

**Temporal Response of the Human Virome to Immunosuppression and Antiviral Therapy**

**De Vlaminck, Kush, Strehl, Kohli et al. Cell, 155, p1178-1187 2013**

---

**Hintergrund:**

- Das humane bakterielle „Mikrobiome“ ist nun als wichtige Komponente von Gesundheit akzeptiert.
- Verschiedene Faktoren beeinflussen die Speziesvariabilität des bakteriellen Mikrobiom: Alter, Diät, geographische Lokalisation, antibiotische Behandlung, und Krankheit.
- Die Zusammensetzung des Virome ist noch relativ schlecht untersucht. Wenig ist bekannt zur Modulation und Variabilität der Spezies.
- Nach Transplantation gibt es verschiedene Faktoren die eine Rolle spielen könnten: Immunosuppression und antivirale Prophylaxe (und HLA Mismatch).
- Inverse Korrelation zwischen Immunosuppression und Infektionen (**Figur 1A**).

**Ziel:** Wie verhält sich die virale Zusammensetzung nach Transplantation?

**Methoden:**

- Stanford University Hospital oder Lucile Packard Children's Hospital, Stanford, United States.
- 1mL Plasma, gelagert bei -80°C bis zur Analyse
- DNA Extraktion (QIAmp Circulating Nucleic Acid Kit, Qiagen)
- Sequencing library und Sequenzierung mit Illumina Plattform und entsprechenden Kits.
- Computational Subtraktion von humanen Sequenzen: Nur 2% humane DANN Kontamination. Die übrigen übrigbleibenden nicht humanen, einzigartigen Sequenzen mit hoher Qualität wurden mittels BLAST gegen eine Referenzdatenbank von viralen (n=1401), bakteriellen (n=1980) und fungalen (n=32) Genomen verglichen.
- Kontrolle Kontamination: Defined templates und non-template control (dH<sub>2</sub>O).

**Resultate:**

Patienten.

- Total wurden 656 Plasma Proben welche longitudinal bei 96 transplantierten Patienten gesammelt wurden untersucht: 41 adulte Herztransplantation, 24 pädiatrische Herztransplantation, 31 adulte Lungen.

- Insgesamt 820Gbp Sequenzierungsdaten mit einem Durchschnitt von 1.25Gbp per Sample.
- Einschluss der Daten über einen Verlauf von 2 Jahren.

#### DNA Sequenz Analysen.

**Figur 1F** zeigt die relative Häufigkeit der verschiedenen Gruppen/Spezies mit unterschiedlichen Ebenen der taxonomischen Klassifikation.

73% Viren, 25% Bakterien, 2% Pilze. Von Viren sind 72% ssDNA und 28% dsDNA Viren. Am dominantesten war die Familie der *Anelloviridae* (Torque Teno Viruses, TTV). Gefolgt von Herpesviren (13%) und Polyomaviren (5%).

Bakterien: Lactobaicillales 36%, Burkholderiales 17%.

#### Sensitivität der Viruszusammensetzung basierend auf den Medikamenten.

Das virale Microbiome ist sehr stark abhängig von immunsuppressiven oder antiviralen Medikamenten. Das bakterielle Mikrobiom im Plasma ist relativ stabil.

**Figure 2A** zeigt die Verteilung basierend auf Tacrolimus und Valganciclovir. Je höher die Tacrolimus Dosis desto höher der Anteil an *Anelloviridae*.

Im Vergleich zu gesunden Blutspendern zeigen sich eine eingeschränkte Diversität v.a. bei hohen Medikamentendosen (**Figure 2B**).

#### Dynamische Antwort des Viroms auf immunsuppressive Therapie.

Im Verlauf der post-Transplantationsphase zeigt sich eine deutliche Zunahme der *Anelloviridae* und eine Einschränkung der Diversität. Dies korreliert mit der Gabe von Tacrolimus (**Figure 3B**).

Interessanterweise besteht eine Assoziation zwischen Abstossungsreaktion und einer negativen PCR für *Anelloviridae* (ROC AUC: 0.72). Dies könnte allenfalls als diagnostischer Test für eine zu starke oder zu schwache Immunsuppression verwendet werden (**Figur 5A/C**).

#### **Eigene kritische Punkte:**

- Heterogenes Kollektiv aus pädiatrischen und adulten Patienten. Für gewisse Viren z.B. Polyomavirus JC zeigt sich erst in der Adoleszenz eine Serokonversion (Egli et al. JID, 2009).
- Serologischer Status der Patienten und Donoren?
- RNA Viren wurden nicht erfasst.
- Bakteriell Mikrobiom whs. durch die Art des Grafts erklärt.
- Sensitivität? Plasma versus Vollblut?
- Marginale Diskussion: virale Replikation benötigt viele Signalwege, welche allenfalls durch IS inhibiert werden? Konkurrenz zwischen Signal und Replikationsmechanismen.