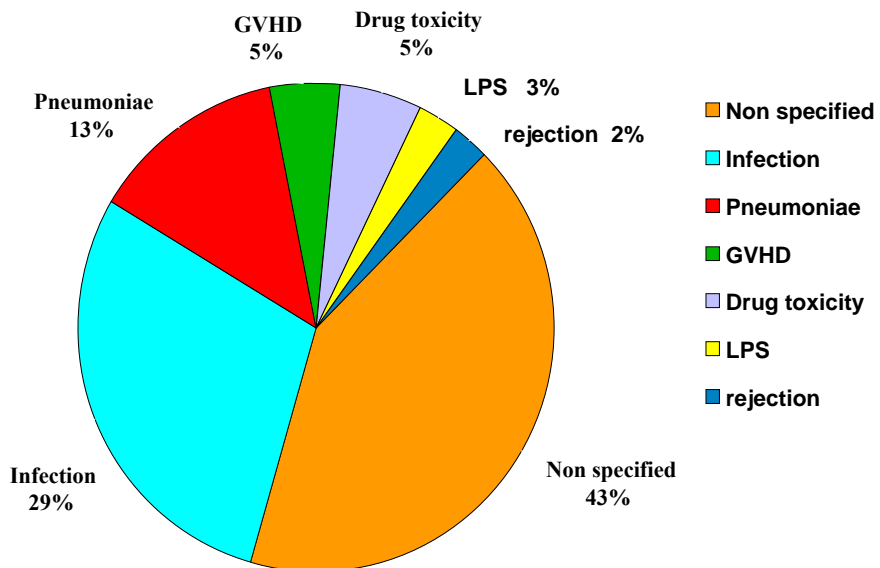


Virus et greffe

N Milpied
Hématologie CHU Nantes

Causes de décès après greffe (n=197)



Landais Lancet 2003

Infections virales après greffe de CSH

| | Incidence | Mortalité | Traitement | Limites |
|-------------------|---------------|----------------|--|--|
| Adénovirus | 6-25% | 4.5-36% | Ribavirin ganciclovir cidofovir | inefficacité myelosuppression |
| CMV | 70-90% | 30-60% | ganciclovir Acyclovir foscarnet | myelosuppression |
| EBV | 3-25% | 50% | ganciclovir Acyclovir chemo or radiotherapy Anti-CD20 | Inefficacité |

Virus et greffe

- **Pourquoi ?**
 - Lesquels ?
 - Quand ?
 - Quel risque ?
 - Que faire ?

PRINCIPE DE LA GREFFE

Bilan pré-greffe: Histoire. Sérologies virales. FAISABILITE

CONDITIONNEMENT: ICT/Chimio/immunosup
GREFFE

TOX MUQUEUSE

NEUTROPENIE

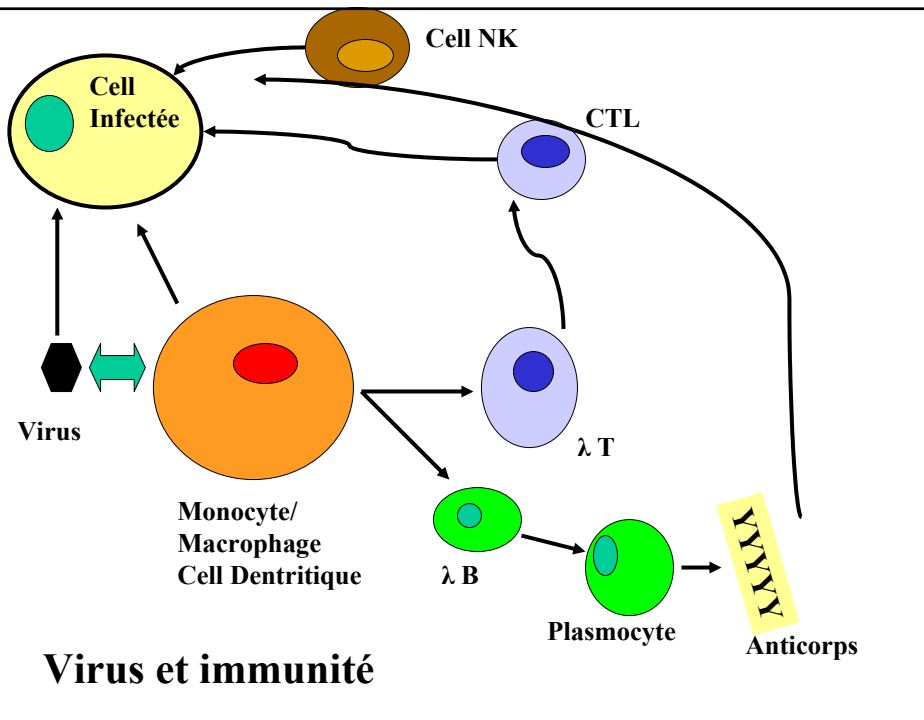
PRISE DE GREFFE

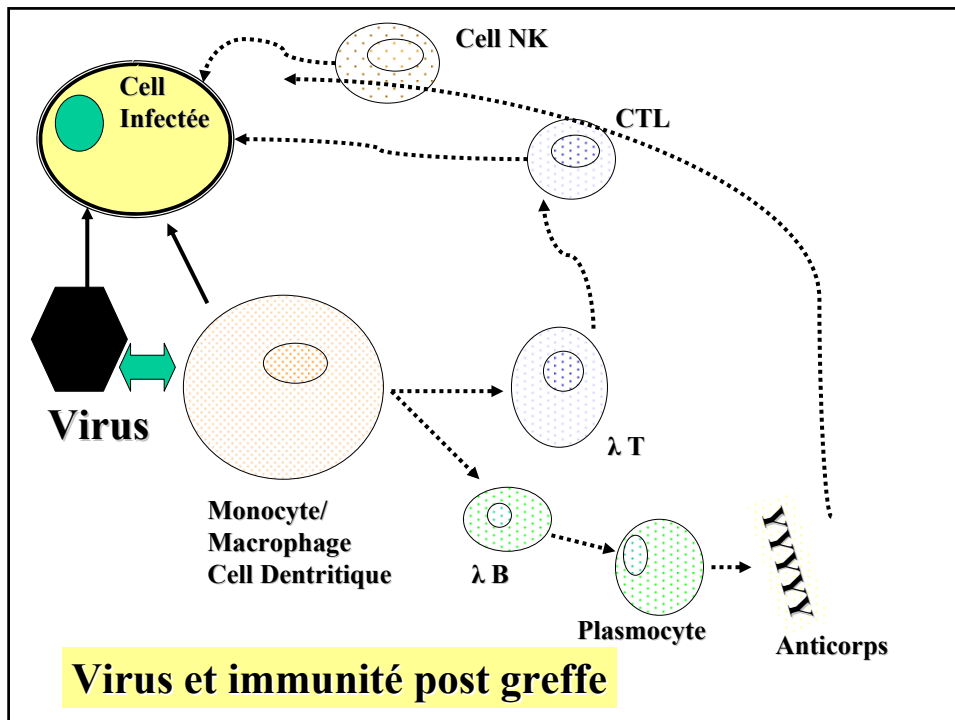
AUTO

ALLO / GVH

RECONSTITUTION
IMMUNO RAPIDE

IMMUNODEP >6 M
++ SI GVH





Virus et greffe

- Pourquoi ?
- **Lesquels ?**
- Quand ?
- Quel risque ?
- Que faire ?

Lesquels ?

Tous sont possibles:

HSV 1,2- CMV- EBV- HHV 6 - VZV
VRS- *MyxoV*- *ParamyxoV*- autres virus
respiratoires.
Adénovirus....

Virus et greffe

- Pourquoi ?
- Lesquels ?
- **Quand ?**
- Quel risque ?
- Que faire ?

COMPLICATIONS INFECTIEUSES APRES AUTOGREFFE

MOIS APRES LA GREFFE

0 1 2 3 4 5 6 10 12

[- BACT----]

[-CAND- ASP-]

[-HSV-----]

[-VZV-----]

[-CMV-----] Risque si greffe de cellules CD 34 +

[-PNEUMOCYSTIS CARINI-----]

[-BACTERIES ENCAPSULEES-----]

HSV

Message N°1: HSV

- Chez le patient greffé HSV+:
Prophylaxie **systematique** pendant au moins 3 mois post greffe avec acyclovir.

CMV

Réactivation (infection) : Facteurs de risque

| | |
|---|--|
| Sérologie + du receveur | <i>Meyers 86 etc..</i> |
| Age | <i>Paulin 86 etc..</i> |
| Greffe non apparentée ± | <i>Takaneka 97 +, Foot 98 -</i> |
| T déplétion ± | <i>Couriel 96 +, Nguyen 99 + Osarogiabon 98 -, Hebart 01</i> |
| Phénotype HLA | <i>Chen 01</i> |
| Réaction du greffon contre l'hôte (GVH) | <i>Meyers 86, Miller 86, Boeckh 96, Chen 01</i> |

Conséquences de la réactivation

Maladie à CMV

Augmentation de la mortalité (TRM)

Humar 98, Bacigalupo 95

GVH

Infections

Insuffisance médullaire

Maladie à CMV

Conséquence de la réactivation

Pneumopathies ; mortalité élevée

Favorisée par :

GVH

Insuffisance de reconstitution immunitaire

CD4+ < 100/μL

Einsele 93

CTL CD8 CMV-spécifiques

Reusser 91, Li 94

Gratama 2001

Donneur CMV- (receveur CMV+)

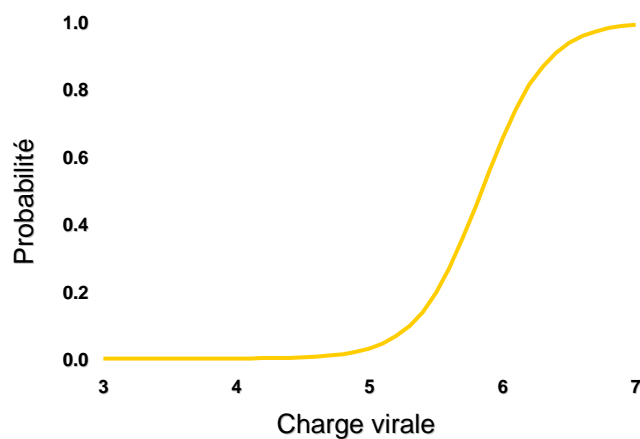
Gratama 2001

Rôle de la charge virale ?

Zaia 97, Gor 98

mery 2000

Relation entre charge virale et risque de survenue de la maladie à CMV



Cope AV, JMV 1997,52,200

Maladie CMV et charge virale

Gor, BMT 1998;21:597-

110 BMT (74 allo), ACV forte dose, pas de GCV préemptif

PCR qualitative et quantitative

Réactivation : 49 (45%)

Maladie CMV : 15 (14%) et 19% pour allo

Risque de maladie corrélé au pic de la charge virale

Emery, Lancet 2000;335:2032-

55 transplantés dont 21 BMT

Relation entre pic et charge initiale

Corrélation entre maladie et

- charge initiale

- rapidité d'augmentation de la charge

Charge virale et maladie à CMV

- Relation significative entre la charge virale initiale et le pic
 - Relation entre la charge virale initiale et la survenue de la maladie
- risque associé à CV plus élevée de 0,25 log₁₀ g/ml de sang

| Greffe | RR (IC 95%) | p |
|--------|------------------|-------|
| Foie | 1,82 (1,11-2,98) | 0,02 |
| Rein | 1,34 (1,07-1,68) | 0,01 |
| Moelle | 1,52 (1,13-2,05) | 0,006 |

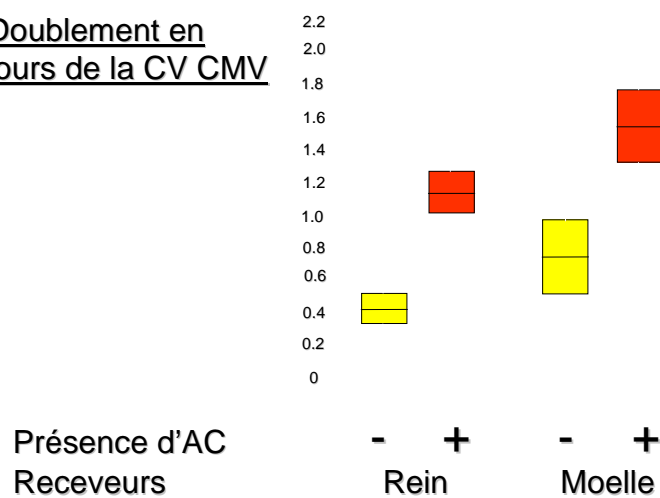
Dynamique de réplication

Dépend :

- Cellules cibles disponibles
- Qualité de la réponse immune
 - D+/R- : réplication non contrôlée à la phase initiale
 - R+ : rythme de réplication plus lent

Doublement de la charge virale en fonction du statut vis-à-vis du CMV

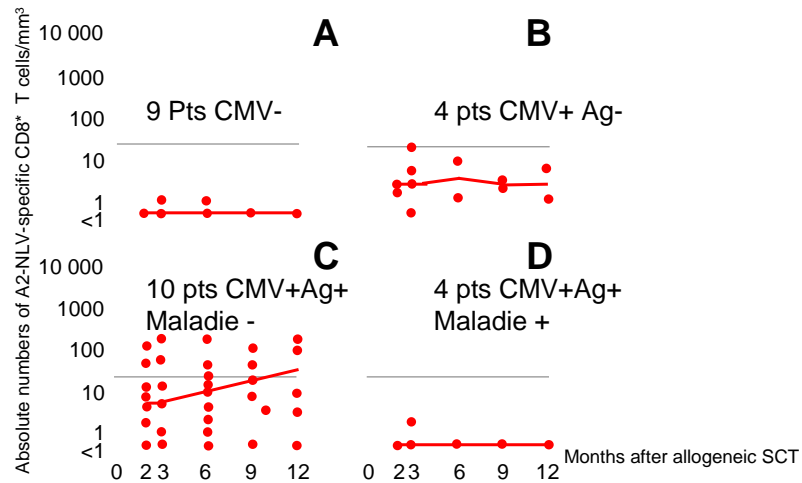
Doublement en jours de la CV CMV



D'après Emery VC, 2000

Gratama , Blood 01;98,1358-

A2-NLV-specific CD8* T cells



Tetramer-based quantification of CMV-specific CD8+ T cells in T- SC grafts may identify patients at risk for progressive disease

Prophylactique / préemptif : « pro & cons »

Prophylactique

Pro Facile ; *recommandé*
si détection par culture
 Meilleure prév des PNP < J100 ?
 TT non nécessaire pour
 30% des pts
 Neutropénie/infections

Préemptif

TT ciblé
 Neutropénie <
 Infections <
 Coût < ?
 Résistance < ?

Cons

Maladies tardives
 Durée ?
 Contrainte (*GCV PO ou ValGCV ?*)
 Coût

Plus de maladies <J100 ?
 Rechutes
 Maladies tardives
 Durée

Tt prophylactique vs préemptif

Boeckh 96, 99

| | Prophylac | Préemptif | 96 | 99 |
|--------------------------|-------------|-------------|--------------------|-------------|
| Nb | 114 | 112 | p | 102 |
| Maladie < J100 | 2,7% | 14% | 0,002 | 3,8% |
| Maladie > J100 | 16% | 8,3% | NS | 13% |
| Durée GCV (j) | 56 | 22 | < 0,0001 | |
| PN < 500 | 20% | 26% | NS | |
| Inf fongique | 16% | 6% | 0,03 | 5% |
| DC infect J 180 | 15 | 6 | 0,035 | |
| Survie J 400 | 60% | 60% | NS | 66% |

CMV : Insuffisance médullaire

Induite par le ganciclovir
40-50%

Facteur de mortalité

Salzberger 97

Rôle immunosuppresseur propre du GCV ? *Li 94*

Liée au CMV

Rôle de certains génotypes de la glycoprotéine B gB2 et gB3

Torok-Storb 97

Maladies tardives (PNP)

Fréquence : 8 à 15 % des patients (en vie après J100)

Mortalité : 60 à > 80%
Infections opportunistes associées +++

Favorisées par GVH chronique *Ngueyn 99*

Greffon T déplété *Einsele 00*

TT antérieur GCV prolongé

Non-reconstitution de la réponse CD8+ CMV

spécifique ← ganciclovir *Riddell 91, Li 94*

Pour conclure

Diminution de la mortalité liée au CMV

MAIS

Toxicité des antiviraux

Maladies tardives graves

Résistance

Retentissement sur la mortalité globale
post-greffe

Message N°2: CMV

Chez le patient greffé CMV+ ou CMV- recevant un greffon CMV+:

Surveillance biologique possible par méthodes rapides (antigénémie, PCR...) permettant un traitement « préemptif »

>

Prévention systématique par gancyclovir*

>

Attendre la maladie à CMV presque constamment mortelle!

*Message N°3: CMV

- La prophylaxie du CMV par gancyclovir expose à:
 - **Neutropénie** et infections bactériennes et fongiques
 - **Infections tardives** pulmonaires et oculaires à l'arrêt de l'administration du médicament.

EBV

Message N°4: EBV

- Les patients exposés au risque de réactivation EBV* doivent faire l'objet d'une **surveillance précise** avec des techniques modernes de **quantification** de la charge virale.

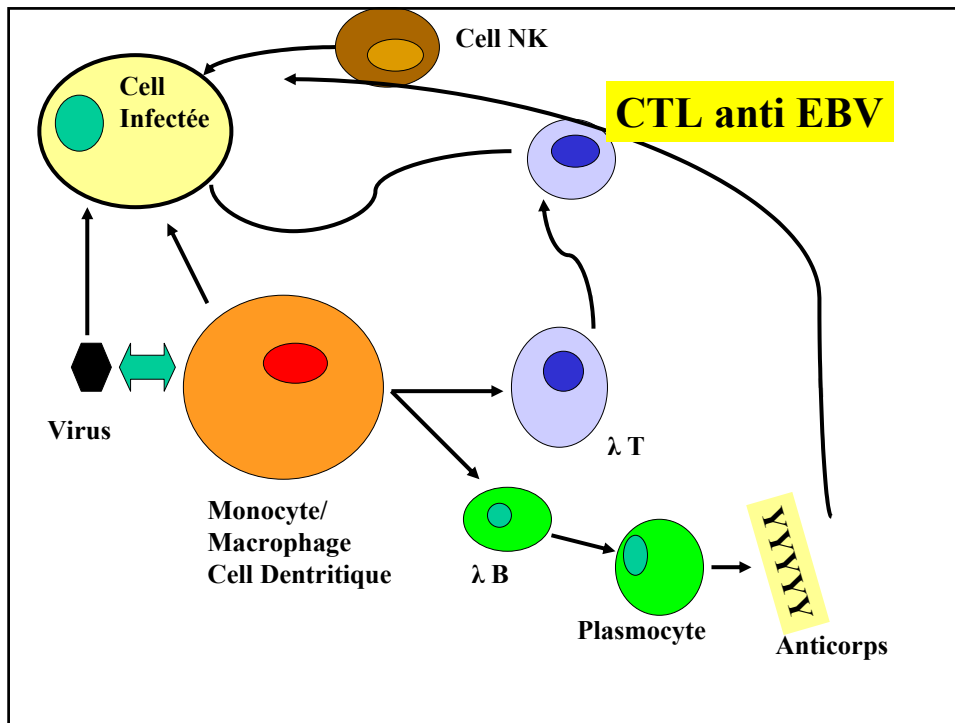
*Message N°5: EBV

Facteurs de risque de réactivation EBV:

- Receveur EBV- et donneur EBV+
- Greffe allogénique HLA incompatible.
- Utilisation de S.A.L. avec ou sans GVH.
- Utilisation d'anticorps monoclonaux pour T déplétion in vivo ou in vitro.

Injection de lymphocytes du donneur

- **Efficace pour EBV-LPD**
 - Papadopoulos et al (1994) NEJM 330:1185
 - Small et al (1999) Blood 93:467
 - Heslop et al (1994) NEJM 331:679
- **Avantages**
 - Disponibilité immédiate
 - Efficace contre de multiples antigènes EBV
- **Limites**
 - Incidence très élevée de GVH aiguë
 - Inefficacité due à un petit nombre/absence dz CTL spécifiques



CTL Spécifiques

– Heslop et al (1994)

Human Gene Therapy 5:381

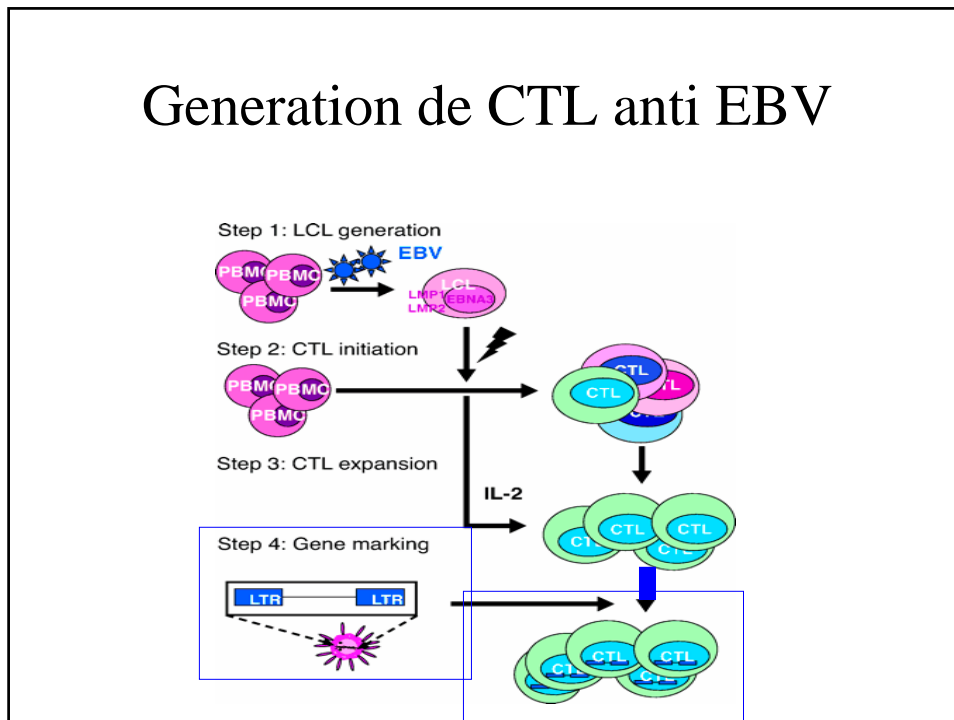
– Rooney et al (1998)

Blood 92:1549

– Cavazzana-Calvo/Vié:

essai français multicentrique

Generation de CTL anti EBV



Clinical characteristics of 100 patients who received allogeneic transplants with or without subsequent infusions of prophylactic cytotoxic T cells

| | Study Group (n = 39) | Control Group (n = 61) |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Age at treatment (mean and range) | 9,5 yr (9 mo to 20 yr) | 9,8 yr (8 mo to 23 yr) |
| Male: Female | 18:21 | 33:28 |
| Diagnostic category | | |
| Standard risk | 19 | 24 |
| High risk | 20 | 37 |
| Type of transplant received | | |
| Mismatched family member | 6 | 23 |
| Unrelated donor | 33 | 38 |
| No. Of developing EBV lymphoma | 0 | 7* |

*2 mismatched family member, 5 unrelated donor

Rooney 1998

TRAITEMENT PREEMPTIF.

- **Dans population a risque (T. Déplétés)**
- **Sur seuil de charge virale**
- **Moyens:**
 - CTL anti-EBV
 - Rituximab

TRAITEMENT PREEMPTIF AVEC CTLs anti-EBV.

- **4 pts.**
- **2-4 injections de 10^7 CTL anti-EBV/m².**
- **3 réponses: ↓ 2-3 logs de charge virale.**
- **1 non répondeur: pas d'anti- EBV dans la culture.**

Gustafsson et al. Blood 2000

TRAITEMENT PREEMPTIF AVEC RITUXIMAB®.

- Allo T-déplétée
- RT-PCR EBV (Plasma-BNRF1-p143)
Seuil = 1000 copies/ml
- Rituximab 375 mg/m² x 1

Van Esser et al Blood 2002

TRAITEMENT PREEMPTIF AVEC RITUXIMAB®

- 49 Pts inclus
- 27 réactivation-17 > 1000 copies/ml (2 overt PTLD)

Rituximab 15 traitements préemptifs par

1 non réponse → RC après 2ème injection + DLI

14 CR
EBV-ADN indetectable en 8J
(1-46)

Immunoglobulines ?

Gammaglobulines *Grefig*

OBJECTIVE

To assess the dose-effect relationship of IVIG given from day-7 to day 100 in the prophylaxis of complications following allogeneic id-sibling SCT

STUDY DESIGN

Randomized, placebo-controlled, double-blind, multicenter trial

One dose/week from day -7 to day 100

Gr I: 0 mg/kg (Placebo: G5%)

Gr II: 50 mg/kg

Gr III:250 mg/kg

Gr IV:500 mg/kg

RESULTS *Grefig*: Infectious complications

| <u>Nb of infectious episodes</u> | Gr I placebo | Gr II 50 mg/kg | Gr III 250 mg/kg | Gr IV 500 mg/kg |
|----------------------------------|-----------------|-------------------|---------------------|--------------------|
| Bacterial | 22 | 25 | 38 | 18 |
| Viral | 31 | 31 | 20 | 21 |
| CMV infection | 19 | 26 | 13 | 14 |
| CMV disease | 2 | 0 | 2 | 1 |
| VZV | 3 | 1 | 1 | 1 |
| Fungal | 7 | 9 | 8 | 7 |

Message N°6: IPN

Chercher CMV, *Aspergillus*, *Pneumocystis*.

C'est bien !

Mais cherchez aussi:

VRS, *Myxo*, *Paramyxo*....

Message N°7: Serologies virales

- Un seul intérêt: Déterminer le statut virologique du patient avant la greffe !
- AUCUN INTERET APRES LA GREFFE!

Perte de temps pour le labo de viro et perte d'argent . Mieux utiliser les 2 à mettre en place les outils modernes de détection des virus!

Message N°8 : Tout n'est pas GVH !

- Après allogreffe de CSH toutes les diarrhées et toutes les éruptions cutanées voire tous les ictères/hépatites ne sont pas liés à la GVH.
- Penser au virus et le chercher avant d'augmenter facilement, inutilement et dangereusement l'immunodépression.

HHV 6

HHV 6

- **Pouvoir pathogène immunodéprimé (allogreffe de moelle)**
 - fièvre
 - éruptions cutanées
 - pneumopathies interstitielles (*Cone et coll NEJM 1993*) (*Carrigan et coll Lancet 1991*)
 - insuffisances médullaires, retard de la prise de greffe
 - encéphalites
 - SHU (*Matsuda et coll CID 1999*)
 - «aggravation» de la GVH

PATIENTS

| | ALLO | AUTO |
|----------------------------|---------------|--------------|
| N | 28 | 64 |
| H / F | 15 / 13 | 39 / 25 |
| Age Med | 38.5 (3 – 52) | 53 (18 – 65) |
| Greffon | | |
| Moelle | 19 | 13 |
| CSP | 9 | 51 |
| Maladie | | |
| LNH | 3 | 29 |
| MM | 4 | 21 |
| LMC | 5 | 5 |
| LAM | 9 | 2 |
| LAL | 5 | 3 |
| Autre | 2 | 4 |
| Nombre (%) pt séro+ | | |
| HHV 6 | 22 (78) | 45 (70) |
| CMV | 8 (28) | 27 (42) |
| EBV | 26 (93) | 59 (92) |
| HSV | 20 (71) | 53 (83) |

RESULTATS (HHV 6)

| | Allo (28) | Auto (64) | P |
|---------------------------------|------------|------------|------|
| Incidence (%) | 12 (43) | 27 (42) | NS |
| Jour début infection | 29 (6-117) | 16 (4-57) | 0,04 |
| Durée infection | 57 (7-194) | 41 (7-122) | NS |
| Nb pts avec 1 seule PCR+ | 3 | 4 | NS |
| Nb pts plasma+ | 4/7 | 8/20 | NS |
| Nb pts séro+ HHV 6 | 10 | 21 | NS |

Human herpesvirus-6 and human herpesvirus-7: Two closely related viruses with different infection profiles in stem cell transplant recipients

Boutolleau D et coll: JID 2003

**Quantification de la charge virale:
real-time PCR. Taqman**

- Confirme les résultats de Imbert-Marcille.
- Définit une charge virale seuil:
> 10³ EqCop/ 10⁶ PBMC.
- Associe une charge virale > seuil à:
Fièvre
Eruption cutanée
Pneumopathie
Myélosuppression

Charge virale et : Prise de greffe-GVH

| | Charge virale EqCop/10 ⁶ | P |
|-------------------------|--|-------|
| GVHD | | |
| Grade III-IV | 7971 | 0.009 |
| Grade I-II | 1169 | |
| Neutro > 1000 | | |
| > 20 j(17 pts) | 10 667 | 0.002 |
| < 20 j(61 pts) | 2489 | |

Conclusion

- Même en y pensant toujours on y pense pas assez !
- La surveillance moderne c'est la charge virale. Le problème: quel seuil?
- Toujours se méfier des traitements prophylactiques médicamenteux.
- Avenir (difficile) de la thérapie cellulaire anti virale.

Virus et greffe

- Pourquoi ?
- Lesquels ?
- Quand ?
- **Quel risque ?**
- Que faire ?

Virus et greffe

- Pourquoi ?
- Lesquels ?
- Quand ?
- Quel risque ?
- **Que faire ?**

Réplication virale *in vivo*

Demi-vie du CMV chez des receveurs de greffe
de moelle non traités
Augmentation de la charge virale

| Nombre receveurs | Périodicité des mesures | Temps de doublement CV |
|---------------------|----------------------------|---------------------------|
| 18 | 1/semaine | 1, 5 jour (0,38-4,7) |

Emery et al, J Exp Med 1999;190:177

Réplication virale *in vivo*

Demi-vie du CMV chez des patients traités
par GCV IV (21 jours)
Diminution de la charge virale

| Clinique | <i>nb</i> Pts | <i>nb</i> Mesures | Demi-vie (jour) |
|----------|------------------|----------------------|--------------------|
| Sida | 35 | 2 | 2,56 |
| Sida | 5 | 5 | 0,98 |
| Receveur | 5 | 5 | 0,98 |
| Moelle | 11 | 2 | 1,52 |
| Foie | 13 | 2 | 2,36 |

Emery et al, J Exp Med 1999;190:177

Charge virale et maladie à CMV

Facteurs de risque de développement de la maladie à CMV chez des receveurs de greffe de foie
(Cope et al, JID, 1997)

- Analyses univariées
 - Pic de charge virale
 - Séropositivité du donneur
 - Administration de corticoïdes (dose totale)
 - Analyses multivariées
 - Pic de charge virale
 - Administration de corticoïdes (dose totale)
- Facteurs de risque indépendants

Initiation du traitement anticipé Seuil d'antigénémie

- ≥ 10 cellules positives / 2×10^5 leucocytes chez les receveurs de greffe d'organe
 - * seuil peut-être plus haut pour cœur ou poumon
- $\geq 1 - 2$ cellules positives / 2×10^5 leucocytes chez les receveurs de greffe de moelle
 - * seuil de 3 cellules / 2×10^5 → 14% maladie

(Boeckh et al., Blood 1996)

Initiation du traitement anticipé Seuil d'ADNémie

(Amplicor CMV Monitor Test)

- ADNémie leucocytaire :
seuil optimal (nombre de copies) à définir pour chaque type de greffe
* CV médiane
avant traitement $\geq 2 \times 10^4$ copies / 10^6 leuco
après traitement $\geq 4 \times 10^2$ copies / 10^6 leuco
→ rechute
- ADNémie plasmatique :
seuil de 1000 - 5000 copies / ml de plasma pour T Org et à la limite de détection du test (400 copies / ml) pour la greffe de moelle

Pour conclure (2)

- Détection par antigénémie ou PCR DNA
- Surveillance prolongée (> j 100) chez les pts à risque
- Définir les patients à risque
 - Paramètres cliniques
 - Charge virale
 - Reconstitution immunitaire spécifique
- Prophylaxie chez les pts à risque ?
- Nouveaux antiviraux (CDV), associations
- Immunothérapie
 - CTL CMV-spécifiques
 - Anticorps monoclonal anti-CMV / vaccinations

Walter 91, Szmania 01