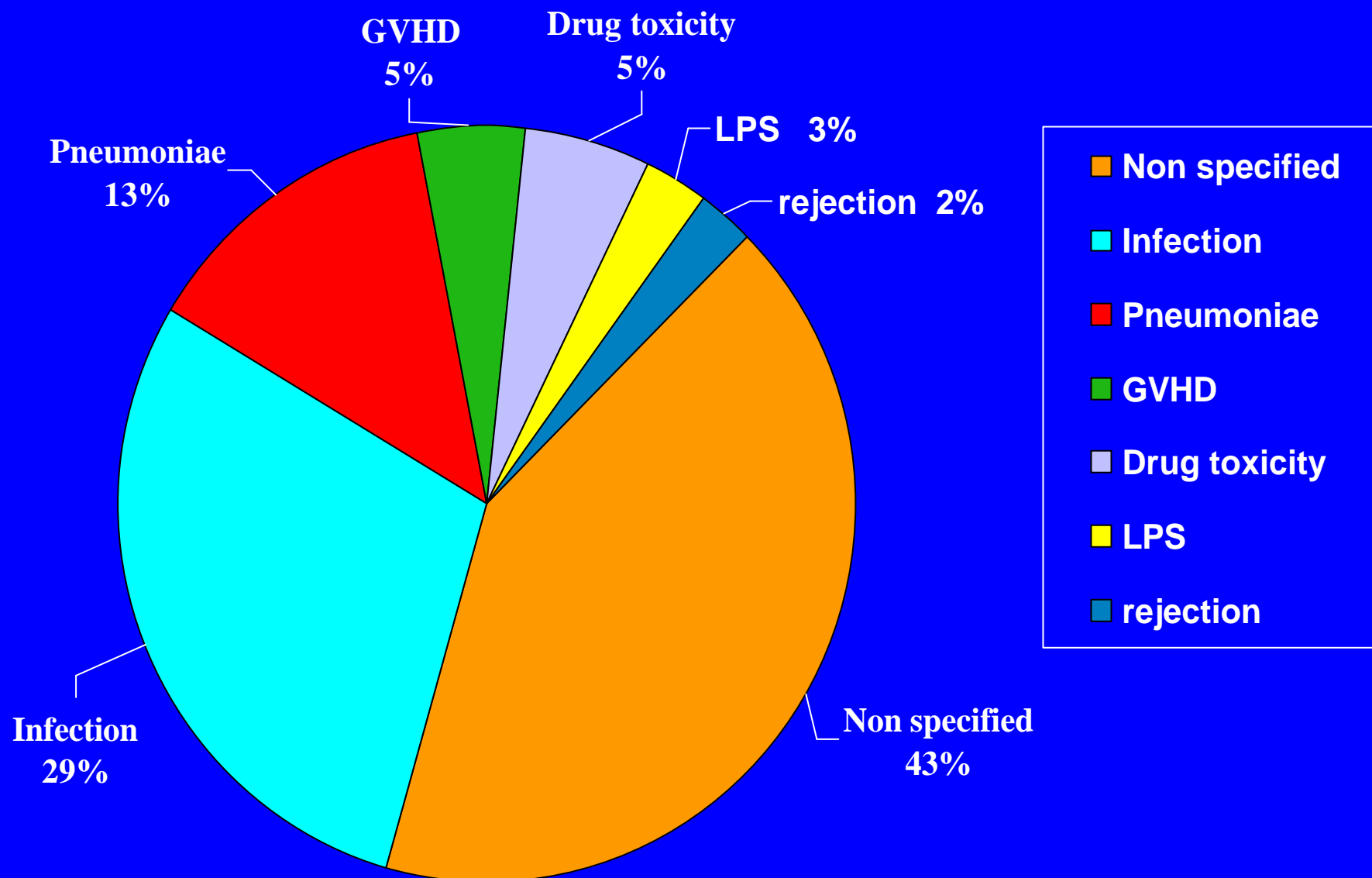


Virus et greffe

N Milpied

Hématologie CHU Bordeaux

Causes de décès après greffe (n=197)



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

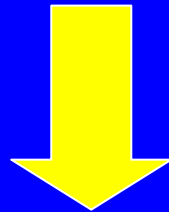
- Pourquoi ?
 - Lesquels ?
 - Quand ?
 - Quel risque ?
 - Que faire ?

PRINCIPE DE LA GREFFE

Bilan pré-greffe: Histoire. Sérologies virales. FAISABILITE



CONDITIONNEMENT: ICT/Chimio/immunosup
GREFFE



TOX MUQUEUSE

NEUTROPENIE

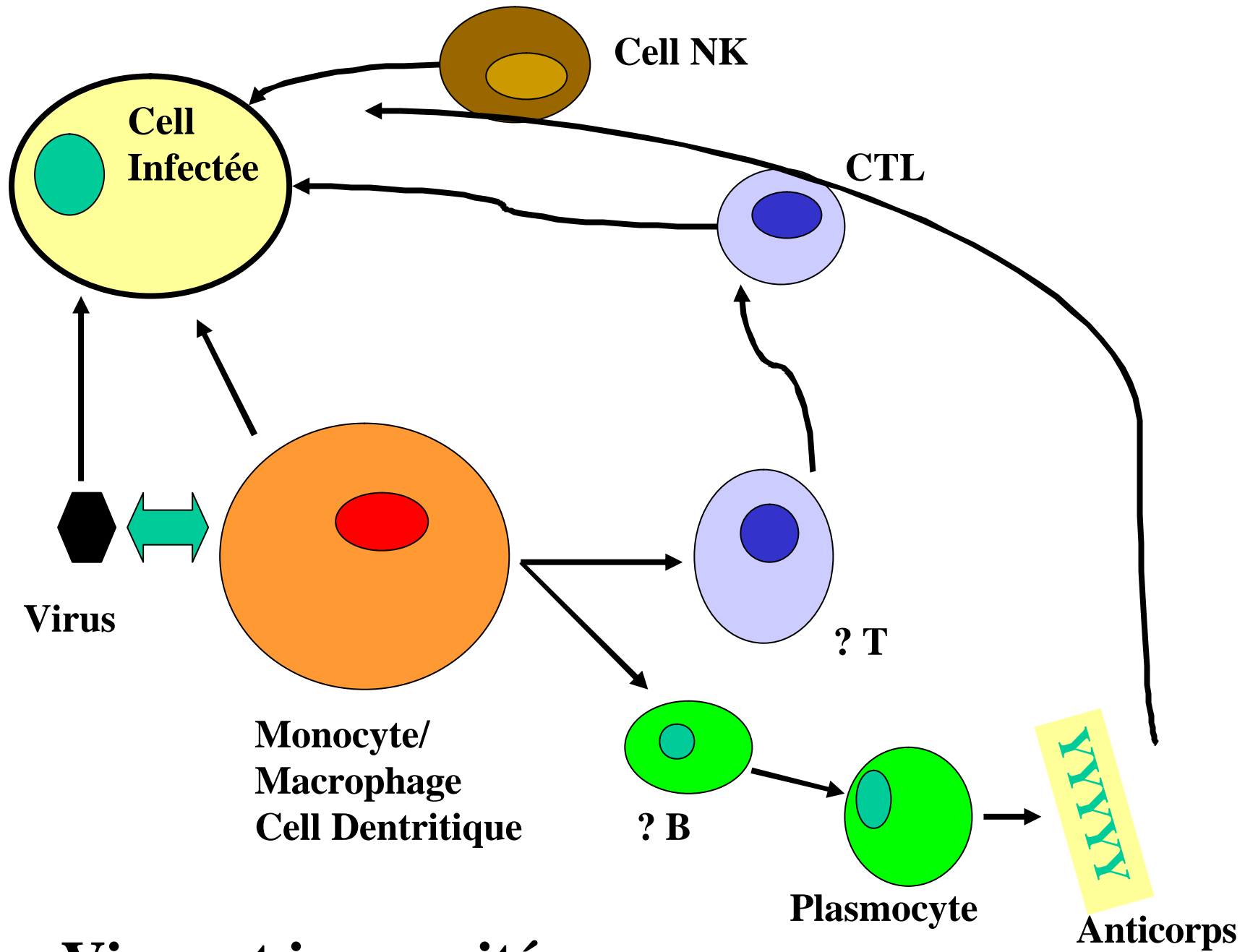
PRISE DE GREFFE

AUTO

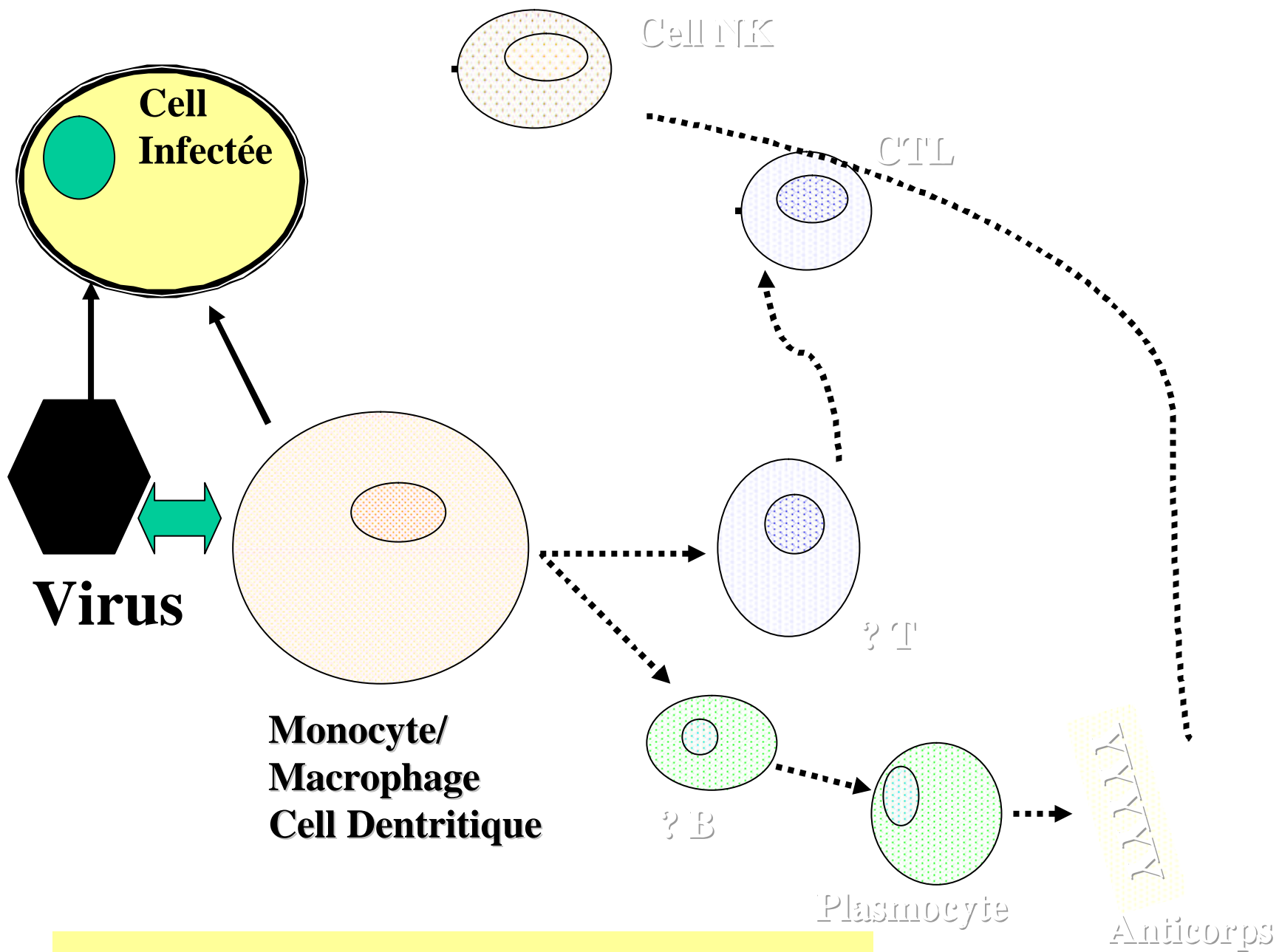
ALLO / GVH

RECONSTITUTION
IMMUNO RAPIDE

IMMUNODEP >6 M
++ SI GVH



Virus et immunité



Virus et immunité post greffe

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 ATTENDUES APRES ALLOGREFFE

MOIS APRES LA GREFFE

0 1 2 3 4 5 6 10 12

[- BACT-----]

[-CANDIDA-----ASPERGILLUS-----]

[-HSV-----]

[-VZV-----]

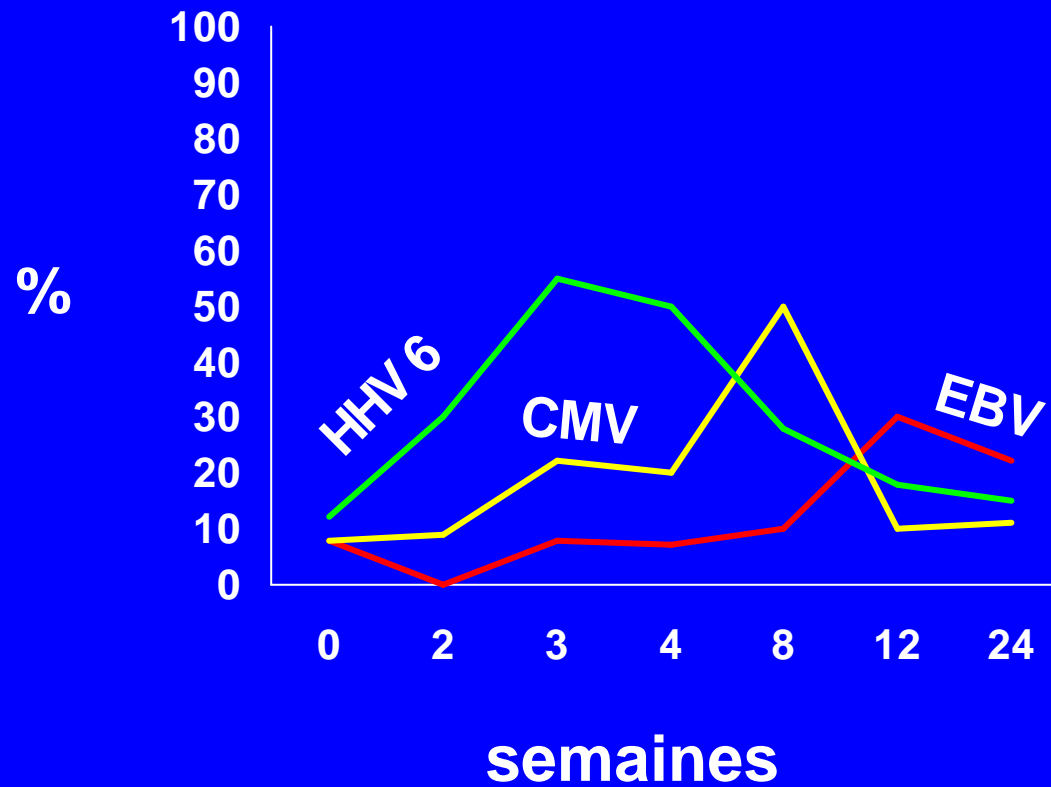
[-CMV-HHV 6--EBV---ADV---VRS-----]

[-PNEUMOCYSTIS CARINII--TOXO-----]

[-BACTERIES ENCAPSULEES-----]

[-GVH AIGUE-----][GVH CHRONIQUE-----]

DETECTION DES VIRUS EBV, CMV, HHV6



Maeda Y et coll BJH 1999

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 CARINII-----]

[-BACTERIES ENCAPSULEES-----]

HSV

Message N°1: HSV

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

Prévention réactivation HSV **et VZV**.

Risque « rebond » à l'arrêt.

Forme clinique trompeuse de VZV !

Essai vaccins anti VZV en cours post auto.

CMIV

Réactivation (infection) :

Facteurs de risque

Sérologie + du receveur

Meyers 86 etc..

Age

Paulin 86 etc..

Greffe non apparentée ±

Takaneka 97 +,

Foot 98 -

T déplétion ±

Couriel 96 +, Nguyen 99 +

Osarogiabon 98 -, Hebart 01

Phénotype HLA

Chen 01

Réaction du greffon contre l'hôte (GVH)

Meyers 86, Miller 86,

Boeckh 96,

Chen 01

Conséquences de la réactivation

Maladie à CMV: Pneumopathie interstitielle, hépatite, entérite, rétinite.

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/mL

Einsele 93

CTL CD8 CMV-spécifiques

Reusser 91, Li 94

Gratama 2001

Donneur CMV- (receveur CMV+)

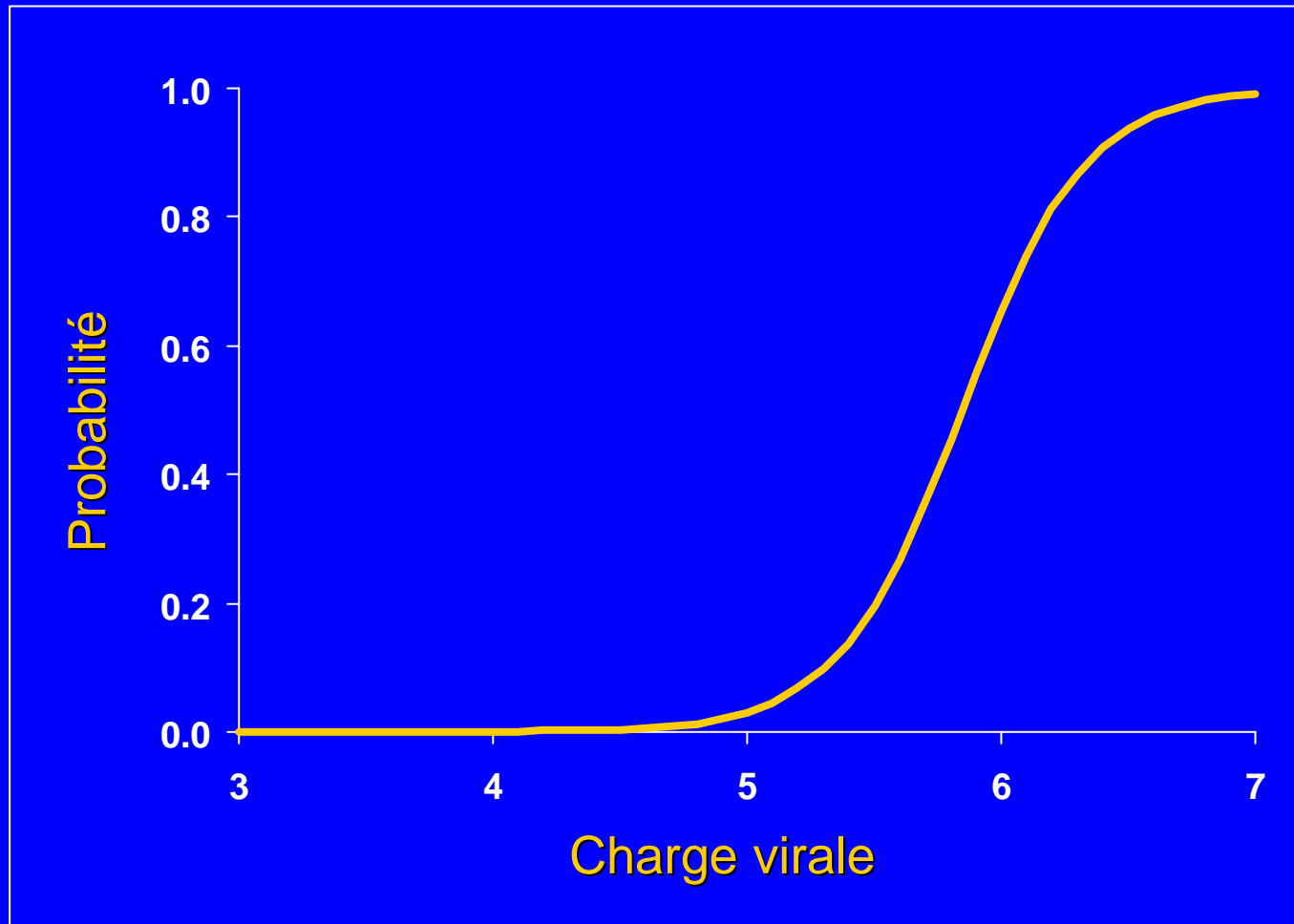
Gratama 2001

Rôle de la charge virale ?

Zaia 97, Gor 98

mery 2000

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



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 $0,25 \log_{10}$ g/ml de sang

Grefe	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

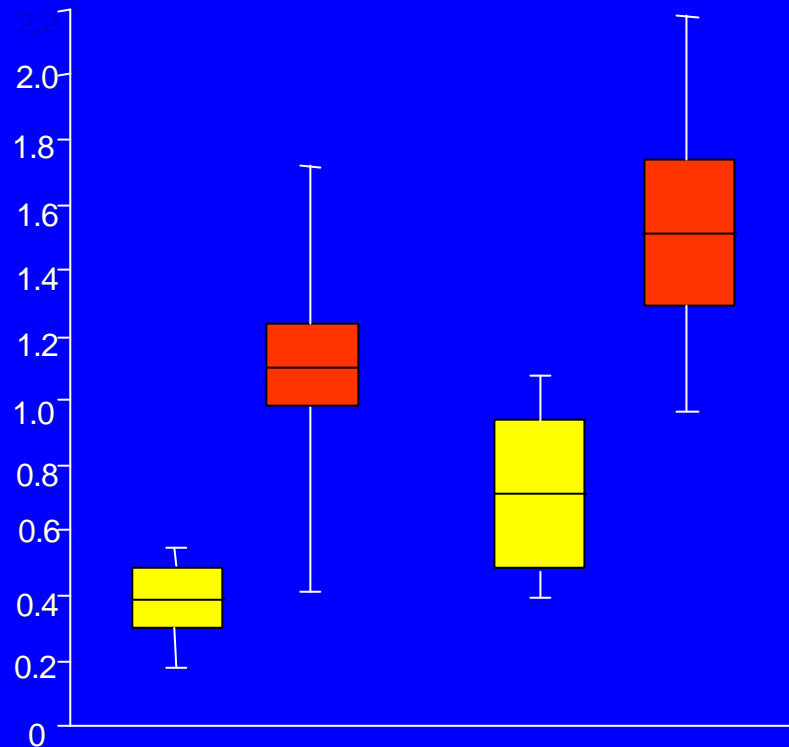
Dynamique de réplication

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



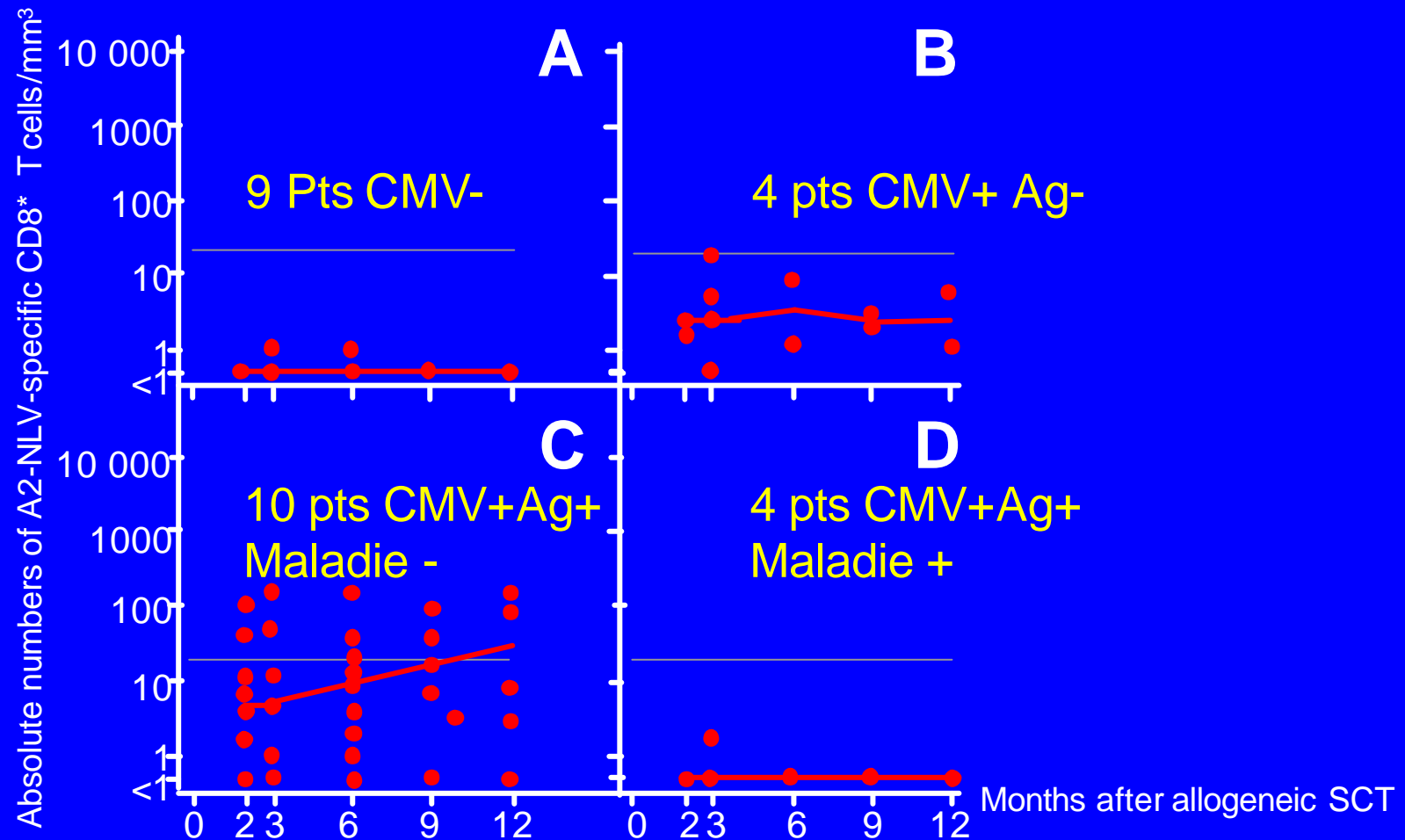
Présence d'AC
Receveurs

- +
Rein

- +
Moelle

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

Traitement

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

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

Préemptif: détection systématique

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

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! Traitement curatif peu efficace.

*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.

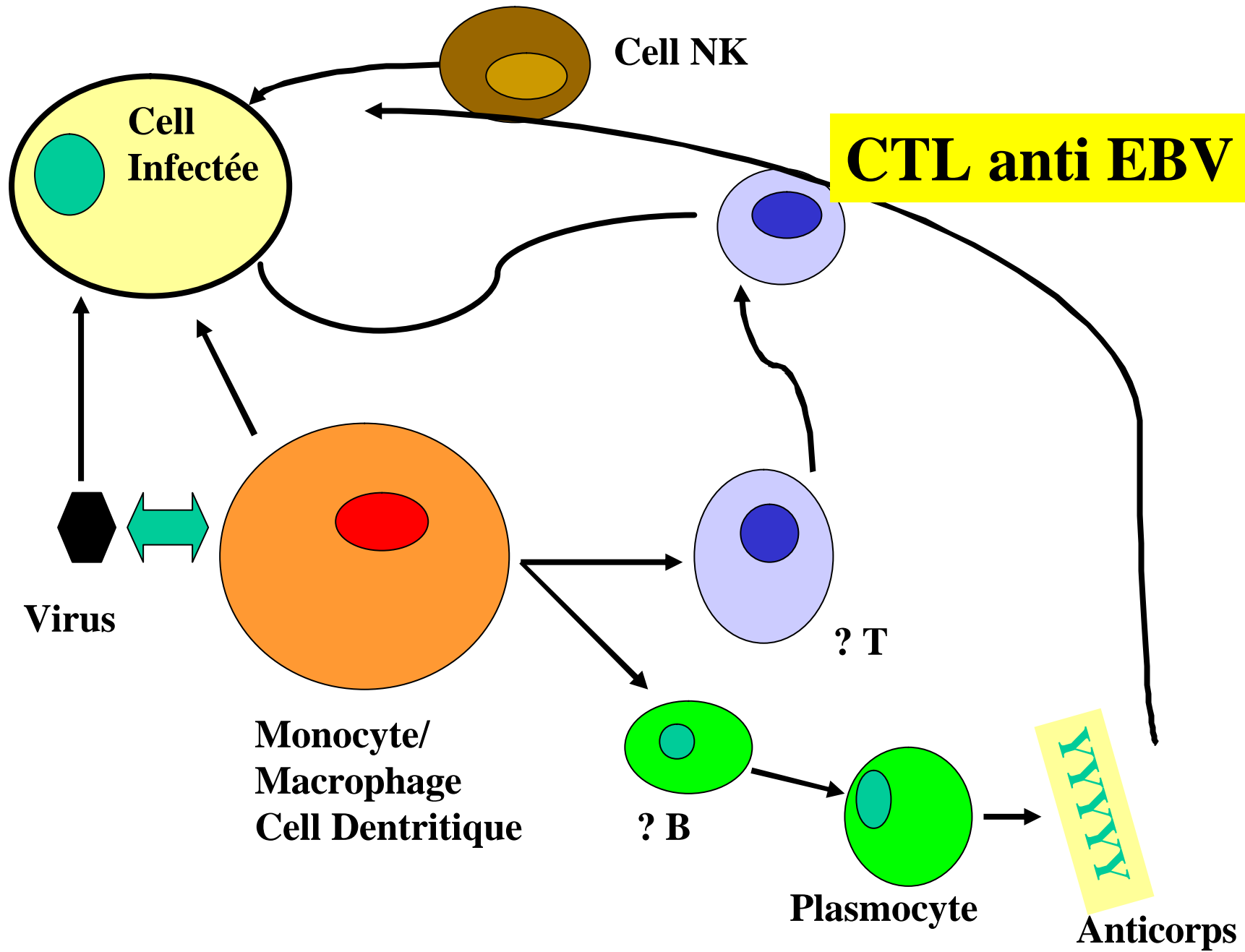
*Message N°5: EBV

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

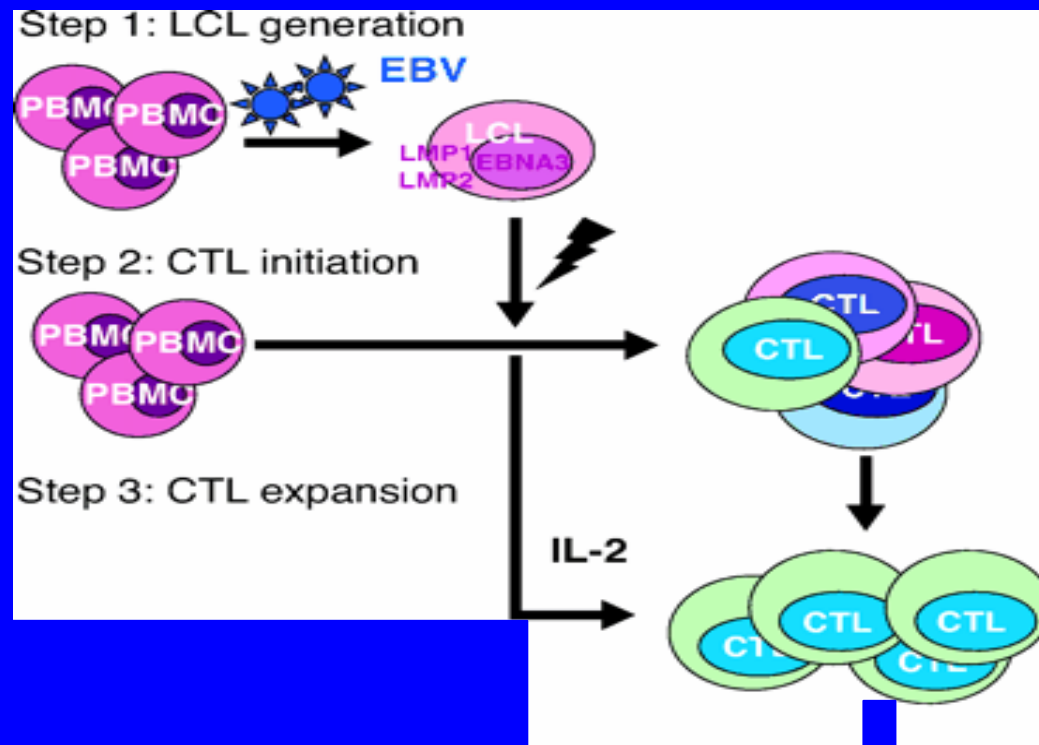
- Rooney et al (1998)

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

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)



15 traitements préemptifs par Rituximab

14 CR

EBV-ADN indetectable en 8J

(1-46)

1 non réponse → RC après 2ème injection + DLI

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:
 $> 10^3$ EqCop/ 10^6 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)

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

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 corticoides (dose totale)
- **Analyses multivariées**
 - Pic de charge virale
 - Administration de corticoides (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 / $2 \times 10^5 \rightarrow 14\%$ maladie

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 detection 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