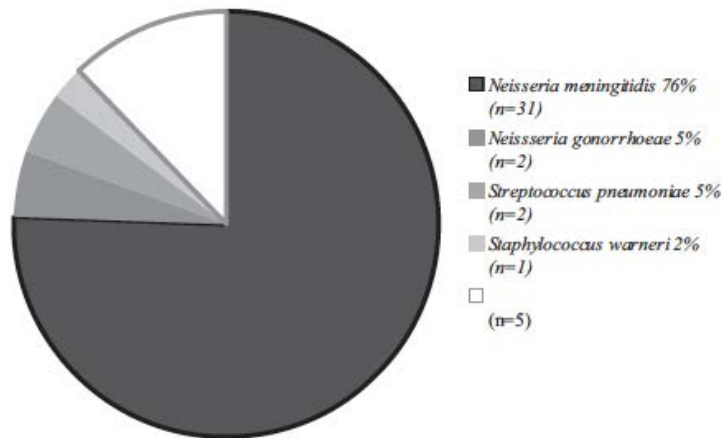
Implications générales

- *Sur le plan immunologique:*
- Patients déficients UNC93B/TLR3 : prédisposition élective aux infections du SNC à HSV-1 (*Lafaille et al, Nature 2012*)
- →TLR3 et 7/8/9 redondant dans la défense contre de nombreux virus en conditions naturelles (the 'human model')

- *Sur le plan génétique*
- Nouveau PID lié à de rares variants génétiques uniques
 - Les formes d'infections communes peuvent être liées à une mutation sur un seul gène (gène majeur)
 - Autres exemples : grippe sévère (*IRF7*) *Ciancanelli Curr Opin Immunol 2016*

Infections bactériennes sévères chez l'adulte

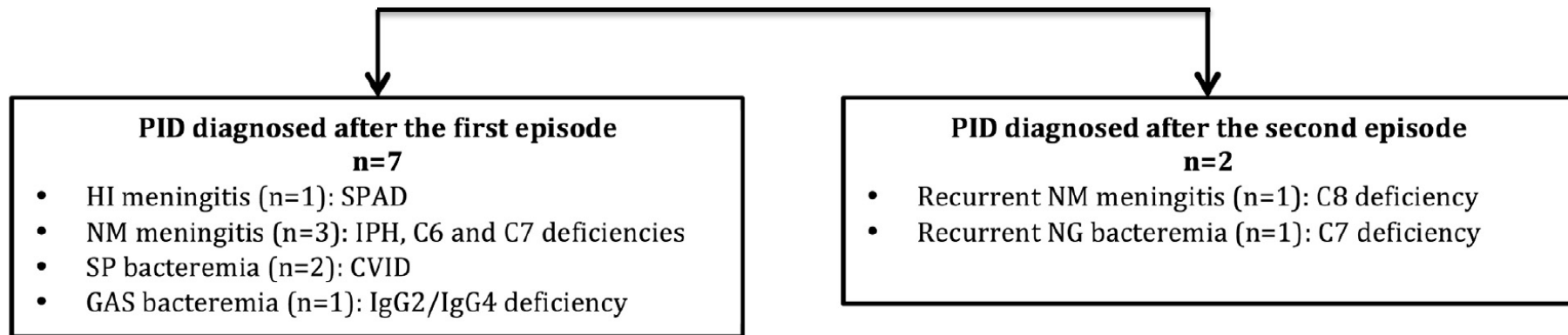
- Etude rétrospective française multicentrique des déficits en complément, 41 adultes
- La moitié: antécédent d'infection avant l'épisode ayant conduit au diagnostic



Audemard-Verger Medicine 2016

Infection bactérienne sévère chez l'adulte

- Patients de 18-40 hospitalisés (2010-2012, 3 hôpitaux, CHU de Lille): 38/1245 : infection invasive sans facteur favorisant:
- Méningite 25, pneumopathie bactériémique 9, Arthrite 2, bactériémie 2 (pneumocoque, méningocoque, *Haemophilus*, Strepto A)



Infection bactérienne sévère chez l'adulte: SPAD

Patient No.	Age (y)/ Gender	Severe Bacterial Infections Before Diagnosis				Other Bacterial Infections Before Diagnosis	Specific Polysaccharide Antibody Deficiency Phenotype	Treatment	Follow-up After Diagnosis (mo)	Bacterial Infections After Diagnosis
		Clinical	Bacteria ^a	Frequency	Complication					
1	60/F	Bacteremia	NM serotype C	Isolated		Mild	Conjugate vaccines	17	None	
2	17/F	Meningitis	NM serotype Y	Isolated		Severe	Conjugate vaccines	6	None	
3	26/M	Meningitis	NM serotype B	Isolated		Moderate	Conjugate vaccines	35	None	
4	64/F	Meningitis, purpura fulminans	NM serotype C	Isolated	Labyrinthitis	Severe	Conjugate vaccines	34	None	
5	18/M	Bacteremia, septic shock	Hib	Isolated	Pericardial tamponade	Moderate	Conjugate vaccines	17	None	
6	33/F	Meningitis	SP	Isolated	Seizures	Severe	Conjugate vaccines	27	None	
7	25/F	Meningitis, pneumonia	Hib, SP	2 hosp. in the previous 5 y		Recurrent sinusitis	Moderate	Ig replacement	7	None
8	35/F	Pneumonia		4 hosp. in the previous 5 y	Pleurisy (n = 1)	Recurrent bronchitis and upper respiratory tract infections	Mild	Ig replacement	16	None
9	34/F	Pneumonia	SP, <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 hosp. in the previous 4 y	Pleurisy (n = 1), multilobar (n = 1), septic shock (n = 1), hypoxemia (n = 5)	Chronic rhinosinusitis	Severe	Ig replacement	14	None
10	64/F	Pneumonia	SP, Hib	8 hosp. in the previous 4 y	Hypoxemia (n = 8), pleurisy (n = 2), multilobar (n = 3)		Severe	Ig replacement	7	None
11	22/M	Pneumonia		Isolated		Recurrent bronchitis, bronchiectasis	Moderate	Ig replacement	24	None

Même équipe
(2013-2016)
Bénéfice clinique des
immunoglobulines

Lopez CID 2017



Réponse aux antigènes polysaccharidiques

- Une « bonne réponse » c'est :
 - Une vaccination par le Pneumovax® + prélèvement à 4-8 semaines
 - Un dosage d'anticorps *sérotype par sérotype, sur ELISA « OMS »*
 - Cut-off : 1,3 µgr/mL par sérotype
 - et taux x 4
 - pour au moins 70 % des sérotypes testés (50 % en pédiatrie)

J. Orange et coll. Annals of Allergy, Asthma & Immunology 2012.

ELISA OMS, 7 sérotypes

France:
Cochin, Pr Batteux

Sérotype	4	6B	9V	14	18C	19F	23F
Avant vaccination (µg/mL)	0,10	0,33	0,10	0,18	0,77	0,14	0,68
Après Pneumo23® (µg/mL)	0,10	0,37	0,10	0,19	2,15	0,73	7,67

ELISA « réponse globale »

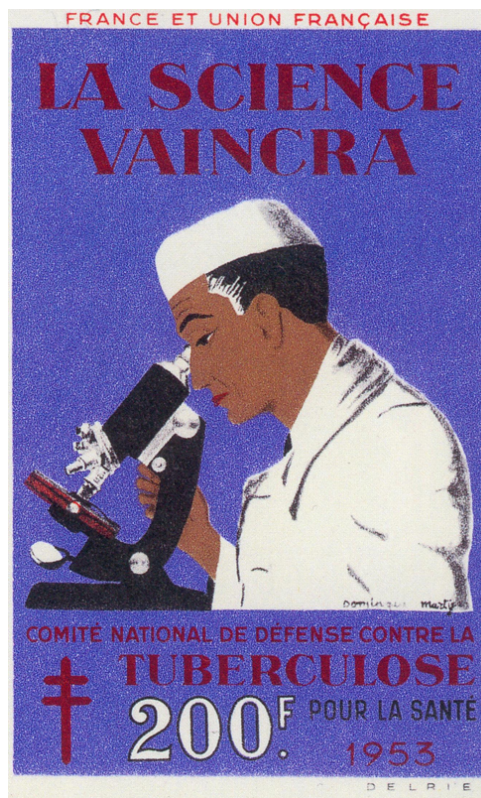
Réponse globale	
Avant vaccination (mg/L)	18
Après Pneumo23® (mg/L)	142



Take Home messages

- Infection sévère chez un patient immunocompétent: contradictoire
- Evoquer un déficit immunitaire devant une infection sévère même isolée sans anomalie sur les tests génétiques classiques
- Effet gène majeur: continuum avec les défauts mendéliens à pénétrance complète
- Penser à l'arbre généalogique
- Contacter le CEDI à Necker et/ou le laboratoire de Génétique Humaine des Maladies Infectieuses en cas de patients suspect
- Déficit en Ac polysaccharidique: significativité clinique semble réelle

Merci de votre attention



GREPI
Groupe pour
la Recherche et l'Enseignement
en Pneumologie Infectieuse

