



ANNÉE 2018 N° 201

INFECTIONS PRECOCES SEVERES ET NON PRISE DE GREFFE DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏTIQUES

*A matched case-control study of early-onset severe infections
in the setting of graft failure after allogeneic hematopoietic
stem cells transplantation*

THESE D'EXERCICE EN MEDECINE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
Et soutenue publiquement le 25 Septembre 2018
En vue d'obtenir le titre de Docteur en Médecine

Par

Vincent ALCAZER
Né le 30 Novembre 1990 à PARIS 14^e

Sous la direction du Pr Florence ADER

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON 1

2017/2018

Président	Frédéric FLEURY
Président du Comité de	Pierre COCHAT
Coordination des Etudes Médicales	
Directrice Générale des Services	Dominique MARCHAND
Secteur Santé	
UFR de Médecine Lyon Est	Doyen : Gilles RODE
UFR de Médecine Lyon Sud-	Doyen : Carole BURILLON
Charles Mérieux	
Institut des Sciences Pharmaceutiques	Directrice : Christine VINCIGUERRA
Et Biologiques (ISPB)	
UFR d'Odontologie	Directeur : Denis BOURGEOIS
Institut des Sciences et Techniques	Directeur : Xavier PERROT
De Réadaptation (ISTR)	
Département de Biologie Humaine	Directrice : Anne-Marie SCHOTT
Secteur Sciences et Technologie	
UFR de Sciences et Technologies	Directeur : Fabien de MARCHI
UFR de Sciences et Techniques des	Directeur : Yannick VANPOULLE
Activités Physiques et Sportives (STAPS)	
Polytech Lyon	Directeur : Emmanuel PERRIN
I.U.T.	Directeur : Christophe VITON
Institut des Sciences Financières	Directeur : Nicolas LEBOISNE
Et Assurances (ISFA)	
Observatoire de Lyon	Directrice : Isabelle DANIEL
Ecole Supérieure du Professorat	Directeur : Alain MOUGNIOTTE
Et de l'Education (ESPE)	

FACULTE DE MEDECINE LYON EST

Liste des enseignants 2017/2018

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers

Classe exceptionnelle Echelon 2

Blay	Jean-Yves	Cancérologie ; radiothérapie
Borson-Chazot	Françoise	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
Cochat	Pierre	Pédiatrie
Cordier	Jean-François	Pneumologie ; addictologie
Etienne	Jérôme	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Guérin	Claude	Réanimation ; médecine d'urgence
Guérin	Jean-François	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
Mornex	Jean-François	Pneumologie ; addictologie
Nighoghossian	Norbert	Neurologie
Ovize	Michel	Physiologie
Ponchon	Thierry	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Revel	Didier	Radiologie et imagerie médicale
Rivoire	Michel	Cancérologie ; radiothérapie
Rudigoz	René-Charles	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Thivolet-Bejui	Françoise	Anatomie et cytologie pathologiques
Vandenesch	François	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers

Classe exceptionnelle Echelon 1

Breton	Pierre	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
Chassard	Dominique	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Claris	Olivier	Pédiatrie
Colin	Cyrille	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
D'Amato	Thierry	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
Delahaye	François	Cardiologie
Denis	Philippe	Ophthalmologie
Disant	François	Oto-rhino-laryngologie
Douek	Philippe	Radiologie et imagerie médicale
Ducerf	Christian	Chirurgie digestive
Finet	Gérard	Cardiologie
Gaucherand	Pascal	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Herzberg	Guillaume	Chirurgie orthopédique et traumatologique
Honorat	Jérôme	Neurologie
Lachaux	Alain	Pédiatrie

Lehot	Jean-Jacques	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Lermusiaux	Patrick	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Lina	Bruno	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Martin	Xavier	Urologie
Mellier	Georges	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Mertens	Patrick	Anatomie
Miossec	Pierre	Immunologie
Morel	Yves	Biochimie et biologie moléculaire
Moulin	Philippe	Nutrition
Négrier	Claude	Hématologie ; transfusion
Négrier	Sylvie	Cancérologie ; radiothérapie
Ninet	Jean	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Obadia	Jean-François	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Rode	Gilles	Médecine physique et de réadaptation
Terra	Jean-Louis	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
Zoulim	Fabien	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers

Première classe

Ader	Florence	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
André-Fouet	Xavier	Cardiologie
Argaud	Laurent	Réanimation ; médecine d'urgence
Aubrun	Frédéric	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Badet	Lionel	Urologie
Barth	Xavier	Chirurgie générale
Bessereau	Jean-Louis	Biologie cellulaire
Berthezene	Yves	Radiologie et imagerie médicale
Bertrand	Yves	Pédiatrie
Boillot	Olivier	Chirurgie digestive
Braye	Fabienne	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
Chevalier	Philippe	Cardiologie
Colombel	Marc	Urologie
Cottin	Vincent	Pneumologie ; addictologie
Cotton	François	Radiologie et imagerie médicale
Devouassoux	Mojgan	Anatomie et cytologie pathologiques
Di Fillipo	Sylvie	Cardiologie
Dumontet	Charles	Hématologie ; transfusion
Dumortier	Jérôme	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Durieu	Isabelle	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie
Edery	Charles Patrick	Génétique
Fauvel	Jean-Pierre	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
Guenot	Marc	Neurochirurgie

Gueyffier	François	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
Guibaud	Laurent	Radiologie et imagerie médicale
Javouhey	Etienne	Pédiatrie
Juillard	Laurent	Néphrologie
Jullien	Denis	Dermato-vénérérologie
Kodjikian	Laurent	Ophthalmologie
Krolak Salmon	Pierre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie
Lejeune	Hervé	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
Mabrut	Jean-Yves	Chirurgie générale
Merle	Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Mion	François	Physiologie
Morelon	Emmanuel	Néphrologie
Mure	Pierre-Yves	Chirurgie infantile
Nicolino	Marc	Pédiatrie
Picot	Stéphane	Parasitologie et mycologie
Raverot	Gérald	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
Rouvière	Olivier	Radiologie et imagerie médicale
Roy	Pascal	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
Saoud	Mohamed	Psychiatrie d'adultes
Schaeffer	Laurent	Biologie cellulaire
Scheiber	Christian	Biophysique et médecine nucléaire
Schott-Pethelaz	Anne-Marie	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Tilikete	Caroline	Physiologie
Truy	Eric	Oto-rhino-laryngologie
Turjman	Francis	Radiologie et imagerie médicale
Vanhems	Philippe	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Vukusic	Sandra	Neurologie

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers

Seconde classe

Bacchetta	Justine	Pédiatrie
Boussel	Loïc	Radiologie et imagerie médicale
Calender	Alain	Génétique
Chapurlat	Roland	Rhumatologie
Charbotel	Barbara	Médecine et santé au travail
Chêne	Gautier	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Collardeau Frachon	Sophie	Anatomie et cytologie pathologiques
Crouzet	Sébastien	Urologie
Cucherat	Michel	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
Dargaud	Yesim	Hématologie ; transfusion
David	Jean-Stéphane	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Di Rocco	Federico	Neurochirurgie
Dubernard	Gil	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Dubourg	Laurence	Physiologie
Ducray	François	Neurologie
Fanton	Laurent	Médecine légale
Fellahi	Jean-Luc	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Ferry	Tristan	Maladie infectieuses ; maladies tropicales
Fourneret	Pierre	Pédopsychiatrie ; addictologie
Gillet	Yves	Pédiatrie
Girard	Nicolas	Pneumologie
Gleizal	Arnaud	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
Henaine	Roland	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Hot	Arnaud	Médecine interne
Huissoud	Cyril	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Jacquin-Courtois	Sophie	Médecine physique et de réadaptation
Janier	Marc	Biophysique et médecine nucléaire
Lesurtel	Mickaël	Chirurgie générale
Levrero	Massimo	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Maucort Boulch	Delphine	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
Michel	Philippe	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Million	Antoine	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
Monneuse	Olivier	Chirurgie générale
Nataf	Serge	Cytologie et histologie
Peretti	Noël	Nutrition
Pignat	Jean-Christian	Oto-rhino-laryngologie
Poncet	Gilles	Chirurgie générale
Poulet	Emmanuel	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
Ray-Coquard	Isabelle	Cancérologie ; radiothérapie
Rheims	Sylvain	Neurologie

Richard Rimmele	Jean-Christophe Thomas	Réanimation ; médecine d'urgence Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Robert Rossetti	Maud Yves	Chirurgie digestive Physiologie
Souquet Thaunat	Jean-Christophe Olivier	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie Néphrologie
Thibault Wattel	Hélène Eric	Physiologie Hématologie ; transfusion

Professeur des Universités - Médecine Générale

Flori	Marie
Letrilliart	Laurent
Moreau	Alain
Zerbib	Yves

Professeurs associés de Médecine Générale

Lainé	Xavier
-------	--------

Professeurs émérites

Baulieux	Jacques	Cardiologie
Beziat	Jean-Luc	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
Chayvialle	Jean-Alain	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Cordier	Jean-François	
Daligand	Liliane	Médecine légale et droit de la santé
Droz	Jean-Pierre	Cancérologie ; radiothérapie
Floret	Daniel	Pédiatrie
Gharib	Claude	Physiologie
Gouillat	Christian	Chirurgie digestive
Mauguière	François	Neurologie
Michallet	Mauricette	Hématologie ; transfusion
Neidhardt	Jean-Pierre	Anatomie
Petit	Paul	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Sindou	Marc	Neurochirurgie
Touraine	Jean-Louis	Néphrologie
Trepo	Christian	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Trouillas	Jacqueline	Cytologie et histologie
Viale	Jean-Paul	Réanimation ; médecine d'urgence

Maîtres de Conférence – Praticiens Hospitaliers

Hors classe

Benchaïb	Mehdi	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
Bringuier	Pierre-Paul	Cytologie et histologie
Chalabreysse	Lara	Anatomie et cytologie pathologiques
Germain	Michèle	Physiologie
Jarraud	Sophie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Le Bars	Didier	Biophysique et médecine nucléaire
Normand	Jean-Claude	Médecine et santé au travail
Persat	Florence	Parasitologie et mycologie
Piaton	Eric	Cytologie et histologie
Sappey-Marinier	Dominique	Biophysique et médecine nucléaire
Streichenberger	Nathalie	Anatomie et cytologie pathologiques
Tardy Guidollet	Véronique	Biochimie et biologie moléculaire

Maîtres de Conférence – Praticiens Hospitaliers

Première classe

Barnoud	Raphaëlle	Anatomie et cytologie pathologiques
Bontemps	Laurence	Biophysique et médecine nucléaire
Charrière	Sybil	Nutrition
Confavreux	Cyrille	Rhumatologie
Cozon	Grégoire	Immunologie
Escuret	Vanessa	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Hervieu	Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
Kolopp-Sarda	Marie Nathalie	Immunologie
Lesca	Gaëtan	Génétique
Lukaszewicz	Anne-Claire	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Meyronet	David	Anatomie et cytologie pathologiques
Phan	Alice	Dermato-vénéréologie
Pina-Jomir	Géraldine	Biophysique et médecine nucléaire
Plotton	Ingrid	Biochimie et biologie moléculaire
Rabilloud	Muriel	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
Roman	Sabine	Physiologie
Schluth-Bolard	Caroline	Génétique
Tristan	Anne	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Venet	Fabienne	Immunologie
Vlaeminck-Guillem	Virginie	Biochimie et biologie moléculaire

Maîtres de Conférences – Praticiens Hospitaliers

Seconde classe

Bouchiat Sarabi	Coralie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Casalegno	Jean-Sébastien	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Cour	Martin	Réanimation ; médecine d'urgence
Coutant	Frédéric	Immunologie
Curie	Aurore	Pédiatrie
Duclos	Antoine	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Josset	Laurence	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Lemoine	Sandrine	Physiologie
Marignier	Romain	Neurologie
Menotti	Jean	Parasitologie et mycologie
Simonet	Thomas	Biologie cellulaire
Vasiljevic	Alexandre	Anatomie et cytologie pathologiques

Maîtres de Conférences associés de Médecine Générale

Farge	Thierry
Pigache	Christophe
De Fréminville	Humbert

SERMENT D'HIPPOCRATE

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans discrimination.

J'interviendrai pour les protéger si elles sont vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerais les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance.

Je donnerai mes soins à l'indigent et je n'exigerai pas un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement la vie ni ne provoquerai délibérément la mort.

Je préserverai l'indépendance nécessaire et je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je perfectionnerai mes connaissances pour assurer au mieux ma mission.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé si j'y manque.

REMERCIEMENTS

AUX MEMBRES DU JURY

Au président du jury, Monsieur le Professeur Gilles SALLS

Merci pour l'honneur que vous me faites en ayant accepté de présider ce jury. Votre soutien indéfectible et vos excellents conseils m'ont permis de m'épanouir pleinement dans ma formation.

A la directrice de thèse, Madame la Professeure Florence ADER

Pour ce travail que tu m'as confié il y a maintenant plus de deux ans. Je ne saurais jamais assez te remercier pour les opportunités que tu as pu m'offrir, accompagnées de ton dynamisme exceptionnel, tes idées foudroyantes et ton expertise unique.

A Monsieur le Professeur Régis PEFFAULT DE LATOUR

Pour l'honneur que vous me faites en ayant accepté de prendre part à ce jury. Votre disponibilité et votre réactivité ont été des éléments décisifs dans la réalisation de ce travail.

A Monsieur le Professeur Hervé GHESQUIERES

Pour avoir accepté d'honorer ce jury. Ton regard extérieur est un élément précieux garant de la qualité de cette thèse.

A Madame la Doctoresse Anne HUYNH

Pour m'avoir ouvert les portes de l'Oncopole et accepté avec enthousiasme de participer à ce jury.

A Madame la Doctoresse Hélène LABUSSIERE

Pour m'avoir formé en hématologie et soutenu dans ma formation pratique. Tes compétences et ta rigueur légendaires sont un exemple pour ma pratique future. Ta relecture finale a également été cruciale.

AUX PERSONNES AYANT CONTRIBUE A CE TRAVAIL

Au Dr Anne CONRAD ; merci de m'avoir passé la main sur ce projet florissant que tu avais initié.

Au Dr Florent VALOUR ; plus que précieuse, ton aide en biostatistiques m'aura permis de m'autonomiser sur la réalisation des analyses multivariées.

A M. Fabien SUBTIL ; pour vos conseils notamment sur la régression logistique conditionnelle et le contrôle des résultats statistiques.

Au Dr Emmanuel BACHY ; pour tes conseils en biostatistiques à une période où tu avais bien d'autres préoccupations.

Au Dr Franck NICOLINI et à la Pr Mauricette MICHALLET ; pour votre avis critique sur le draft initial ainsi que votre soutien et compréhension face à mes choix de carrière.

Aux assistantes de recherche clinique M^{mes} Myriam RENAULT, Sylvie LENGAY et Elodie JOUANNEM ; pour votre disponibilité et votre efficacité. Votre bonne humeur aura également été un élément facilitant grandement le recueil de données.

A MES COLLEGUES

A toutes ces personnes qui m'ont accompagné tout au long de l'internat et ont fortement contribué à faire de ces années une expérience humaine et scientifique merveilleuse :

- Aux internes d'hématologie de Lyon mais également de Clermont-Ferrand et Grenoble pour le soutien mutuel dans la bonne humeur face aux différentes épreuves que nous avons pu traverser, ainsi qu'aux nombreuses soirées (et autres week-end Niçois) nous ayant permis de bien décompresser
- Aux internes d'autres spécialités, aux différents oncologues que j'ai pu côtoyer au CLB (bien qu'ils se soient égarés lors du choix de leur spécialité), au groupe éclectique de pneumologie Lyon Sud, à l'équipe Croix-Roussienne de maladies infectieuses
- Aux infirmiers.ères d'hématologie qui partagent avec nous la passion du globule au service des patients
- Aux aides soignants.es qui sont en première ligne de la prise en charge, avec parfois de petites attentions et souvent de grandes leçons d'humanité à nous inculquer
- Aux assistants.tes de recherche clinique qui gardent le cap de la rigueur face aux tempêtes des services
- A toute l'équipe Caux du CRCL qui m'a accueilli et initié à la recherche fondamentale, et au groupe HERVs qui m'a adopté

A MES AMIS

Ces personnes qui croient en moi, me soutiennent, me connaissent et m'apprécient tel que je suis :

- A mes ex-colocataires qui ont sur rendre mes premières années Lyonnaises inoubliables. Les deux gai-lurons que j'ai récemment quitté m'auront laissé de nombreux fous rires et d'inestimables souvenirs
- Aux filles et fils du forgeron, toujours motivés.ées et partants.es pour bouger, m'offrant régulièrement d'excellents moments d'évasion
- Aux Grenoblois dispersés aux quatre coins de France ne rechignant jamais à faire plusieurs centaines de kilomètres pour se retrouver
- A mes amis du lycée qui voient encore en moi le MJ que j'étais jadis
- A mes amis du collège, ces amis que l'on ne voit que trop peu mais avec à chaque fois l'impression de ne jamais s'être quitté

A MA FAMILLE

Ces personnes qui n'ont d'autre choix que de m'aimer constituent le socle de ma vie :

- A mes parents, véritables modèles et soutiens infatigables. Afin d'éviter des remerciements sincères débordant dans la niaiserie, il me semble qu'un « je vous aime » parfois suffit
- A mon frère, toujours présent pour moi et que la distance ne saurait jamais nous séparer
- A mes oncles, tantes, cousins et cousines qui me rendent fier de ma famille

A ma belle qui a accepté de me rejoindre ici pour partager et enrichir ma vie

« Ce n'est pas le plus fort de l'espèce qui survit, ni le plus intelligent.

C'est celui qui sait le mieux s'adapter au changement. »

Charles Darwin

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	19
1. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (ACSH)	21
2. Problématique de la non prise de greffe	22
3. Résumé de l'article	23
REVUE DE LA LITTERATURE	25
I. Non prise de greffe de CSH	27
1. Définition	27
2. Incidence	28
3. Facteurs de risques identifiés	30
4. Evolution après perte du greffon	38
II. Acteurs immunitaires de la non prise de greffe	40
1. Immunité cellulaire	40
2. Immunité humorale	43
3. Rôle des cellules souches mésenchymateuses	44
III. Relations hôte-pathogènes pendant la prise de greffe	48
1. Virus	49
2. Bactéries et champignons	54
3. Toxoplasmose	58
4. Rôle du microbiote	59
5. Autres situations	59
IV. Conclusions préliminaires	62
ARTICLE	63
DISCUSSION	65
I. Résultats de l'étude	97
1. Association IPS-non prise de greffe	97
2. Rôle de la sérodiscordance	99
3. Survie après non prise de greffe	100
II. Perspectives	101
1. Hypothèse de travail et objectif de l'étude	101
2. Patients et méthodes	101
3. Retombées attendues	108
CONCLUSION	109
REFERENCES	113
ANNEXES	131

ABREVIATIONS

ACSH : Allogreffe de Cellules Souches hématopoïétiques

ADCC : Cytotoxicité à médiation Cellulaire Dépendante des Anticorps (*Antibody Dependant Cell-mediated Cytotoxicity*)

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CMV : Cytomégalovirus

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CSP : Cellules Souches Périphériques

EBV : Virus d'Epstein-Barr

GvHD : Maladie du Greffon contre l'Hôte (*Graft versus Host Disease*)

GvL : Greffon contre la Leucémie (*Graft versus Leukemia*)

HLA : *Human Leukocyte Antigen*

HHV-6 : Virus de l'Herpès Humain 6

IDO : Indoleamine 2,3-Dioxygénase

IFN : Interféron

IL : Interleukine

IPS : Infections Précoce Sévères

LAL : Leucémie Aiguë Lymphoblastique

LAM : Leucémie Aiguë Myéloblastique

LB : Lymphocytes B

LPS : Lipopolysaccharide

LT : Lymphocytes T

NK : Lymphocyte *Natural Killer*

OR : Odds Ratio

PAMPS : Motifs Moléculaires Associés aux Pathogènes (*Pattern Associated Molecular Patterns*)

PRR : Récepteur de reconnaissance de motifs moléculaires (*Pattern Recognition Receptor*)

PNN : PolyNucléaires Neutrophiles

SAL : Sérum Anti-Lymphocytaire

TCR : Récepteur des lymphocytes T (*T Cell Receptor*)

TLR : Récepteur de type Toll (*Toll-Like Receptors*)

INTRODUCTION

L’allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (ASCH) reste à ce jour la seule thérapie cellulaire à visée curative pour de nombreuses hémopathies malignes et non malignes. Parmi toutes les étapes de cette procédure complexe, la « prise » du greffon est essentielle pour garantir la reconstitution de l’hématopoïèse et son action thérapeutique. La non prise de greffe (ou perte de greffon) constitue un échec de l’ACSH pour lequel différents facteurs de risques ont pu être identifiés. Si certains d’entre eux semblent systématiquement associés à un risque accru de non prise de greffe, d’autres, en revanche, sont plus controversés. Parmi ceux-ci, les événements infectieux, souvent cités comme facteurs de risque potentiels, n’ont jamais fait l’objet d’une étude approfondie visant à étayer la relation de causalité à cette complication.

Ce travail fait le point sur les différentes infections précoces sévères (IPS) associées à la non prise de greffe chez l’adulte. Après une brève introduction résistant le contexte actuel de l’ACSH, nous résumerons la méthodologie et les principaux résultats obtenus ayant abouti à la production d’un manuscrit soumis au journal *Clinical Infections Diseases* et actuellement en cours de revue. Nous passerons ensuite en revue les données publiées à ce jour concernant les facteurs de risque associés à la non prise de greffe, les différents effecteurs et mécanismes immunologiques impliqués cette complication et les données disponibles sur les interactions entre l’hématopoïèse et certains micro-organismes pathogènes, avant d’introduire l’article lui-même. Enfin, nous conclurons par les perspectives de ce travail de thèse en exposant une proposition d’étude prospective de recherche translationnelle sur les syndromes d’insuffisance médullaire après ACSH.

1. L’allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (ACSH)

A l’ère des thérapies ciblées, l’activité d’ACSH reste en constante augmentation avec plus de 16 000 greffes allogéniques recensées en Europe en 2016 et plus de 8 500 aux Etats-Unis (1,2). Les hémopathies myéloïdes constituent les principales indications d’ACSH (55,7%), au premier rang desquelles les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) constituent à elles seules 38% des indications totales (1). En France, 1 958 greffes allogéniques ont été recensées en 2016, les hémopathies malignes représentant plus de 90% des indications (3).

Les pratiques ont beaucoup évoluées depuis les premières greffes de moelle osseuse (MO) il y a plus de 40 ans (4), avec l’introduction de différentes sources cellulaires (cellules souches périphériques (CSP) en 1981 puis sang de cordon ombilical en 1988 (5)), l’apport des techniques de biologie moléculaire permettant d’affiner la compatibilité HLA (*Human Leukocyte Antigen*), la réduction de la toxicité liée au conditionnement (avec l’avènement des conditionnements à intensité réduite permettant de proposer un traitement curatif à des patients de plus en plus âgés), l’amélioration de la prophylaxie de la maladie du greffon contre l’hôte (ou GrHD pour *Graft-versus*-

Host Disease) et la meilleure prise en charge des complications infectieuses (6). La survie globale à 5 ans après allogreffe s'est ainsi nettement améliorée, passant de 37% pendant la période 1993-1997 à 53% pour la période 2003-2007 (4). Celle-ci varie selon les sous-groupes de greffes, allant de 78% (+/-2%) pour les greffes géno-identiques dans le cadre d'une aplasie médullaire idiopathique jusqu'à 25% (+/-1%) pour les greffes phéno-identiques pour une LAM en situation réfractaire. Ces chiffres provenant de centres américains sont comparables aux données françaises, avec une survie globale à 5 ans toutes greffes confondues estimée à 49,3% pour la période 2002-2008 (3).

Malgré ces avancées, les complications restent fréquentes et se reflètent dans les principales causes de mortalités. Ainsi, les complications infectieuses représentent la deuxième cause de décès après allogreffe, responsables de 20% des décès précoces (avant J+100) et 9 à 13% des décès « tardifs » (après J+100) (2). Avec 8 à 10% des décès avant J+100 et 7 à 10% après J+100, la GrHD arrive juste derrière, la rechute constituant quant à elle toujours la première cause de décès (22 à 27% avant J+100, 47 à 58% après J+100) (2).

2. Problématique de la non prise de greffe

La non prise de greffe est une complication dont l'incidence globale est estimée à 5,5% dans les études rétrospectives les plus récentes, variant nettement selon les différents types de greffes (7,8). Si plusieurs facteurs de risques tels que le type de maladie sous-jacente, la source cellulaire ou la compatibilité HLA ont été clairement identifiés comme facteurs de risque de non prise de greffe (7-11), d'autres facteurs comme la prophylaxie de la GrHD ou la compatibilité ABO sont plus controversés (7,8). Parmi ceux-ci, les infections et en particulier les réactivations virales sont souvent citées comme facteurs de risque potentiels (7,12-14). Cependant, à l'exception notable du virus de l'Herpès humain de type 6 (HHV-6) dont la réactivation avant ACSH provenant de cordon ombilical a été décrite comme prédictive de la non prise de greffe, les événements infectieux précoces n'ont jamais fait l'objet d'une étude spécifique dans l'hypothèse d'un lien causal direct avec cette complication.

L'objectif de cette étude était d'identifier les événements infectieux associés aux non prises de greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH).

3. Résumé de l'article

Entre 2008 et 2017, 2094 dossiers de patients ayant bénéficié d'une ACSH ont été analysés via la base de données de trois centres hospitalo-universitaires (Lyon (Centre Hospitalier Lyon Sud, HCL), Paris (Saint-Louis, AP-HP) et Toulouse (Oncopole)). Quatre-vingt-huit cas éligibles ont été identifiés, permettant de retenir 49 cas de pertes de greffon analysables. Quatre-vingt-dix-huit témoins leurs ont été appariés sur des critères connus comme facteurs de risque de perte de greffon (type de maladie, source cellulaire, compatibilité HLA, et autant que possible sur le sexe, l'âge (+/- 10 ans) et la temporalité de la greffe (+/- 5 ans)). Les IPS, définies sur des critères de sévérité (infection menaçant le pronostic vital) et de temporalité (survenant pendant la « fenêtre » de prise de greffe, allant du début du conditionnement J-7 jusqu'à J+42 après greffe) ont été recueillies par croisement des bases de données de chaque centre avec le dossier médical du patient. D'autres critères démographiques, liés à la transplantation (tels que la cellularité, la prophylaxie de la GrHD ou la compatibilité ABO) et microbiologiques ont également été recueillis.

L'analyse descriptive n'a révélé aucune différence statistiquement significative pour les caractéristiques démographiques et hématologiques des deux groupes, confirmant la qualité de l'appariement. En analyse univariée, les IPS étaient fortement associées à la perte de greffon (Odds Ratio (OR) 11,04 ; Intervalle de confiance à 95% (IC95%) [3,86-31,61] ; p<0,0001). Les hommes recevant un greffon de femme ($p=0,009$), la discordance sérologique vis-à-vis du cytomégalovirus (CMV) entre le donneur et le receveur (sérodiscordance) ($p=0,033$), une richesse cellulaire du greffon inférieure ou égale à 2,5 (10^8 pour les greffons de CSP et MO, 10^6 pour les greffons de cordons) cellules nucléées totales par kilogramme ($p=0,040$) étaient également des facteurs associés à la perte de greffon. En analyse en sous-groupes, les IPS associées à la perte de greffon étaient (par ordre décroissant de risque) : la toxoplasmose (OR 29,44), le sepsis prolongé non documenté (OR 24,35), les infections fongiques invasives (OR 11,13), le sepsis sévère (OR 8,29) et les infections virales (OR 2,84) ($p<0,05$ pour chaque sous-groupe). En analyse multivariée, les IPS, la cellularité et la sérodiscordance CMV étaient indépendamment associés à la perte de greffon (OR 14,35 ; IC95% [3,58-57,49] ; p<0,0001, OR 4,23 ; IC95% [1,21-14,74] ; p=0,024 et OR 2,83 ; IC95% [1,08-7,41] ; p=0,035, respectivement).

En prenant le décès de toutes causes comme événement compétitif, l'incidence cumulée des IPS à 42 jours post-transplantation était significativement plus élevée chez les cas par rapport aux témoins (75,5% [64,4-88,6] vs. 26,5% [19,1-36,9] respectivement ; Gray test : $p<0,0001$). La mortalité cumulée liée aux infections à 5 ans, avec le décès de cause non infectieuse en événement compétitif, était significativement plus élevée chez les cas par rapport aux témoins (75,2% [64,7-

82,7] *vs.* 47,3% [27,2-61,9] respectivement ; Gray test : $p=0,002$). La survie globale à 5 ans était significativement diminuée chez les cas (19,7% [5,2-34,2]) par rapport aux témoins (52,9% [42,4-63,4]) (HR 2,475; IC 95% [1,48-4,137] ; $p<0,0001$). Concernant les 2^{èmes} greffes de sauvetage, les patients recevant une greffe haplo-identique présentaient un taux de survie globale supérieur par rapport à ceux recevant une greffe de donneur non apparenté ou de sang de cordon (100% *vs.* 30% ; $p=0,023$ et 100% *vs.* 11,1% ; $p=0,0035$, respectivement).

Cette étude montre une forte association entre les IPS et les non prises de greffe. Bien que cette relation ait souvent été suggérée comme un cofacteur dans d'autres études, cela n'avait jamais été spécifiquement documenté. Par ailleurs, seules les infections virales étaient habituellement analysées. Pour la première fois, d'autres agents infectieux d'origine fongique, bactérienne et parasitaire sont mis en évidence au moment de l'échec de prise de greffe. La question se pose du rôle de ces infections comme facteurs initiateurs ou conséquences contemporaines de cette complication, le délai de survenue des IPS plaidant plutôt en la faveur d'agent potentiellement favorisant la non prise. Le pronostic péjoratif des non prises de greffe est en outre confirmé, avec des résultats intéressants concernant la greffe haplo-identique en traitement de sauvetage nécessitant confirmation sur de plus grandes séries.

REVUE DE LA LITTERATURE

Pour mieux comprendre la problématique, il convient d'introduire le sujet par un état des lieux de la littérature. Vers la fin des années 1980, l'amélioration des procédures de prévention de la GrHD a permis la diversification des types de greffes et ouvert la voie aux greffes HLA incompatibles (15). Cette avancée, permettant à un nombre croissant de patients n'ayant pas de donneur apparenté géno-identique de bénéficier d'un traitement curatif, s'est accompagnée d'un taux croissant de non prises de greffes (15,16). Plusieurs équipes se sont alors intéressées aux facteurs de risques et mécanismes immuno-pathologiques associés à ces non prises. Les résultats, parfois divergents et obtenus à partir de populations hétérogènes, soulignent toute la difficulté de l'analyse de cette procédure complexe qu'est l'ACSH et la prudence nécessaire pour l'interprétation d'études peu ou non comparables.

I. NON PRISE DE GREFFE DE CSH

1. Définition

Pendant longtemps, la définition de la non prise de greffe n'a pas été standardisée. La reconstitution autologue a ainsi souvent été considérée comme une perte de greffon secondaire (8) avant d'être classée dans les non prises de greffe primaires dans les approches plus récentes (11,17), tandis que le dysfonctionnement du greffon (*poor graft function*) est parfois arbitrairement considéré comme une non prise de greffe. Les études plus récentes convergent vers une définition cohérente que nous reprendrons ici (Tableau 1).

La non prise de greffe primaire est définie par l'absence de prise initiale des CSH du donneur, avec un chimérisme sur moelle mixte ou excédant 95% du receveur (7,8). En cas de conditionnement myéloablatif, cette situation se traduit par une absence de sortie d'aplasie (non prise de greffe neutropénique, avec polynucléaires neutrophiles (PNN) inférieurs à 0,5 G/L) ou une reconstitution autologue en cas de conditionnement d'intensité réduite (17,18). La non prise de greffe secondaire est définie par la perte d'un greffon ayant précédemment montré des signes de fonctionnement, avec perte du chimérisme du donneur. Celle-ci se traduit par sortie initiale d'aplasie avec un chiffre de PNN supérieurs ou égal à 0,5 G/L pendant plus de trois jours consécutifs avant un retour en aplasie. La dysfonction du greffon est une entité distincte, caractérisée par un chimérisme total donneur avec une moelle hypoplasique et deux ou trois cytopénies persistantes après ASCH en l'absence de GrHD (17,19). Le délai généralement admis pour considérer une non prise de greffe primaire est de 28 jours, porté à 42 jours pour les greffes

de sang de cordon (10,20). Par extension, les études plus récentes proposent un seuil commun à 42 jours (11,18). Passé ce délai, la non prise de greffe est considérée comme secondaire. Une non prise de greffe secondaire survenant avant 42 jours après ACSH est considérée non prise de greffe secondaire précoce. Que la non prise soit primaire ou secondaire, un élément important est l'absence de rechute de la maladie hématologique sous-jacente (17). L'absence de prise de greffe liée à une rechute est en effet un événement distinct, régi par des mécanismes physiopathologiques différents.

Cette définition, désormais reprise par la plupart des auteurs, constitue la première source de variabilité des études plus anciennes. Outre la définition en elle-même et sa temporalité, les patients ayant présenté une rechute et/ou un décès précoce peuvent être catégorisés comme non prise de greffe dans les bases de données. Ceci constitue un biais dont il convient de s'affranchir par l'éviction de ces patients des analyses pour accroître la pertinence des résultats.

2. Incidence

Toutes greffes allogéniques confondues, l'incidence globale de la non prise de greffe est estimée à 5,5% dans les études rétrospectives les plus récentes (7,8). Le risque est cependant très variable en fonction des situations, avec une incidence allant de 2% pour des maladies hématologiques malignes greffées avec des CSP jusqu'à 30% pour des maladies non malignes bénéficiant de greffon de sang de cordon ombilical ou de greffe haplo-identique (8,11,12,21). A titre comparatif, le dysfonctionnement du greffon survient dans 5 à 27% des cas après ACSH (19). Réunies sous l'entité nosologique des syndromes d'insuffisance médullaire après ACSH (*Bone marrow failure syndromes*, définis dans le tableau 1), ces deux complications, bien que relativement rares, ne sont pas exceptionnelles.

DEFINITIONS DES SYNDROMES D'INSUFFISANCE MEDULLAIRE APRES ACSH

Non prise de greffe (graft failure)

- **Primaire neutropénique :**
 - Absence de sortie d'aplasie (PNN \leq 0,5 G/L) avant J+42 post-ACSH
 - Chimérisme mixte ou \geq 95% receveur
- **Primaire non neutropénique :**
 - Sortie d'aplasie (PNN \geq 0,5 G/L) avant J+42 post-ACSH
 - Chimérisme \geq 95% receveur (= Reconstitution autologue)
- **Secondaire précoce :**
 - Sortie d'aplasie pendant au moins 3 jours consécutifs (PNN \geq 0,5 G/L) avant retour en aplasie avant J+42 post-ACSH
 - Perte du chimérisme du donneur (chimérisme mixte ou \geq 95% receveur)
- **Secondaire tardive :**
 - Sortie d'aplasie pendant au moins 3 jours consécutifs (PNN \geq 0,5 G/L) avant retour en aplasie après J+42 post-ACSH
 - Perte du chimérisme du donneur (chimérisme mixte ou \geq 95% receveur)

Dysfonction du greffon (Poor graft function)

- Chimérisme total donneur (\geq 95% donneur)
- Présence d'une ou plusieurs cytopénies persistantes après J+42 post-ACSH :
 - PNN \leq 0,5 G/L
 - Plaquettes \leq 20 G/L
 - Hémoglobine \leq 70 g/L
- Moelle hypoplasique
- Absence de GrHD

Critères d'exclusion

- Rechute précoce de la maladie (avant J+42) et/ou décès survenant précocement après l'ACSH.

Tableau 1 : Définitions des syndromes d'insuffisance médullaire (Bone Marrow Failure Syndromes) après ACSH

ACSH : *Allogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques*, GrHD : *Graft-versus-Host Disease (maladie du greffon contre l'hôte)*, PNN : *Polynucléaires neutrophiles*

3. Facteurs de risques identifiés

a) Maladie hématologique

La maladie hématologique sous-jacente est probablement l'un des facteurs de risque influençant le plus fortement la non prise de greffe. Les patients greffés pour une maladie non maligne ont ainsi jusqu'à trois fois plus de risque de présenter une non prise de greffe que ceux traités pour une hémopathie maligne (7). Dans cette population naïve de chimiothérapie, l'intégrité du système immunitaire favorise le rejet. Les patients atteints d'hémoglobinopathie sont fréquemment polytransfusés sur fond d'hématopoïèse hyper-cellulaire ce qui, comme nous le verrons plus tard, peut impacter la prise de greffe.

Parmi les hémopathies malignes, les syndromes myéloprolifératifs présentent un risque trois fois supérieur de non prise de greffe par rapport aux LAM (8). Cette différence est en partie expliquée par la présence d'une splénomégalie, démontrée comme augmentant le délai de prise de greffe ainsi que risque de non prise. La fibrose médullaire associée à certains SMP constitue également un environnement peu favorable à la bonne installation des CSH. La splénectomie permet de réduire ce délai sans impacter la survie globale (8,22). Il est intéressant de noter qu'une majoration de la cellularité (par l'utilisation de greffons de CSP par exemple) permet d'améliorer la prise de greffe en cas de splénomégalie, attestant de la capacité de séquestration des cellules sanguines par la rate. Plett *et al.* avaient ainsi rapporté dans un modèle murin la présence de CSH dans la moelle osseuse et dans la rate 20 heures après l'ACSH (23). Les CSH de la moelle présentaient cependant un phénotype plus immature et conservaient une capacité de restauration de l'hématopoïèse supérieure aux CSH séquestrées par la rate, s'apparentant plus à des progéniteurs.

Le statut de la maladie est également important, avec un surrisque de non prise de greffe en cas de maladie avancée ou persistante, soulignant la difficulté d'implantation du greffon dans un microenvironnement fortement altéré par la maladie hématologique (8). Dans une étude récente de la Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Cluzeau *et al.* ont montré que, dans le sous-groupe des hémopathies malignes, le seul facteur significativement associé à la non prise de greffe en analyse multivariée était le statut de la maladie avant transplantation (24). Cette analyse réalisée sur une période de temps relativement récente (2006-2012) incluait uniquement les greffes provenant de donneurs non apparentés et n'incluait ni greffe de cordon, ni greffe haplo-identique.

b) Caractéristiques du greffon

Les greffes de CSH provenant de sang de cordon ombilical ont un risque de non prise supérieur par rapport aux greffes issues de CSP ou de MO (7,8). Entre ces deux dernières sources cellulaires, le risque de non prise est plus élevé dans certaines situations pour les greffons de MO par rapport aux CSP, notamment en cas d'hémopathie maligne ou de conditionnement myéloablatif (8). Ces différences doivent être rapprochées de la cellularité du greffon. S'il n'existe pas, a priori, de différence « qualitative » concernant les CSH elles-mêmes (ces dernières ayant la capacité de transiter entre la MO et le sang), un greffon issu de CSP contient trois à quatre fois plus de cellules CD34+ et environ dix fois plus de lymphocytes qu'un greffon issu de MO (5). Olsson *et al.* ont ainsi rapporté un effet protecteur de la richesse du greffon à partir d'une cellularité supérieure ou égale à $2,5 \cdot 10^8$ cellules nucléées totales par kg et $3 \cdot 10^6$ cellules CD34+ par kg (7). La pertinence de ce seuil a été confirmée par la plus grande étude sur la non prise de greffe rétrospective à ce jour, montrant une augmentation du risque de non prise de 40% en cas de cellularité inférieure ou égale à $2,4 \cdot 10^8$ cellules nucléées totales par kg (8). L'impact du nombre de cellules CD34+, étudié à différents seuils, n'était cependant pas retrouvé dans cette deuxième étude.

Ces résultats suggèrent que plus que la cellularité elle-même, c'est la source cellulaire qui est importante, avec les différents sous types cellulaires qui lui sont associés.

c) Compatibilité HLA

Le faible taux de non prise de greffe observé en cas de greffon provenant d'un donneur apparenté HLA identique (dit géno-identique) s'explique en grande partie par la profondeur de la compatibilité HLA. En cas de greffe provenant d'un donneur non apparenté, une compatibilité de 8/8 (pour chacun des deux allèles des locus HLA-A, -B, -C et -DRB1) est recherchée aux Etats-Unis. En Europe, cette compatibilité est étendue au locus HLA-DQ (compatibilité 10/10). Dans l'éventualité où plusieurs donneurs seraient disponibles, la compatibilité pour le locus HLA-DP (12/12) est également recherchée. Les premières greffes bénéficiaient d'un typage HLA par une méthode sérologique, définissant des incompatibilités dites « antigéniques ». L'introduction des méthodes de biologie moléculaire a permis d'affiner le typage HLA, permettant de détecter des incompatibilités au niveau génique, dites « alléliques ».

Ces règles ont été établies à la lumière des études ayant progressivement rapporté l'impact de la compatibilité HLA sur l'ACSH. L'incompatibilité sérologique a ainsi été l'un des premiers facteurs de risque identifié de non prise de greffe, avec jusqu'à 28% de non prises de greffe observées dans le contexte haplo-identique en comparaison à 2% pour des greffes géno-identiques dans une étude datant de 1989 (15). Plus tard, les méthodes de typage haute résolution ont révélé

que chaque incompatibilité allélique au niveau des différents loci HLA-A, -B, -C (HLA de type I) et -DRB1 (HLA de type II) est associée à augmentation significative de la mortalité globale (25,26). L'augmentation de la mortalité d'une greffe compatible 9/10 est ainsi estimée à 27% par rapport à une greffe compatible 10/10 (26). Si certains auteurs ont rapporté des incompatibilités semblant mieux tolérées (notamment dans le locus -B et -C), une méta analyse récente retrouve un impact similaire pour les incompatibilités HLA-A, -B et -C avec une tendance à l'augmentation de la mortalité globale en cas d'incompatibilité -DRB1 (26).

Les incompatibilités dans les locus -DP et -DQ (HLA de type II) n'ont quant à elles jamais montré d'impact sur la mortalité globale. La particularité de l'incompatibilité HLA-DP doit cependant être soulignée. Une étude a en effet montré que l'incompatibilité -DP pouvait se diviser en deux catégories : les incompatibilités dites « permissives », mieux tolérées, et les incompatibilités dites « non permissives », plus immunogènes et associées à un moins bon pronostic (27). Ainsi chez les patients bénéficiant d'une greffe avec un donneur non apparenté HLA compatible 10/10, les incompatibilités non permissives -DP étaient associées à une augmentation de la mortalité globale, de la mortalité non liée à la rechute et du taux de GvHD aiguë. Plus étonnant, cette étude retrouvait des survies comparables entre les greffes compatibles 9/10 avec incompatibilité -DP permissive et les greffes compatibles 10/10 avec incompatibilité -DP non permissive.

Toutes ces données liées à l'incompatibilité HLA sont transposables au risque de non prise de greffe. Les greffes non apparentées présentent ainsi toutes un surrisque de non prise de greffe par rapport aux greffes apparentées géno-identiques (7). Le risque est significativement plus élevé en cas d'incompatibilités pour les locus HLA de type I (28–30) mais semble être compensé par l'administration de sérum anti-lymphocytaire (SAL) pour les incompatibilités -C, -DP et -DQ (31). Un surrisque existe également en cas d'incompatibilité -DP, même permissive, ce qui représente 80% des cas de greffe compatibles 10/10 (32,33).

d) Anticorps anti-HLA

La présence d'anticorps anti-HLA est retrouvée chez 1 à 5% des donneurs volontaires de sang en bonne santé, jamais transfusés (34). Chez les patients candidats à l'allogreffe, ce chiffre est estimé entre 19,6% et 39,4%, principalement lié à la polytransfusion (35). De nombreuses études ont documenté l'impact délétère de ces anticorps préexistants sur les résultats de l'ACSH. Plus que la simple séropositivité, c'est la présence d'anticorps spécifiques dirigés contre le HLA du donneur qui est associée à un risque accru de non prise de greffe (35). Ces données se sont vérifiées dans toutes les situations de greffe non apparentées (10/10, 9/10, sang de cordon et haplo-identique) avec des incidences de non prise de greffe allant jusqu'à 57,1% dans certaines situations de double

greffe de sang de cordon avec présence d'anticorps dirigés contre les deux unités placentaires (36). Dans le cas des greffes non apparentées HLA compatibles 10/10, ce sont les anticorps dirigés contre le HLA-DP du donneur qui pourraient participer au rejet du greffon (37). Ces résultats doivent être nuancés à la lumière de certaines études qui n'ont pas mis en évidence de relation entre la présence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur et le risque de non prise de greffe, notamment dans le cadre de greffe de double unité placentaire avec présence d'anticorps dirigés contre un seul cordon (38) ou de greffe à conditionnement réduit (39). La spécificité des anticorps n'était cependant pas étudiée dans ce dernier cas, et la présence d'anticorps anti-HLA était tout de même associée à une moins bonne survie globale.

Ces données sont particulièrement importantes avec l'augmentation actuelle du nombre de greffes haplo-identiques. Ces greffes en situation apparentée majorent en effet le risque de présence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur, notamment chez les femmes multipares. Gladstone *et al.* décrivaient ainsi au sein d'une cohorte rétrospective de 296 patients ayant bénéficié d'une greffe haplo-identique la présence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur chez 14,5% (n=43) d'entre eux (40). En analyse en sous-groupe, 30,6% des femmes présentaient des anticorps anti-HLA spécifiques du donneur, contre 4,9% des hommes. L'EBMT propose ainsi des recommandations guidant la sélection du meilleur donneur haplo-identique à la lumière des données récentes de la littérature (41). La recherche d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur est recommandée chez tous les patients, avec en cas de positivité la sélection d'un autre donneur si possible ou bien la désensibilisation avant ACSH. Des protocoles d'immunomodulation (échanges plasmatiques, immunoglobulines intraveineuses, perfusions de Rituximab) ont été développés dans ce cadre, permettant une réduction du taux d'anticorps (42). Les résultats mitigés obtenus avec de telles approches soulèvent la question du rôle exact des anticorps dans ce contexte, comme nous le verrons plus tard dans la discussion.

e) Compatibilité ABO

L'incompatibilité ABO a longtemps été considérée comme un facteur risque d'hémolyse ne gênant pas la bonne prise de greffe. Les premières études réalisées à la fin des années 1970 ne retrouvaient effectivement pas d'impact de l'incompatibilité ABO sur le délai de sortie d'aplasie ou la survenue de GVHD (43,44). Ce n'est que plus tard vers la fin des années 1990 qu'une surmortalité associée à un excès de non prise de greffe a été décrite (45). Cet effet était surtout marqué en cas d'incompatibilité ABO bidirectionnelle, sans impact retrouvé de l'incompatibilité mineure ou majeure sur la survie. Inversement, l'incompatibilité ABO majeure a été reliée à un surrisque de non prise de greffe en cas de donneur non apparenté, avec un impact moindre de l'incompatibilité bidirectionnelle qui ne ressortait plus dans l'analyse multivariée (31). Ces résultats ont été confirmés

dans une autre étude portant sur des ACSH géno-identiques, avec un effet indépendant de la source cellulaire (8).

Malgré ces données, l'impact actuel de l'incompatibilité ABO reste controversé. Les études plus récentes ne retrouvent pas d'impact des différentes incompatibilités sur la non prise de greffe en analyse multivariée (7). Cette différence pourrait s'expliquer en partie par la désérythrocytation ou la réduction plasmatique des greffons ABO incompatibles. Ce traitement entraîne une perte de cellularité, avec une baisse du nombre de lymphocytes T (LT), constituant un potentiel facteur de confusion expliquant possiblement la persistance de l'association en analyse univariée. Par son effet antiprolifératif sur les LT et les lymphocytes B (LB), le méthotrexate utilisé en prophylaxie de la GvHD pourrait également minimiser l'impact immunologique de l'incompatibilité ABO.

f) Discordance de sexe

Vers le milieu des années 1950, Eichwald *et al.* rapportaient un rejet plus fréquent et plus rapide des greffes de peau provenant de donneurs murins males sur des souris femelles (46). La découverte du rôle prédominant en transplantation des antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), codés par les gènes du système HLA, a par la suite fait passer la discordance de sexe au second plan. Ce n'est qu'ultérieurement que le sujet a fait l'objet d'un regain d'intérêt avec la constatation d'une majoration de la mortalité globale chez les hommes recevant un greffon de CSH d'un donneur féminin (47,48). Cet effet était associé à une augmentation de la mortalité liée à la greffe, du taux de GvHD et une diminution du risque de rechute. D'autres études ont également décrit une diminution de la survie globale avec une augmentation du taux de non prise de greffe chez les patientes recevant un greffon de donneur masculin (21,48,49). L'effet était observé quel que soit l'âge, indépendamment de l'année de greffe et de la source cellulaire. D'une façon intéressante, l'augmentation du risque de non prise était limitée aux patientes ne recevant pas de SAL ou aux greffons déplétés en LT.

Des résultats inverses ont été rapportés dans des études rétrospectives plus récentes avec des effectifs importants, montrant un risque supérieur de non prise de greffe en cas d'homme recevant un greffon de donneur féminin (7,8). Ce renversement de tendance pourrait en partie s'expliquer par la généralisation du SAL pour les greffes non apparentées, minimisant l'impact de la reconnaissance allogénique d'antigènes d'histocompatibilité mineurs codés par le chromosome Y sur la non prise de greffe. Ainsi, le sexe du donneur ne semble plus avoir d'impact, ni sur la survie globale ni sur la non prise de greffe pour les patientes allogreffiées (8,50). Les données issues des pratiques récentes rapportent une survie sans progression inférieure chez les hommes, indépendamment du sexe du donneur (50). Dans le cas d'un greffon de donneur féminin, cette

surmortalité est associée à une majoration du risque de GrHD chronique et de la mortalité non liée à la rechute, avec diminution du risque de rechute. La surmortalité dans cette population abolirait le bénéfice secondaire à la réduction des rechutes.

g) Conditionnement

Le développement des conditionnements non-myéloablats (permettant en théorie une reconstitution autologue en cas de non prise de greffe) et d'intensité réduite (situé entre le non-myéloablatif et le myéloablatif) a permis une diminution de la mortalité non liée à la rechute, étendant ainsi l'éligibilité de la procédure d'allogreffe à des patients plus âgés et/ou présentant plus de comorbidités. Cette diminution apparente de toxicité ne s'est cependant pas soldée par une diminution de la mortalité globale, comme cela a été rapporté dans un essai randomisé récent comparant les deux types de conditionnements (myéloablatif *versus* intensité réduite) chez des patients atteints de LAM ou de syndrome myélodysplasique (51). Devant un excès de mortalité globale dans le groupe à conditionnement réduit, l'essai a dû être stoppé de façon précoce.

Corollaire de cette diminution de doses, les conditionnements non-myéloablats et d'intensité réduite exposent à un surrisque de non prise de greffe (7). Ceci est particulièrement vrai en cas de conditionnement d'intensité réduite utilisé pour une maladie non maligne, favorisant ainsi la persistance d'un système immunitaire actif chez le receveur. Parmi ces conditionnements, le conditionnement non-myéloablatif expose à un risque supérieur par rapport au conditionnement d'intensité réduite (52).

Le type de traitement utilisé peut également avoir son importance : l'association d'une irradiation corporelle totale et de cyclophosphamide semble diminuer le risque de non prise de greffe en cas de conditionnement myéloablatif (8). Un risque plus élevé de non prise de greffe est rapporté en cas d'utilisation de busulfan associé à du cyclophosphamide.

h) Prophylaxie de la GrHD

Les dépletions en LT du greffon (dites *ex vivo*) en vue de réduire le taux de GrHD se sont accompagnées d'une augmentation importante des non prises de greffe, entre 10 à 30% en cas de donneur géno-identique et plus encore pour les greffe HLA incompatibles (7,49,53). Les bons résultats obtenus par la suite avec l'introduction du SAL (déplétion en LT dites *in vivo*) permettant une réduction significative du taux de GrHD aiguë et chronique sans majoration du risque de rechute, ont abouti à la généralisation de cette approche en Europe pour les greffes non apparentées (54-56). Ces différents effets ne s'accompagnent toutefois d'aucune différence significative en termes de survie globale. L'étude de Olsson *et al.* ne retrouvait pas d'impact de l'utilisation de SAL sur la non prise de greffe avec les pratiques récentes (8). Dans cette étude cependant, 87% des

greffes T déplétées provenaient de MO avec une cellularité importante pouvant éventuellement favoriser la prise en masquant l'effet de la lymphodéplétion T du greffon. Une potentielle diminution de l'effet du greffon contre la leucémie (GrL pour *Graft versus Leukemia*) dans certaines populations, associée à une majoration du délai de reconstitution immunitaire ainsi que du risque infectieux sont les principaux arguments allant contre la généralisation du SAL aux Etats-Unis. Le développement d'autres approches prometteuses comme le cyclophosphamide post-greffe restreint encore cette option (57–59).

Concernant les autres traitements prophylactiques de la GrHD, un risque diminué de non prise de greffe a été rapporté avec l'association ciclosporine + méthotrexate ou l'utilisation de tacrolimus (7,8). A l'inverse, l'utilisation de méthylprednisolone est associée à un surrisque de non prise de greffe. Là encore, la prophylaxie de la GrHD est un paramètre composite et fortement relié au type de greffe : pour exemple, l'utilisation de méthylprednisolone plus répandue dans les greffes de cordon, rend l'interprétation de ces données difficile.

i) Autres facteurs

D'autres facteurs favorisant la non prise de greffe ont été décrits de façon plus anecdotique. Olsson *et al.* retrouvent dans leur étude un surrisque de non prise de greffe chez les patients âgés de moins de 30 ans (8). Ceci pourrait être lié à une meilleure persistance du système immunitaire après conditionnement dans cette jeune population. Un excès de non prise est également observé chez les patients présentant un *performance status* inférieur à 90%. Enfin, l'augmentation du risque de perte observé avec les greffons cryoconservés pourrait s'expliquer par l'altération de la cellularité liée à cette procédure. L'ensemble des facteurs décrits et identifiés comme étant associés à la non prise de greffe est résumé dans le tableau 2.

FACTEURS ASSOCIES A LA NON PRISE DE GREFFE

Maladie hématologique

- **Maladie progressive/réfractaire**
- **Maladie non maligne**
 - Hémoglobinopathies, aplasie médullaire idiopathique
- **Syndromes myéloprolifératifs**
 - Risque en partie lié à la présence d'une splénomégalie

Greffon

- **Source cellulaire**
 - Sang placentaire
 - MO > CSP (particulièrement si hémopathie maligne ou conditionnement myéloablatif)
 - Cellularité $\leq 2,5 \cdot 10^8$ CNT/kg
- **Incompatibilité HLA**
 - Haplo-identique
 - Phéno-identique (particulièrement si incompatibilité HLA de type I)
 - Anticorps anti-HLA spécifiques du donneur
- **Incompatibilité ABO majeure**
- **Discordance de sexe**
 - Receveuse d'un greffon masculin (compensé par le SAL)
 - Receveur d'un greffon féminin

Autres

- **Conditionnement**
 - Intensité réduite > non myéloablatif
 - Myéloablatif : utilisation de Busulfan à la place de l'irradiation corporelle totale
- **Prophylaxie de la GvHD**
 - Utilisation de méthylprednisolone
- **Condition du patient**
 - Âge inférieur à 30 ans
 - *Performance status* inférieur à 90%

Tableau 2 : Facteurs associés à la non prise de greffe

CNT : *Cellules Nucléées Totales*, CSP : *Cellules Souches Périphériques*, HLA : *Human Leukocyte Antigen*, MO : *Moelle osseuse*, SAL : *Sérum anti-lymphocytaire*

4. Evolution après perte du greffon

a) Impact sur la survie globale

La population de patients allogreffés étant très hétérogène, l'analyse de la survie globale varie de façon importante entre les différents sous-groupes et centres de transplantation et doit, de fait, être interprétée avec prudence. La mortalité sans seconde greffe de sauvetage est extrêmement élevée en l'absence d'hématopoïèse fonctionnelle. Certains auteurs rapportent ainsi une mortalité de 99% chez les patients ayant présenté une non prise de greffe et n'ayant pas bénéficié d'une greffe de sauvetage (60). Parmi les patients bénéficiant d'une greffe de sauvetage, la survie globale à 5 ans toutes greffes confondues est quant à elle estimée entre 11% et 50% (10,20,60,61). Ce chiffre est différent en fonction du type de maladie : la non prise de greffe en cas de maladie hématologique non maligne ne modifierait pas la survie, avec une survie globale à 3 ans pouvant aller jusqu'à 82% après greffe de sauvetage à conditionnement réduit (7,11). La survie globale à 5 ans après une seconde greffe pour une aplasie médullaire idiopathique est, elle, estimée à 60,7% (62). Chez les patients allogreffés avec un conditionnement myéloablatif pour une hémopathie maligne, la survie globale à 1 an après non prise de greffe est estimée à 45% (8).

Si la rechute constitue souvent la première cause de décès après non prise de greffe (26,7% dans l'étude d'Olsson *et al.*) suivie par les causes infectieuses (15,2%), ces dernières prennent la première place dans certaines publications, représentant jusqu'à 52% des causes de décès après seconde greffe (de sauvetage) (8,18,20). D'une façon intéressante, la non prise de greffe représente la troisième cause de décès (1,5-2,5%) après la GrHD (2-6%) et les infections (6-13%) chez les patients allogreffés pour une aplasie médullaire idiopathique (63).

b) Prise en charge

La prise en charge après une non prise de greffe n'est pas standardisée. Si plusieurs options existent (diminution de l'immunosuppression, administration de facteurs de croissances, infusion de lymphocytes du donneurs, administration de cellules souches mésenchymateuses (CSM)), une greffe de sauvetage semble être la solution offrant les meilleurs résultats (64). En cas de greffon autologue disponible, celui-ci peut être proposé. De moins bons résultats sont généralement observés avec les greffes de cordons dans cette indication par rapport aux greffes de donneurs non apparentés ou apparentés issues de CSP ou MO (65). Malgré le faible nombre de patients rapportés pour le moment, la réalisation d'une greffe haplo-identique en sauvetage, avec jusqu'à 75% de survie globale à 5 ans dans certaines séries, semble être une approche prometteuse (14,66). Plus d'études sont nécessaires afin de pouvoir trancher entre ces différentes options.

Une deuxième greffe s'accompagne quoi qu'il en soit d'une toxicité importante, avec des taux de mortalité non liée à la rechute allant de 63% jusqu'à 75% dans certaines séries rétrospectives analysant les greffes de sauvetage après une première greffe non apparentée (60,67). Là encore, cette mortalité passe à 12% en cas de seconde greffe pour maladie non maligne à conditionnement non myéloablatif (11). Le conditionnement d'intensité réduite, voire même l'absence de conditionnement, semble ainsi être préférable dans ces conditions, épargnant l'impact de la toxicité et la prolongation de l'aplasie du conditionnement myéloablatif (18,20,67).

II. ACTEURS IMMUNITAIRES DE LA NON PRISE DE GREFFE

Si le rôle des immunoglobulines dans le rejet de greffe en transplantation d'organe solide a bien été démontré, celui-ci est plus controversé dans l'ACSH où les mécanismes cellulaires sont décrits comme prédominant (68,69). Les LT sont ainsi considérés comme les acteurs majeurs du rejet de greffe de CSH, les données récentes soulignant cependant l'importance de la coopération avec les LB (70,71). La non prise de greffe allogénique de CSH étant multifactorielle, identifier les mécanismes impliqués au niveau cellulaire constitue le principal levier permettant d'élaborer des stratégies de dépistage et de prévention de cette complication.

1. Immunité cellulaire

a) Lymphocytes T $\alpha\beta$

Lymphocytes T CD8+

Les LT résiduels du receveur sont considérés comme les principaux médiateurs de la non prise de greffe (72). La cytotoxicité des LT CD8+ du receveur dirigés contre des molécules du CMH du greffon a été démontrée dès 1987 (73). Plus tard, l'observation de rejet même dans le cas de greffes HLA compatibles a mené à la l'identification d'antigènes mineurs d'histocompatibilité comme autres cibles des LT (74). Ces antigènes, non codés par le système HLA, possèdent un important polymorphisme et peuvent ainsi différer entre deux individus apparentés HLA identiques (75). Un exemple caractéristique est l'antigène H-Y, codé par le chromosome Y, spécifique de l'homme (76). Cet antigène, exprimé notamment par les progéniteurs hématopoïétiques, peut être reconnu et activer les LT allogéniques en cas de greffe provenant d'un donneur de sexe opposé (77). Ceci explique en partie le surrisque observé dans certaines études de non prise de greffe en cas de patiente recevant un greffon de donneur masculin avant la généralisation du SAL (21,48,49).

Les mécanismes immunologiques générant l'alloréactivité et le rejet du greffon par les LT CD8+ du receveur sont encore mal compris. Dans un modèle murin, l'inactivation de différents mécanismes de cytotoxicité (par relargage de perforine) ou d'induction de l'apoptose (par différents ligands tels que FasL, TRAIL, TWEAK et TL1A) ne permet pas d'inhiber le rejet du greffon par les LT CD8+ du receveur (78,79). Bien que ces résultats suggèrent le rôle de facteurs indépendants non cytotoxiques dans les mécanismes de rejet, il faut noter que les souris étaient pré-exposées à des antigènes mineurs d'histocompatibilité, avec une population LT CD8+ mémoire déjà présente

pour médier le rejet. Cette immunisation, souvent réalisée dans les essais précliniques reproduisant le modèle de non prise de greffe, ne reflète ainsi pas de façon fidèle la procédure d'ACSH humaine.

Parallèlement, le rôle favorisant la prise de greffe des LT CD8+ du donneur *via* leur effet cytotoxique (médié notamment par la perforine) et l'induction d'apoptose (par l'expression de FasL) sur les LT résiduels de l'hôte a également été démontré (80). Cet effet, contrebalancé par une augmentation du risque de GrHD, serait en partie indépendant du TCR (*T Cell Receptor*), comme cela a été montré à moindre échelle avec des LT dépourvus de TCR.

Lymphocytes T CD4+

Bien que les LT CD8+ soient au centre du mécanisme cellulaire de rejet, le rôle des LT CD4+ ne doit pas être négligé. Il a ainsi été montré que certains épitopes de la protéine H-Y pouvaient être présentés après ACSH par les molécules du CMH de type II aux LT CD4+ *helper* (LT_H), ces derniers favorisant la maturation des cellules dendritiques et l'expansion des LT CD8+ cytotoxiques (81). Certains LT CD4+ cytotoxiques peuvent également agir en l'absence de LT CD8+, reconnaissant et détruisant directement la cellule présentant le peptide cible *via* le CMH de type II (82).

Lymphocytes T régulateurs

Par leur fonction immunomodulatrice, les LT CD4+ CD25+ FoxP3+ régulateurs (LT_{reg}) jouent un rôle majeur dans le maintien de la tolérance du soi, notamment *via* la synthèse de cytokines immunsuppressives (telles que l'IL-10 et le TGFβ) ou la capacité d'inhiber la formation de progéniteurs hématopoïétiques myéloïdes (83). L'ablation des LT_{reg} du receveur par un anticorps anti-CD25 augmente le phénomène de rejet médié par les lymphocytes Natural Killer (NK) chez la souris (84). Cet effet, reproduit par le blocage spécifique de la synthèse de TGFβ, suggère un rôle suppresseur de cette cytokine sur la cytotoxicité des NK impliqués dans le rejet. Inversement, le transfert concomitant de LT_{reg} avec le greffon favorise la prise de greffe (85). D'une façon très intéressante, le potentiel immunsuppresseur des LT_{reg} dans ce contexte permet de diminuer le risque de GrHD sans altérer l'effet GrL, en diminuant notamment l'expression du récepteur à l'IL-2 sur les LT alloréactifs. Ces données bien décrites chez la souris ont par la suite été confirmées chez l'Homme (86).

Les LT_{reg} ont également un rôle dans la maintenance de la CSH. Fujisaki *et al.* ont montré dans un modèle murin analysé par des techniques d'imagerie *in vivo* que les LT_{reg} de la moelle étaient co-localisés avec les CSH dans la niche hématopoïétique (87). De plus, l'ablation des LT_{reg} ou le blocage de l'action de l'IL-10 entraîne une perte des CSH dans ce modèle, suggérant que les LT_{reg}

maintiendraient une zone de privilège immun au sein de la niche permettant la protection d'un « réservoir » de CSH.

b) Lymphocytes Natural Killer

La capacité des lymphocytes NK du receveur à rejeter des CSH allogéniques a été démontré sur des modèles de souris SCID (*Severe Combined ImmunoDeficiency*) (88). Ces souris, présentant un déficit de l'immunité adaptative (T et B), conservent en effet la capacité de rejeter des greffes de MO allogénique. Ce rejet médié par les lymphocytes NK est en outre indépendant de la reconnaissance préalable des cellules allogéniques par une immunoglobuline.

Contrairement aux LT $\alpha\beta$, l'activation des NK n'est ni spécifique d'un antigène, ni restreinte par le CMH (89). Les lymphocytes NK présentent à leur surface trois type de récepteurs : les récepteurs de Cytotoxicité Naturelle (NCR pour *Natural Cytotoxicity Receptors*), les récepteurs lectine de type C (CD94, NKG2D) et les récepteurs de la famille des KIR (pour *Killer Immunoglobulin-like receptors*). Si les NCRs sont tous activateurs, les deux autres types de récepteurs peuvent être activateurs ou inhibiteurs. Ainsi, l'activation ou l'inhibition des lymphocytes NK dépend de l'équilibre entre la stimulation de ces différents types de récepteurs, dépendante en grande partie de l'environnement. Les molécules du CMH de type I, exprimées par toutes les cellules du soi (excepté les hématies), sont reconnues par des récepteurs KIR inhibiteurs permettant la tolérance. A l'inverse, l'absence de reconnaissance de molécules du CMH de type I autologue entraîne la stimulation de récepteurs KIR activateurs, levant l'inhibition des lymphocytes NK et entraînant leur activation. Dans un contexte d'ACSH non HLA identique, cette reconnaissance des cellules étrangères du greffon par les lymphocytes NK du receveur peut ainsi mener au rejet, *via* une action cytotoxique ainsi qu'une induction de l'apoptose par la voie FasL (90,91).

Selon le même principe que pour les LT, les lymphocytes NK du donneur ont également un rôle dans la prise de greffe en facilitant l'élimination des cellules résiduelles du receveur. Cet effet est d'autant plus intéressant qu'il permet une action GrL sans majoration du risque de GrHD, expliquant le fort gain d'intérêt des greffes haplo-identiques dont l'action repose en majorité sur l'activité des NK (92). Outre la destruction des LT résiduels du receveur, l'infusion de lymphocytes NK alloréactifs permet effectivement de détruire les cellules présentatrices d'antigènes résiduelles impliquées dans la physiopathologie de la GrHD. Par ailleurs, il a été montré que les lymphocytes NK activés favorisent la croissance de colonies de CSH *in vitro* en l'absence de tout autre facteur de croissance hématopoïétique (93).

c) Lymphocytes T γ δ

De façon similaire aux lymphocytes NK, les LT γ δ ne sont pas restreints par le CMH et ne requièrent pas d'activation préalable par les cellules présentatrices d'antigènes (94). Cette sous-population de LT, appartenant à la classe de l'immunité innée, peut également répondre à divers stimuli de stress exprimés par des cellules infectées ou tumorales. L'absence d'alloréactivité associée à une activité anti-infectieuse et antitumorale d'installation rapide expliquent l'attention particulière portée aux LT γ δ dans le contexte de l'ACSH et de la thérapie cellulaire. Promouvant l'effet GrL sans majorer le risque de GrHD, un taux élevé de LT γ δ après ACSH est associé à une meilleure survie sans rechute et survie globale (95). La déplétion des greffons en LT α β au profit des lymphocytes NK et T γ δ est ainsi en plein développement, avec des résultats prometteurs dans la greffe haplo-identique (96). Plus spécifiquement, dans la non prise de greffe, Radestad *et al.* ont rapporté la faisabilité, l'efficacité et la bonne tolérance d'une infusion « booster » de CSH déplétée en LT α β (comportant donc une majorité de LT γ δ) chez cinq patients ayant présenté une non prise de greffe secondaire (97). Le rôle exact de ce sous-type de LT dans la prise du greffon reste toutefois encore peu étudié et nécessite plus d'études.

2. Immunité humorale

a) Immunoglobulines

Bien que le rôle exact des anticorps anti-HLA dans la non prise de greffe soit controversé, les différents mécanismes immunologiques régissant leur activité ont été bien décrits. Taylor *et al.* ont montré que des souris exposées à des antigènes HLA différents avant de recevoir une ACSH pouvaient rejeter le greffon en 3 heures par une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), contre 6 jours pour des souris non immunisées (98). Les cellules du receveur ayant un récepteur à la fraction constante Fc des immunoglobulines (FcR+), principalement les lymphocytes NK et les macrophages, sont les principaux médiateurs de l'effet cytotoxique dans cette situation. De façon notable, une sensibilisation contre un antigène HLA donné entraînait le rejet de greffon présentant d'autres antigènes HLA par un phénomène de réactivité croisée.

Outre les molécules HLA, d'autres antigènes peuvent être la cible d'anticorps après ACSH. La présence d'immunoglobulines dirigées contre les CSH ou les cellules endothéliales (anticorps anti-CD34+ et anti-VEGFR-2+) a été associée à la non prise de greffe chez l'Homme (99). Dans une cohorte de 43 patients ayant bénéficié d'une ACSH provenant de CSP ou de MO, Tazzari *et al.* rapportaient la présence d'anticorps de type IgM et IgG dirigés contre les PNN (anti CD16/Fc γ RIIIb) dans 69% des cas (100). Les patients séropositifs présentaient un chiffre plus bas de PNN jusqu'à 6 mois après la greffe sans que cela n'ait d'impact sur la prise de greffe. D'une

façon intéressante, ces anticorps étaient retrouvés chez tous les patients ayant bénéficié d'une greffe déplétée en LT et à un taux plus faible avec les greffes issues de CSP, généralement plus riches en LT. Ceci pourrait être lié au retrait concomitant des LT_{reg} lors de la lymphodéplétion, laissant librement proliférer des clones auto-réactifs. La question de la spécificité de ces anticorps se pose néanmoins, les PNN étant pourvus de plusieurs récepteurs pour la fraction Fc des immunoglobulines (CD16, CD32, CD64) pouvant se lier de façon aspécifique aux IgG.

Ces données soulignent l'importance potentielle des anticorps préexistants à la greffe dans les mécanismes de rejet. Tout comme les cellules les produisant, les anticorps présent au moment de l'ACSH ne sont pas détruits par le conditionnement (98). La persistance d'anticorps produits par les cellules de l'hôte a ainsi été décrite jusqu'à plus de 18 mois après ACSH (16). Leur rôle exact est cependant controversé, la présence d'anticorps étant fortement corrélée à la présence de LT CD8+ cytotoxiques spécifiques et aucune preuve démontrant la médiation directe du rejet par les anticorps n'existant à ce jour chez l'Homme (71). Beaucoup d'auteurs considèrent ainsi les anticorps comme un épiphénomène, témoin de la présence de médiateurs cellulaires du rejet (70).

b) Cas particulier du sérum anti-lymphocytaire

Parmi les différentes stratégies d'immunothérapie influençant la prise de greffe, il convient de souligner l'effet du SAL. Souvent allégué comme son principal mode d'action, l'effet sur les LT est loin d'être isolée. Il a ainsi été montré que le SAL exerce son action non seulement par : (i) déplétion des LT circulants et des zones lymphoïdes secondaires *via* une lyse dépendante du complément ; mais également par (ii) modulation de l'expression de molécules de surface impliquées dans l'adhérence et la migration des cellules immunitaires ; (iii) induction de l'apoptose des LB ; (iv) maintien des cellules dendritiques dans un état immature favorisant la tolérance tout en interférant avec les fonctions des cellules dendritiques matures ; et (v) induction de l'expansion des LT_{reg} (101,102). Ces différents effets, bien étudiés avec le sérum dérivé de lapin (Thymoglobuline®) ne sont cependant pas transposables avec toutes les formulations, comme l'ont rapporté Feng *et al.* en montrant que SAL dérivé de cheval provoquait au contraire une diminution du nombre de LT_{reg} (103).

3. Rôle des cellules souches mésenchymateuses

En 1987, Simmons *et al.* rapportaient dans *Nature* que les cellules du stroma médullaire ne sont pas détruites par le conditionnement et restent d'origine receveur après ACSH (104). Les nombreux effets immunomodulateurs des CSM découverts par la suite, associés à leur expression limitée des antigènes HLA de classe I (et l'absence d'expression d'antigènes HLA de classe II) en ont fait des candidats de choix pour supporter la procédure d'ACSH (105).

a) Support de l'hématopoïèse et réparation tissulaire

Les CSM tiennent une place importante dans l'homéostasie médullaire. La transplantation de CSM à des souris NOD-SCID (*Non Obese Diabetic - Severe Combined ImmunoDeficiency*), qui en plus du déficit de l'immunité adaptative cité plus haut présentent un déficit de l'immunité innée, permet la reconstitution en 4 à 10 semaines de l'ensemble des cellules du microenvironnement médullaire constituant la niche supportant l'hématopoïèse par la différenciation des CSM en cellules stromales, ostéocytes, ostéoblastes et cellules endothéliales (106). Les cellules stromales dérivées des CSM permettent le maintien de la CSH à un état quiescent et garantissent son auto-renouvellement.

Après ACSH, le microenvironnement médullaire est fortement altéré par l'irradiation, la chimiothérapie et l'impact de maladie hématologique. Par ces capacités de différenciation, les CSM peuvent ainsi promouvoir la reconstitution du stroma médullaire, tout en assurant le renouvellement et la différenciation de la CSH par la synthèse de différentes cytokines (notamment IL-6, SCF ou FLT3-L) (107). Les CSM peuvent également migrer dans les organes endommagés pour contribuer à la réparation tissulaire, comme cela a été décrit dans le thymus après ACSH, favorisant dans ce cas la reconstitution immunitaire (108).

b) Modulation de la réponse immunitaire

Les CSM peuvent moduler la réponse immunitaire de différentes manières (revues par Uccelli *et al.* (109)) : (i) en inhibant la fonction de présentation antigénique des cellules dendritiques (par inhibition de la maturation des progéniteurs myéloïdes et monocytes en cellules dendritiques immatures et diminution de l'expression du CMH II et des molécules de costimulation par les cellules dendritiques matures) ainsi que leur potentiel pro-inflammatoire (par inhibition de leur production de TNF et induction de la production d'IL-10 par les cellules dendritiques plasmacytoides) ; (ii) en inhibant l'activité cytotoxique des lymphocytes NK, par diminution de l'expression de récepteurs activateurs (NKp30 et NKG2D) ; (iii) en diminuant la capacité de *burst oxydatif* des PNN et en majorant leur durée de vie *via* la production d'IL-6 ; (iv) en favorisant l'engagement des LT vers la voie T_H2, majorant la synthèse d'IL-4 anti-inflammatoire, et en inhibant la prolifération des LT, favorisant leur survie dans un état quiescent par la production d'IDO (Indoleamine 2,3-Dioxygénase, médiant la dégradation du Tryptophane, acide aminé essentiel pour la prolifération des LT) ; (v) en induisant la prolifération des LT_{reg} ; (vi) en inhibant la prolifération et la différenciation des LB. Si beaucoup de ces effets passent par contact cellulaire direct, certains sont médiés par la production de facteurs immunomodulateurs tels que le TGFβ, l'IL-6, la prostaglandine E2 (PGE2) ou l'IDO.

c) Activité anti-infectieuse

Bien que possédant de nombreuses actions immuno-suppressives, les CSM ont également un rôle anti-infectieux. Ainsi, les CSM possèdent des récepteurs de type Toll (TLR pour *Toll-Like Receptors*) permettant d'inhiber leur activité immuno-suppressive et d'induire une réponse interféron (IFN) de type I en cas d'infection (109,110). L'activation du TLR-4 en réponse au lipopolysaccharide (LPS) permet également aux CSM d'induire la mobilisation rapide de cellules immunitaires effectrices, notamment par la différenciation et la migration des monocytes.

Les CSM peuvent également agir en tant que cellules présentatrices d'antigènes dans la phase très précoce de la réponse immunitaire, où les concentrations faibles d'IFN- γ majorent l'expression du CMH de type II à leur surface. L'augmentation d'IFN- γ survenant par la suite induit petit à petit leurs fonctions immuno-suppressives et régulatrices (111). Une action directe des CSM sur le pathogène a également été suggérée par plusieurs équipes ayant montré l'inhibition de la croissance de différents micro-organismes (bacilles à gram positif dont *Staphylococcus aureus*, à gram négatif dont *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que d'autres pathogènes notamment *Toxoplasma gondii* et le CMV) mis en culture avec des CSM (107,112). Ces effets pourraient notamment être médiés par une action compétitive sur les ressources du microenvironnement (110).

Plus qu'un rôle d'immunomodulation, les CSM auraient ainsi un véritable rôle d'immunosurveillance avec la capacité de détecter différents changements dans le microenvironnement, leur permettant d'engager une réponse pro- ou anti-inflammatoire en fonction du contexte. En fournissant un frein efficace à la réaction inflammatoire, les CSM permettent également de prévenir les dégâts tissulaires liés à une inflammation incontrôlée.

d) Applications cliniques pour la prise de greffe

Ces capacités de support de l'hématopoïèse, de modulation de la réponse immunitaire et de promotion de la réparation tissulaire font des CSM des acteurs clés pour le bon déroulement de l'ACSH. Différents protocoles de co-infusion de CSM avec le greffon dans l'optique de favoriser la prise de greffe ont ainsi été essayés. Si les résultats sont encore controversés concernant l'efficacité de la procédure, la co-infusion de CSM est très bien tolérée et montre des résultats encourageant, notamment dans les greffes haplo-identiques (113). D'autres équipes ont évalué l'intérêt de l'infusion de CSM avec ou sans unité de sang placentaire chez les patients présentant une dysfonction du greffon après ACHS, les deux stratégies semblant efficaces et permettant une meilleure récupération hématologique, particulièrement chez les patients en 1^{ère} rémission complète à l'ACSH par rapport aux patients lourdement prétraités (114,115).

La connaissance des différents acteurs de la prise (ou du rejet) de greffe de CSH, repris dans un schéma récapitulatif (Figure 1), devrait nous permettre de mieux cerner les différents effets par lesquels les agents infectieux peuvent interférer avec cette procédure.

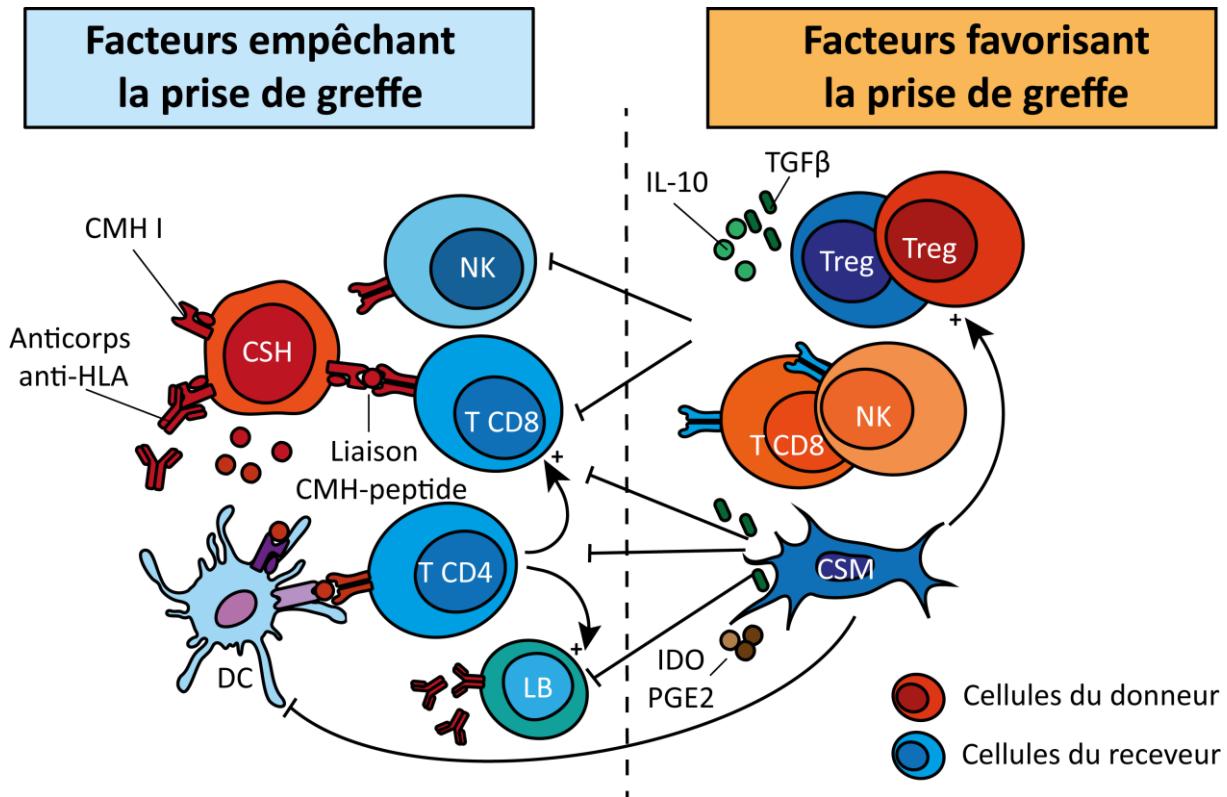


Figure 1 : Acteurs cellulaires influant la prise de greffe

Les lymphocytes T (LT) CD8+ du receveur reconnaissent les cellules souches hématopoïétiques (CSH) du donneur comme étrangères *via* la présence d'antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ou d'histocompatibilité mineurs différents. L'absence de CMH du soi est reconnu par les lymphocytes *Natural Killer* (NK). Les cellules présentatrices d'antigènes du receveur, principalement les cellules dendritiques (DC), stimulent les LT CD8+ et CD4+ par la présentation *via* le CMH I et II d'antigènes exprimés par la CSH du donneur. Les LT CD4+ stimulent la réponse CD8+ et la réponse B. Les lymphocytes B (LB) du receveur (puis les plasmocytes (P)) produisent des anticorps dirigés contre le système HLA ou d'autres antigènes présentés par la CSH.

Parmi les facteurs favorisant la prise de greffe, les LT régulateurs (LT_{reg}) aussi bien du receveur que du donneur exercent une action immunsuppressive sur les LT et NK du receveur via la synthèse d'IL-10 et de TGF β . Les LT CD8+ et NK du donneur permettent l'élimination des cellules immunitaires résiduelles du receveur. Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) du receveur possèdent, elles, différentes propriétés immunomodulatrices par contact cellulaire direct ou synthèse de facteurs anti-inflammatoires (IDO, PGE2, TGF β) permettant l'inhibition de la réponse T et B du receveur.

III. RELATIONS HOTE - PATHOGENES PENDANT LA PRISE DE GREFFE

Beaucoup d'auteurs introduisent leur article en citant les infections comme facteurs de risque bien établi de non prise de greffe (7,11,12,18,20). Une analyse plus approfondie de la littérature identifie finalement peu de données objectives, ce type d'événement étant souvent traité comme un critère secondaire intuitif et implicite, ne se basant sur aucune définition standardisée. Ainsi, à l'exception de quelques données sur les infections virales, aucune étude à ce jour n'a décrit de façon précise les événements infectieux en lien avec la non prise de greffe. Dans l'étude de Rondón *et al.* par exemple, 22% des décès après non prise de greffe sont reliés à une cause infectieuse, sans qu'il ne soit fait mention ni de critères diagnostiques rigoureux, ni de sévérité (10). Il est dès lors difficile de savoir comment interpréter une étude où la simple détection d'une réPLICATION virale peut être considérée comme une infection.

D'un point de vue évolutif, la CSH a dû s'adapter afin de pouvoir répondre aux besoins immunitaires inhérents à une agression d'origine infectieuse. Outre l'effet poussant la CSH à compenser les cytopénies induites, différents mécanismes peuvent interférer avec l'hématopoïèse durant un tel événement: infection directe de la CSH ou des progéniteurs par le micro-organisme en cause (principalement des virus), reconnaissance des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs pour *Pattern Associated Molecular Patterns*) par les TLRs présents à la surface de la CSH et des progéniteurs, modification du microenvironnement médullaire et de sa composition (cellulaire et cytokinique) par l'agent infectieux (116). Pour exemple, la stimulation du TLR-4 (récepteur principal du LPS) sur les progéniteurs hématopoïétiques entraîne leur différenciation vers la lignée myéloïde et favorise la différenciation des progéniteurs lymphoïdes en cellules dendritiques (117). En revanche, une stimulation prolongée de ce même TLR est délétère pour la CSH, altérant progressivement sa capacité à reconstituer l'hématopoïèse (118).

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe précédent, les cellules du stroma médullaire dont les CSM et les cellules endothéliales peuvent également détecter des ligands immunogènes d'origine infectieuse *via* leurs propres TLRs, induisant à leur tour la production de facteurs de croissance appropriés tels que le G-CSF (*granulocyte-colony stimulating factor*) ou MCP-1 (*monocyte chemotactic protein-1*) en cas de reconnaissance du LPS (119). Il est dès lors facilement concevable que la réponse immunologique à agent infectieux puisse diriger et moduler l'hématopoïèse.

1. Virus

Les infections virales sont probablement les seuls événements infectieux bénéficiant de données objectives dans leur lien potentiel avec la non prise de greffe. Plusieurs facteurs peuvent moduler l'hématopoïèse en cas d'infection virale. L'infection directe des CSH ou des progéniteurs entraîne la production de cytokines pro-inflammatoires, d'IFN de type 1 (IFN- α/β) par reconnaissance des PAMPs via les récepteurs PRR (*Pattern Recognition Receptors*), d'IFN de type 2 (IFN- γ) ainsi que la production d'IL-6 par les CSM (120). Si ces effets visent à stimuler la réponse antivirale en phase aiguë, il est maintenant bien démontré qu'une production soutenue et chronique d'IFN de type I induit un état immunosupresseur en stimulant la production de cytokines anti-inflammatoires (IL-10, TGF β), en inhibant la réponse T_H1 au profit de la formation de LT_{reg}, en provoquant l'épuisement des LT CD8+ et en inhibant la réponse B (121). Au niveau de la CSH, il a été démontré que la production aiguë d'IFN- α permet la mise en cycle de la CSH quiescente et sa prolifération, tandis qu'une production chronique inhibe le renouvellement de cette population, entraînant l'épuisement de la CSH (116,122). La virémie peut également participer à la destruction directe des cellules, comme cela peut être le cas avec les plaquettes, certains virus pouvant majorer leur clairance par la formation de complexes immuns ou par réactivité croisée avec des anticorps dirigés contre le virus (123).

a) Virus de l'Herpès Humain de type 6

Données cliniques

Du fait d'une réactivation rapide après ACSH, l'HHV-6 présente un intérêt particulier dans les complications précoces telle que la non prise de greffe. Drobyski *et al.* décrivaient en 1993 la présence d'HHV-6 dans le sang et la moelle de patients avec fièvre non documentée, dont certains présentaient une insuffisance médullaire inexpliquée après ACSH (124). Une lymphopénie a également été décrite chez les patients présentant une réactivation HHV-6, associée à l'inhibition de la réponse lymphocytaire T spécifique dirigée contre le virus (125). Un autre étude a rapporté une reconstitution lymphocytaire T CD8+ significativement plus lente à 6 mois post-ACSH en cas de réactivation HHV-6 (126). Plus tard, Chevalier *et al.* ont montré que la réactivation d'HHV-6 après ACSH était associée à une majoration du délai de prise de greffe (127). Il faut néanmoins prendre en compte le fait que ces réactivations surviennent surtout après greffe de cordon. Le Bourgeois *et al.* ont montré que la réactivation HHV-6 pendant l'aplasie après double greffe de sang de cordon était un facteur de risque indépendant de non prise de greffe (128). En décrivant les réactivations virales survenant après une perte de greffon, Lund *et al.* ont observé un plus grand nombre de réactivation HHV-6 parmi les non prises primaires neutropéniques par rapport aux non

neutropéniques, sans différence pour le CMV ou l'EBV (18). Aucun critère de sévérité n'était cependant associé, les réactivations HHV-6 étant par exemple considérées à partir du seuil de détectabilité. L'étude n'ayant pas été réalisée pour rechercher un facteur de risque infectieux, aucune comparaison avec des patients contrôles n'a été réalisée.

Mécanismes immuno-physiopathologiques

Si l'HHV-6 est retrouvé latent dans les monocytes et les progéniteurs médullaires CD34+, la cible principale de l'HHV-6 reste le LT CD4+, avec un effet cytopathique puis cytolytique (129). L'infection induit une polarisation T_H2 en supprimant la production d'IL-2 des LT (ainsi que celle d'IL-12 et d'IFN- γ des macrophages) au profit d'une production d'IL-10. L'HHV-6 promeut également la formation de LT_{reg} sécrétant de l'IL-10. Ces différents effets participent à l'inhibition de l'expression du TCR $\alpha\beta$ impliqué dans la réponse T antivirale. Cliniquement, l'infection à HHV-6 entraîne une lymphopénie associée à un déficit prolifératif des LT face à un antigène de rappel après ACSH (130). Inversement, la réduction du nombre de LT éduqués concrétisée par une perte de diversité du répertoire immunitaire contre les différents pathogènes explique le surrisque d'infection à HHV-6 observé dans les greffes issues de sang de cordon ombilical (127). Contrairement à l'HHV-6B qui est l'espèce quasi exclusive se réactivant après ACSH (127), le variant HHV-6A peut également infecter les LT CD8+, les LT $\gamma\delta$ ainsi que les lymphocytes NK, sous types cellulaires impliqués en grande partie dans la réponse antivirale.

L'effet cytopathique est moins bien décrit pour les cellules présentatrices d'antigènes, où l'HHV-6 semble latent. Le virus peut cependant induire de fortes perturbations dans la cellule dendritique et le macrophage, en supprimant notamment de la production d'IL-12, cytokine clé de la polarisation T_H1 impliquée dans la réponse antivirale. Dans les monocytes, l'HHV-6 induit la diminution d'expression de CD14, CD64 et HLA-DR, trois molécules de surface jouant un rôle important dans l'activation des cellules présentatrices d'antigènes (129).

Parallèlement à son action sur les LT, l'infection à HHV-6 inhibe la formation de précurseurs hématopoïétiques de différentes lignées, ainsi que la croissance des cellules médullaires stromales *in vitro* (124,131). L'HHV-6 module également l'expression du CD46 à la surface des cellules lymphoïdes. Cette protéine de surface, exprimée par toutes les cellules nucléées, joue un rôle essentiel en prévenant l'activation spontanée du complément face aux cellules autologues. La diminution d'expression du CD46 par HHV-6 entraîne ainsi une lyse médiée par le complément des cellules infectées dans le tissu lymphoïde.

Ainsi, ces différents mécanismes permettent non seulement à l'HHV-6 d'échapper au système immunitaire mais potentialisent également la pathogénicité d'autres virus. La réactivation

d'HHV-6 majore ainsi le risque de réactivation du CMV, et est associé à la maladie à CMV dans certaines greffes d'organe solide (132). L'inhibition des LT CD4+ provoquerait une diminution de la réponse LT CD8+ spécifique dirigée contre d'autres virus, dont le CMV. Ceci est d'autant plus marqué dans les greffons de cordons, caractérisées par un déficit quantitatif et qualitatif en cellules dendritiques plasmacytoides associé à une forte proportion de LT CD4+, cible préférentielle de l'HHV-6 (133). Il reste cependant difficile de savoir si la réactivation HHV-6 est la cause primaire de la suppression de l'immunité anti-CMV, ou simplement la conséquence d'un état d'immunosuppression latent.

b) Cytomégalovirus

Données cliniques

De nombreuses études ont documenté l'impact négatif de la réactivation CMV après ACSH sur la survie globale et la mortalité non liée à la rechute (134). Une augmentation de l'incidence de la GrHD est également observée chez les patients présentant une réactivation du CMV, avec en particulier une forte majoration du risque de GrHD chronique dans les organes ciblés par le virus en cas de maladie à CMV (135). L'effet du virus sur la rechute reste quant à lui controversé, certains auteurs ayant rapporté une diminution du risque de rechute chez les patients présentant une réactivation du CMV (136). Cet effet n'a cependant pas été retrouvé dans une des plus grandes analyses multicentriques réalisée à ce jour par Teira *et al.*, où aucun impact de la réactivation du CMV sur la rechute n'a été observé parmi 9 469 patients receveurs d'une ACSH de CSP ou MO entre 2003 et 2010 (134).

Si l'infection à CMV est associée à un risque majoré de rejet de greffe aiguë et chronique après transplantation d'organe solide, cela n'a jamais été démontré dans le cas de l'ACSH (137). Avec un délai médian de réactivation à 41 jours après ACSH, le CMV se réactive en général plus tardivement que l'HHV-6, diminuant l'intérêt qui a pu être porté à ce pathogène dans l'étude des facteurs de non prise de greffe (128,134). Plusieurs études fondamentales ont pourtant souligné le rôle potentiellement délétère que peut avoir le virus sur la prise de greffe et la reconstitution immunitaire.

Mécanismes immuno-physiopathologiques

Appartenant à la même sous-famille des *beta-herpesvirinae*, l'HHV-6 et le CMV possèdent des cibles communes telles que les monocytes et les progéniteurs médullaires (129,138). Après la primo-infection, le CMV persiste à l'état latent dans la lignée myéloïde, particulièrement dans les monocytes (139). Le virus peut également infecter aussi bien les CSH que les cellules du stroma médullaire.

Le CMV possède des capacités immunosuppressives importantes médiées par des mécanismes variés (revues par Freeman (139)) : (i) diminution de l'expression des antigènes HLA de classe I et II à la surface des LT et des cellules présentatrices d'antigènes ; (ii) production de protéines homologues au HLA de classe I, interférant avec la reconnaissance des cellules infectées par les NK et les LT ; (iii) inhibition directe de la prolifération des LT avec diminution de leur capacité de production et de réponses à certaines cytokines (IL-2, IFN- γ) et augmentation de l'expression de récepteurs inhibiteurs dont PD-1 à leur surface ; (iv) augmentation de l'expression à la surface des cellules infectées des récepteurs à la fraction Fc des immunoglobulines, prévenant la liaison des anticorps à d'autres protéines virales exprimées à la surface de la cellule et diminuant la lyse médiée par le complément ; (v) diminution du recrutement des cellules inflammatoires par synthèse de cytokines captant des chimiokines telles que MCP-1 et MIP-1 α . Ces différents effets peuvent expliquer le risque majoré d'infections bactériennes et fongiques chez les patients présentant une réactivation à CMV (135).

Parallèlement, le CMV possède la capacité d'entretenir une réponse inflammatoire durable, comme cela a été démontrée dans un modèle allogénique de greffe rénale (139,140). La reconnaissance des macrophages et cellules dendritiques par des LT activés entraîne une synthèse de TNF- α , induisant la division et la maturation des cellules myéloïdes. Cette maturation s'accompagne d'une réactivation des contingents de CMV latent, responsable d'une activation de la voie de NF- κ B entraînant à son tour la production de TNF- α , auto-entretenant la boucle inflammatoire. La corrélation entre TNF- α et CMV a été observée dans d'autres modèles et notamment dans le sepsis (139).

Tous ces effets illustrent ainsi les deux grands moyens de survie développés par le CMV pour persister : l'immunosuppression d'une part, permettant au CMV de survivre à l'état latent en échappant au système immunitaire de son hôte, et un effet pro-inflammatoire d'autre part, permettant au virus d'activer sa propre réplication dans un climat inflammatoire et d'assurer sa transmission par les excréta.

Dans le cas de l'ACSH, la réplication CMV entraîne une expansion des LT mémoires effecteurs spécifiques du virus (141). Cette expansion serait le moteur principal de la reconstitution immunitaire chez les patients présentant une réactivation CMV post-ASCH, comme attesté par l'inversion du ratio CD4+/CD8+ et l'augmentation de l'expression du CD57 sur les LT CD8+ observée chez les patients réactivant le CMV. Cependant, l'analyse par séquençage du TCR β révèle que cette expansion se fait au détriment de la diversité du répertoire global, caractérisée par une contraction importante du répertoire des LT CD8+ mémoires ainsi que de la population des LT

CD4+ et CD8+ naïfs, présentant alors de nombreux déficits. Par conséquent, la polyvalence et l'hétérogénéité de la réponse T est significativement diminuée. Parallèlement, le CMV entraîne une expansion de la population T $\gamma\delta$, véritable signature immunologique du CMV, cette population ayant la capacité de reconnaître les cellules leucémiques qu'elles soient infectées ou non par le CMV (142). Tous ces éléments pourraient expliquer le risque diminué de rechute retrouvé dans certaines études en cas de réactivation du CMV après ACSH, au profit d'un risque infectieux et d'une mortalité non liée à la rechute majorés.

c) Virus d'Epstein-Barr

Données cliniques

Selon les régions, jusqu'à 90% de la population générale est séropositive pour l'EBV (143). Bien que potentiellement responsable de tableaux de pancytopenies durant la primo-infection ou de complications lymphoprolifératives en cas d'immunosuppression associée, l'EBV n'a jamais été associé à un risque majoré de non prise de greffe après ACSH. Ceci pourrait s'expliquer par sa réactivation concomitante de la lymphopoïèse B, survenant 2 à 3 mois après greffe (144). Cependant, il est important de noter que la famille des *Herpesviridae* représentent 62% des étiologies virales de syndrome hémophagocyttaire (ou lymphohistiocytose hémophagocyttaire), 49% étant liés à l'EBV (145). La défaillance médullaire, dont nous discuterons la physiopathologie plus loin, peut entretenir des cytopénies profondes engageant le pronostic vital à court terme (146).

Mécanismes immuno-physiopathologiques

D'une sous-famille différente du CMV et de l'HHV-6 (*gamma-herpesvirinae*), le virus présente un tropisme différent, infectant principalement les lymphocytes B ainsi que les cellules épithéliales *via* ses protéines de fusion liant le CMH de type II et le CD21. Une fois le LB infecté, l'EBV produit différentes protéines interférant avec la fonction de présentation antigénique, diminuant l'expression du CMH de type II et l'expression des récepteurs activateurs des NK (143). Ces modifications permettent à l'EBV d'échapper au système immunitaire avant de rentrer dans une phase de latence dans les LB mémoires. A noter que l'infection des lymphocytes B par l'EBV augmente l'expression des récepteurs de surface favorisant l'infection par l'HHV-6 (129).

Si les LT parviennent à contrôler la prolifération des LB infectés chez le sujet immunocompétent, la situation est différente chez l'immunodéprimé et particulièrement dans les mois suivant l'ACSH où la réplication du virus peut entraîner une expansion incontrôlée de LB pouvant éventuellement mener à un syndrome lymphoprolifératif pos-transplantation dont le pronostic est péjoratif (147). L'EBV pourrait ainsi diriger en partie la reconstitution immunitaire B après ACSH. La réplication de l'EBV survient en général dans les 3 mois suivant la greffe, à une période où il existe encore un profond déficit dans le pool de LB mémoires CD27+ (principal

réservoir de l'EBV). Burns *et al.* ont ainsi montré qu'une forte charge virale EBV était associée à l'émergence plus précoces des LB mémoires CD27+, positifs pour l'EBV (148). Les patients ne répliquant pas ou faiblement l'EBV présentaient quant à eux une population constituée en majorité de LB naïfs durant les 6 à 12 premiers mois, négatifs pour l'EBV. La reconstitution de la population lymphoïde majoritaire n'était, elle, pas différente entre les groupes répliquant ou non l'EBV. D'une façon intéressante, la charge virale EBV était principalement liée à l'expansion des LB mémoires plus qu'à une réPLICATION du virus seul.

d) Autres virus

L'adénovirus est un des virus pouvant aussi bien se réactiver que s'acquérir *de novo* après ACSH. Sa réPLICATION se retrouve plus volontiers chez les enfants. Si les différents atteintes pulmonaires, gastro-intestinales et vésicales ont été bien décrites, son impact sur la prise de greffe est méconnu (149).

De nombreux autres virus tels que le BK virus (entrant une cystite hémorragique chez 5 à 15% des patients après ACSH), le virus de l'Herpès (HSV), le virus varicelle-zona (VZV), les virus pneumotropes (Influenza, Parainfluenza, Virus Respiratoire Syncitial, Metapneumovirus), le virus JC ou bien encore les virus hépatotropes (hépatites A, B et C) peuvent également poser des problèmes infectieux plus ou moins tardivement après l'ACSH (144). Là encore aucune relation avec la non prise de greffe n'a jamais été explorée, leurs réactivations ou transmissions étant pour la plupart plus tardive et pour certains beaucoup plus rares.

2. Bactéries et champignons

a) Bactéries

La neutropénie profonde caractérisant la période de prise de greffe est un facteur de risque majeur d'infection bactérienne chez les patients bénéficiant d'une ACSH. La sévérité est variable selon la situation et le(s) micro-organisme(s) impliqué(s), allant de la simple bactériémie asymptomatique (souvent dans le cadre d'une infection liée au cathéter à *Staphylococcus non aureus*, d'origine cutanée) jusqu'au choc septique (144). Dans une grande étude portant sur 291 179 greffes (autologues et allogéniques) réalisées entre 2000 et 2008 aux Etats-Unis, Kumar *et al.* rapportaient 13,2% (n=3 418) de sepsis sévères survenant pendant la période de prise de greffe parmi les 25 950 ACSH étudiées (150). Parmi ces patients, 24,5% présentaient au moins trois dysfonctions d'organe et la mortalité globale hospitalière était estimée à 55,1%. Une défaillance hématologique était signalée dans 22,5% des cas de sepsis sévères, sans précision toutefois sur la profondeur des cytopénies et leurs potentielles relations avec une perte de greffon. Le stress immunologique lié à la sévérité du sepsis pourrait constituer un obstacle important à la bonne prise du greffon.

b) Champignons

Parallèlement au risque bactérien, la neutropénie prolongée expose les patients allogreffés à un risque significatif d'infections fongiques invasives précoces. Par ordre de fréquence décroissante, les aspergilloses, les candidoses et les zygomycoses sont les infections fongiques prédominantes après ACSH (151). Cinquante-neuf pourcents des épisodes surviennent dans les 60 jours suivant la greffe, avec un risque particulièrement important d'infection à *Candida spp.* durant la période d'aplasie (144). Dans l'étude d'Olsson *et al.*, l'antécédent d'infection fongique avant ACSH n'était pas associé à la non prise de greffe (8). L'aplasie prolongée liée à la non prise de greffe étant souvent considérée comme cause de l'infection fongique invasive, aucune étude n'a jamais mis en avant ce type d'infection comme potentiel facteurs de risque. L'impact de la réaction immunologique liée à ces pathogènes pourrait cependant gêner la prise de greffe.

c) Relation directe avec la CSH

Kolb-Mäurer *et al.* ont montré que la CSH quiescente résiste à l'infection par différents germes intracellulaires (tels que *Listeria monocytogenes* et *Salmonella enterica*) et extracellulaires (tel que *Yersinia enterocolitica*) (152). De même, Baldrige *et al.* n'ont observé aucune bactérie viable dans les CSH de leur modèle murin d'infection à *Mycobacterium avium* (153). Cela peut être relié à l'expression discrète des différents récepteurs Fc (CD16, CD32, CD64) par la CSH d'une part, ainsi qu'à sa localisation au sein de la niche hématopoïétique, protégée dans un espace de privilège immun. Avec leur capacité d'inhiber la croissance de différents microorganismes (dont différents types bactériens à gram négatifs et positifs), les CSM participent également à la protection de la CSH (105). Ce n'est qu'après la différenciation des CSH en progéniteurs monocytaires exprimant le CD14 qu'un début d'internalisation bactérienne est observé, d'abord par macropinocytose puis également par phagocytose à des stades plus tardifs (marquée par le développement du récepteur Fc CD32) (152). La susceptibilité aux infections bactériennes des CSH et progéniteurs hématopoïétiques serait ainsi corrélée au développement progressif des mécanismes de phagocytose. L'infection précoce des progéniteurs par *Listeria monocytogenes* ou *Yersinia enterocolitica* accélère en outre leur maturation et influence leur différenciation en monocytes en induisant la synthèse de GM-CSF, d'IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 et de TNF- α (154).

d) Impact du Sepsis

D'une façon intéressante, les CSH recueillies auprès de souris après un sepsis à *Pseudomonas aeruginosa* ou une infection à *Mycobacterium avium* présentent un important déficit fonctionnel avec une capacité altérée de prise de greffe (153,155). Pendant la phase aiguë du sepsis, la forte consommation des PNN face à une infection bactérienne privilégie la différenciation de la CSH

vers la lignée myéloïde par un mécanisme indépendant des TLRs (156). Après une phase de forte stimulation immunitaire, la prolongation du sepsis entraîne progressivement un état immunosuppresseur en induisant notamment l'apoptose des LT CD4+ et CD8+ dans les tissus lymphoïdes (157). La phagocytose des corps apoptotiques dérivés de ces cellules immunes par les cellules présentatrices d'antigènes promeut un état de tolérance immunitaire en favorisant l'anergie et en promouvant un phénotype $T_{H}2$ des LT avec synthèse de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10. Le sepsis induit également une augmentation de la durée de vie des neutrophiles en retardant leur apoptose, ces derniers présentant alors des fonctions altérées avec un phénotype immunosuppresseur (157). Les cellules dendritiques sont elles aussi sujettes à l'apoptose au cours du sepsis, les cellules restantes présentant un phénotype immunosuppresseur sécrétant de l'IL-10. Les monocytes arborent également un phénotype anti-inflammatoire, diminuant leur synthèse de TNF- α , d'IL-1a, d'IL-6 et d'IL-12 au profit de l'IL-10 et de l'IL-1RA (antagoniste récepteur) et réduisant leur capacité de présentation par réduction de l'expression d'HLA-DR. Ces différents mécanismes induisent une réponse diminuée à différents PAMPS comme le LPS.

Cette « tolérance aux endotoxines » se traduit également dans la population des lymphocytes NK, devenant tolérants aux agonistes TLRs avec une diminution subséquente de leur production d'IFN- γ . Cette atteinte des NK entraîne une augmentation de la réactivation d'infections virales latentes. Au niveau des LT CD4+, une diminution globale des sous-types $T_{H}1$, $T_{H}2$ et $T_{H}17$ a été décrite. De façon similaire à ce que l'on observe dans les états inflammatoires prolongés liés aux infections virales ou au cancer, le sepsis non contrôlé entraîne l'épuisement des LT effecteurs, diminuant alors la synthèse de cytokines telles que l'IFN- γ et le TNF- α et diminuant l'expression du CD127 de surface. Cette diminution globale des LT effecteurs s'accompagne d'une augmentation de la population de LT_{reg}, résistante à l'apoptose induite par le sepsis notamment par surexpression de Bcl-2 (157).

Les patients mourant de sepsis présentent ainsi un état d'immunosuppression marqué avec une diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires, une majoration de l'expression de récepteurs inhibiteurs (tels que PD-1 et CTLA-4) associée à une diminution de récepteurs activateurs (tels que CD28 et CD86), une expansion des LT_{reg} et des cellules myéloïdes suppressives (158).

e) Rôle de l'IFN- γ

Parallèlement à son action sur les CSM, l'IFN- γ exerce une influence directe sur la CSH. Il a ainsi été démontré que la production d'IFN- γ inhibe l'érythropoïèse ainsi que la granulopoïèse au profit de la monopoïèse (159). L'IFN- γ inhibe également la différenciation des LB (160). D'une façon intéressante, ces effets se retrouvent également sur les cellules malignes, l'IFN- γ pouvant d'une part inhiber la formation de colonies issues de LAM, leucémie myéloïde chronique et myélome multiple, tout en induisant la différenciation des blastes dans la LAM (161). Les effets de l'IFN- γ sont en partie médiés par une inhibition de STAT5 via SOCS1, perturbant la voie de la thrombopoïétine.

L'IFN- γ peut également avoir une action immunosuppressive. La production d'IFN- γ dans certaines LAM peut contribuer à l'échappement immunitaire en induisant l'expression de PD-L1 et d'IDO par les blastes ainsi que l'expression d'IDO par les CSM (162,163). Par ailleurs, la mutation activatrice de FLT3 dans certaines LAM induit une activation directe de STAT-5, contrecarrant l'effet de la cytokine sur la voie de la thrombopoïétine.

Ainsi, l'IFN- γ peut avoir un effet à la fois pro et anti tumoral en fonction de la situation. Ceci est cohérent avec la fonction de l'IFN- γ , produite principalement lors de la réponse immunitaire aux pathogènes intracellulaires. La majoration de production des monocytes se fait alors au dépend de la lignée érythroïde ainsi que des neutrophiles et éosinophiles, impliqués dans la réponse aux pathogènes extracellulaires. Cet effet pourrait expliquer en partie la susceptibilité aux infections bactériennes chez les patients présentant une infection virale (164). La production soutenue d'IFN- γ serait en outre impliquée dans la pathogénie de certaines formes d'aplasie médullaire idiopathique. Le taux d'IFN γ est élevé dans le sang périphérique et la moelle osseuse de patients suivis pour aplasie médullaire idiopathique, et la présence de cette cytokine dans les lymphocytes de ces patients est un facteur prédictif de réponse au traitement immunosupresseur (165). En étudiant le profil transcriptomique de CSH et progéniteurs CD34+ exposés à l'IFN- γ *in vitro*, Zeng *et al.* ont observé une surexpression de gènes impliqués dans les voies de signalisations apoptotiques qui n'était pas retrouvée pour les cellules stromales (166). L'expression constitutive d'IFN- γ à un faible taux provoque un modèle d'aplasie médullaire spontanée chez la souris, en inhibant la prolifération des différents progéniteurs (commun, granulo-monocytaire et mégacaryocytaire/érythrocytaire), la différenciation de la CSH en progéniteur myéloïde commun ainsi que la différenciation de la lignée B (160).

3. Toxoplasmose

La toxoplasmose est une infection opportuniste rare après ACSH liée à *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), protozoaire eucaryote intracellulaire pouvant infecter toutes les cellules nucléées (167). Son incidence varie fortement selon les études, allant de 0% dans les greffes autologues jusqu'à 23% après ACSH chez les patients séropositifs (168). Ces données sont cependant probablement sous-estimées du fait de l'absence de stratégie diagnostique directe pendant longtemps, avec dans certaines séries un diagnostic post-mortem réalisé dans 53% des cas (169). Les atteintes du système nerveux central et les atteintes disséminées sont fréquentes, représentant 87% des cas de toxoplasmoses rapportés après ACSH, contre 10% pour les atteintes pulmonaires simples (168). La détection du parasite par PCR a constitué une avancée majeure pour la détection de *T. gondii*, permettant le diagnostic d'infections précoces (qu'elles soient primaires ou par réactivation) dans le premier mois suivant l'ACSH et permettant un monitoring de la charge parasitaire sanguine utile à la stratégie thérapeutique. Le traitement prophylactique par triméthoprime/sulfaméthoxazole (cotrimoxazole), bien que recommandé par certains groupes, est cependant difficilement généralisable du fait de la myélotoxicité de cette combinaison, problématique dans cette population.

Le lien entre toxoplasmose et non prise de greffe a été suggéré par la publication d'un cas pédiatrique allogreffié avec des CSH issues de cordons (170). Le patient avait présenté une perte de greffon secondaire tardive dans un contexte de toxoplasmose disséminée diagnostiquée en post-mortem. Une étude réalisée par le groupe HEMINF sur les facteurs de risques associés à la toxoplasmose après ACSH rapportait également deux cas de non prise de greffe sur 23 cas décrits (171). Bien que la myélotoxicité potentielle du traitement par triméthoprime/sulfaméthoxazole ainsi que l'infection potentiellement tardive (pouvant être la conséquence de la non prise de greffe) constituent de sérieux facteurs potentiels de confusion, cette association reste toutefois préoccupante et mérite des analyses plus approfondies.

Très peu d'études ont étudié la relation entre ce parasite et l'hématopoïèse. En analysant l'impact de *T. Gondii* sur des CSM humaines dérivées de cordon, Chu *et al.* ont récemment montré que le parasite est capable d'induire l'autophagie des CSM pendant la période précoce de l'infection, puis l'apoptose de ces mêmes cellules pendant la phase tardive via une diminution de l'expression de Mcl-1, protéine anti-apoptotique de la famille de Bcl-2 (172). Connaissant l'importance des CSM dans la maintenance de la CSH (173), l'altération du microenvironnement médullaire lors d'une toxoplasmose après ACSH est fortement suggérée.

4. Rôle du microbiote

a) Bactérien

Les avancées récentes dans la description de la composition du microbiote, permises notamment par le développement des technologies de séquençage haut débit et leur baisse de coût, ont permis d'étudier de façon bien plus précise le rôle de cet écosystème sur l'hématopoïèse et la réponse immunitaire. Sans rentrer dans des détails qui dépasseraient le cadre de cette revue, le biotope de flore commensale permet la métabolisation des fibres en acides gras volatils (comme le propionate), ces derniers pouvant influencer l'hématopoïèse en promouvant la maintenance de la CSH et amplifiant la lignée myéloïde (174). En revanche, une altération du microbiote entraîne une inflammation continue de bas grade induite par exposition aux LPS et PAMPs liée à la dominance de microbes pathogènes. Ces signaux stimulent la CSH et les progéniteurs via les TLRs (4, 7 et 9) entraînant en cas de stimulation prolongée une inhibition de l'hématopoïèse (175).

b) Viral

Le virome représente l'ensemble du répertoire viral contenu dans le corps en l'absence de situation pathogène particulière, regroupant tous les virus infectant les cellules de l'hôte, ceux persistant à l'état latent, les virus infectant les micro-organismes du microbiote (principalement des phages se répliquant dans les bactéries commensales) et également les éléments viraux endogènes (176). Il est actuellement estimé que jusqu'à 10^{15} bactériophages colonisent le corps humain, régulant notamment la fonction des différentes bactéries constitutives du microbiote.

En plus de l'intestin et du tractus respiratoire, des données métagénomiques récentes ont montré la présence d'un virome sanguin (176,177). Là encore, les nombreuses interactions que peuvent avoir ces différents virus avec le système immunitaire (revus par Cadwell (178)) pourraient moduler le dialogue immunologique entre l'hôte et le greffon.

5. Autres situations

a) Sepsis fébrile prolongé non documenté

Outre les mécanismes immunitaires déjà cités en lien avec le sepsis, cette situation pourrait se rapprocher sur le plan physiopathologique d'une forme de lymphohistiocytose hémophagocytaire secondaire. Ce type de syndrome, plus communément appelé syndrome d'activation macrophagique en français, est lié à une activation immunitaire non contrôlée face à un stimulus persistant, favorisée par un environnement immunosupresseur (146). Différents facteurs déclenchants ont été identifiés, au premier rang desquels figurent les agents infectieux et les hémopathies malignes. Les LT et NK activés dans ce contexte sécrètent de forts taux de

cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-6, le GM-CSF ou l'IFN- γ . Cette tempête cytokinique entraîne finalement une forte activation des macrophages médullaires, favorisant la phagocytose des cellules matures de la MO telles que les érythrocytes, les leucocytes et les plaquettes. Les précurseurs et les CSH sont également touchées, leur phagocytose étant favorisée par la diminution de l'expression du CD47 à leur surface (prévenant habituellement la phagocytose par interaction avec SIRPA) (179).

En l'absence de marqueur spécifique, le diagnostic de syndrome d'activation macrophagique peut être difficile et se fait généralement sur un faisceau d'arguments cliniques et biologiques. Dans une étude prospective menée sur 68 patients allogreffés, Abdelfeki *et al.* rapportaient la présence de tous les critères diagnostiques de syndrome d'activation macrophagique chez 8,8% des patients (n=6), dont 3 ne présentaient aucune documentation microbiologique (180).

b) Impact du statut sérologique

L'impact du statut sérologique n'est pas systématiquement analysé dans les publications s'intéressant aux non prises de greffe. Dans leur étude de 2013, Olsson *et al.* ne retrouvaient pas de lien entre le statut sérologique CMV et la non prise de greffe (7). Ni l'impact d'autres sérologies (notamment toxoplasmose et EBV) ni celui de la sérodiscordance n'était cependant analysé.

Dans la plus grande série publiée à ce jour analysant spécifiquement l'impact sérologique du CMV sur 49 542 patients ayant bénéficié d'une ACSH pour différentes hémopathies malignes ou non malignes, Ljungman *et al.* rapportaient une diminution de la survie globale pour les patients séronégatifs recevant un greffon de donneur non apparenté séropositif, sans différence observée en cas de greffe apparentée (181). De façon similaire, les patients séropositifs recevant un greffon de donneur séronégatif avaient une moins bonne survie globale en cas de conditionnement myéloablatif. La non prise de greffe n'était pas relevée. Cet impact négatif de la sérodiscordance pour le CMV documenté sur une large série confirme la nécessité de privilégier un donneur présentant le même profil que celui du patient en cas de greffe non apparentée.

Dans une autre grande étude portant sur 16 628 patients allogreffés pour une leucémie aiguë (myéloïde ou lymphoïde), Schmidt-Hieber *et al.* retrouvaient également une diminution de la survie globale et de la survie sans progression en cas de séropositivité du donneur et/ou du receveur, associée à une mortalité non liée à la rechute plus élevée (182). Ces résultats étaient particulièrement marqués dans le cas d'une greffe pour leucémie aiguë lymphoblastique. De façon intéressante, la séropositivité du donneur et/ou du receveur était également associée à une plus faible fréquence de chimérisme total donneur dans cette étude. Contrairement à l'étude de Ljungman *et al.*, le statut sérologique du donneur n'avait pas d'impact pronostique en cas de patient

séropositif pour le CMV. Bien qu'aucune différence n'ait été rapportée parmi les différents groupes étudiés en termes de prise de greffe, une diminution de l'incidence cumulée à 2 ans de la récupération du chiffre de PNN était observée dans le groupe séropositif pour le receveur et/ou le donneur.

Les différentes interactions pouvant survenir entre les CSHs de l'hôte et un pathogène au cours d'une infection sont résumées dans la figure 2.

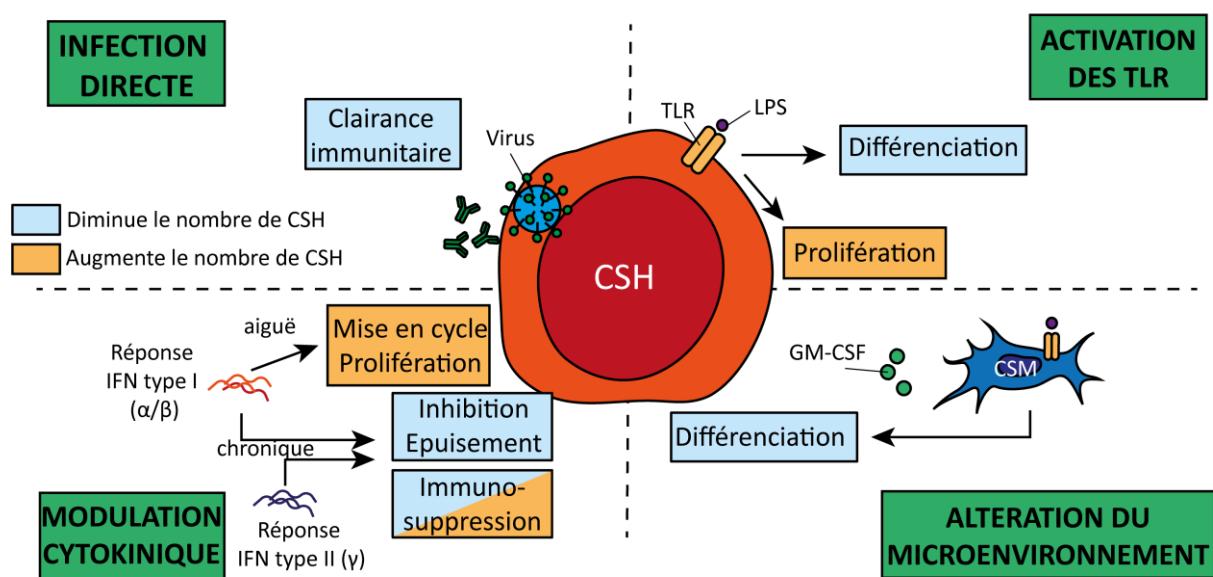


Figure 2 : Modulation de la cellule souche hématopoïétique au cours d'une infection

Outre l'effet poussant la cellule souche hématopoïétique (CSH) à compenser les cytopénies induites, l'hématopoïèse peut également être impactée de façon directe ou indirecte par différents mécanismes : **A.** Infection directe de la CSH ou des progéniteurs (principalement des virus) ; **B.** Reconnaissance des motifs moléculaires associés aux pathogènes par les récepteurs de type Toll (TLR) présents à la surface de la CSH et des progéniteurs ; **C.** Modification du microenvironnement médullaire et de sa composition (cellulaire et cytokinique) par l'agent infectieux ; **D.** Altération du microenvironnement

CSM : Cellule Souche Mésenchymateuse, IFN : Interféron, LPS : Lipopolysaccharide.

IV. CONCLUSIONS PRELIMINAIRES

Cette revue de la littérature nous aura permis d'appréhender les différents paramètres cliniques et acteurs immunologiques impliqués dans la prise ou le rejet du greffon. Si les différents micro-organismes (pathogènes ou non) cités peuvent impacter l'hématopoïèse et la réponse immunitaire de nombreuses manières, nous pouvons constater que très peu de données objectives existent concernant leurs relations avec la prise de greffe. D'un point de vue clinique, définir les infections pertinentes, c'est-à-dire suffisamment précoces et sévères pour pouvoir potentiellement perturber l'installation du greffon constitue la première difficulté dans l'étude de cette relation. Les données manquantes dans les bases de données internationales, de même que l'absence de définition standardisée en sont une seconde, parmi d'autres.

Quelles sont les infections pouvant potentiellement gêner la prise de greffe ? Existe-t-il un lien direct entre certains micro-organismes et le rejet du greffon ? Des stratégies préventives sont-elles envisageables pour prévenir cette problématique ? C'est en nous posant ces différentes questions que nous avons proposé cette première étude observationnelle sur les infections et les non prises de greffe, en choisissant un design cas-témoins pour s'affranchir des principaux facteurs de confusions.

ARTICLE

Clinical Infectious Diseases
A case-control study of early-onset severe infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients with graft failure
--Manuscript Draft—

Manuscript Number:	CID-91385
Full Title:	A case-control study of early-onset severe infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients with graft failure
Short Title:	Infections and graft failure after HSCT
Article Type:	Major Article
Corresponding Author:	Florence Ader, M.D., Ph.D. Hôpital de la Croix-Rousse Lyon, FRANCE
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Hôpital de la Croix-Rousse
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Vincent ALCAZER, M.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Vincent ALCAZER, M.D. Anne Conrad Florent Valour Emmanuel Bachy Gilles Salles Anne Huynh Régis Peffault de Latour Hélène Labussière-Wallet Florence Ader, Prof
Order of Authors Secondary Information:	
Manuscript Region of Origin:	FRANCE
Abstract:	<p>Background: Graft failure (GF) is a severe event after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), for which pre-engraftment infections have never been thoroughly documented.</p> <p>Methods: We conducted a retrospective, multicentric, matched case-control (1:2) study among adult allogeneic HSCT recipients with GF to investigate early-onset severe infections (ESIs) in such complication. Matching criteria were stem cell sources, underlying diseases, time to HSCT (5 years), age (10 years). ESIs were defined as lifethreatening infections occurring upon conditioning until day 42 after HSCT. Variables were analyzed using conditional logistic regression and Fine & Gray competing risk regression models.</p> <p>Results: Among 2094 HSCT (2008-2017), 49 GF cases were identified and matched with 98 controls. In univariate analysis, ESIs were strongly associated with GF (OR 11.04; 95%CI [3.86-31.61]; p<0.0001). Etiological causes were toxoplasmosis (OR 29.44), undocumented sepsis (OR 24.35), invasive fungal infections (OR 11.13), blood stream infections (OR 8.29), viral infections (OR 2.84) (p<0.05 for each). Cases were more likely to have a lower graft cellularity (p=0.04), gender mismatch (female->male)</p>

	<p>($p=0.009$) and cytomegalovirus (CMV) serodiscordance ($p<0.033$). In multivariate analysis, ESIs, low graft cellularity, CMV serodiscordance were independently associated with GF (OR 14.35; $p<0.0001$, OR 4.23; $p=0.024$; OR 2.83; $p=0.035$, respectively). Cumulative incidence of ESIs was significantly higher for cases vs. controls (75.5% vs. 26.5%; $p<0.0001$). Five-year overall survival was lower in cases (19.7% vs. 52.9%; $p<0.0001$) with a higher infection-related mortality. A better outcome was obtained with haplo-identical rescue transplantations.</p> <p>Conclusions: ESIs are strongly associated with GF and may participate in mechanisms impeding engraftment.</p>
Suggested Reviewers:	<p>Michaek Boeckh mboeckh@fredhutch.org Specialist of the virus-host interactions and infections in transplant recipients</p>
	<p>Richard Olsson richard.olsson@ki.se Bone marrow transplant and graft failure specialist. Has published major articles about graft failure in Leukemia and Bone Marrow Transplant.</p>
	<p>Roy Chemaly rfchemaly@mdanderson.org Specialist of infections in hematopoietic stem cell transplantation recipients</p>
	<p>Troy Lund lundx072@umn.edu Specialist of stem cell and bone marrow transplantation. Author of articles about graft failure.</p>
Opposed Reviewers:	

Prof. Florence Ader, MD, PhD
Département des Maladies infectieuses et tropicales
Hôpital de la Croix-Rousse
Lyon, France
☎: +33 (0)472 071 560;
📠: +33 (0)472 072 441;
✉: florence.ader@chu-lyon.fr

August 07th, 2018

Dear Editor,

I am pleased to submit an original article entitled “A matched case-control study of early-onset severe infections in the setting of graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation” for consideration for publication in Clinical Infectious Diseases.

In this study, we exhaustively analysed early-onset severe infections associated with graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation by matching cases with controls according to well described risk factors (underlying disease, stem cell source, HLA matching...) and defining severity criteria for each type of infection. Using multivariate conditional logistic regression and Fine & Gray competing risk regression models, we observed a strong association between major opportunistic infections (toxoplasmosis, blood stream infection, invasive fungal infection and viral infections) and graft failure, some of which have never been reported before. Interestingly, the median delay to first infection was very short in cases, inferior to the expected engraftment delay, suggesting a real impact of early severe infections on the engraftment.

Additionally, we observed a poor overall prognosis after graft failure, counterbalanced by a very good outcome in patients benefiting from a rescue graft with an haplo-identical donor versus those who had a rescue graft from an unrelated donor.

We believe that the originality of this manuscript is appropriate for publication by CID. If you feel that the manuscript is appropriate for your journal, we suggest the following reviewers: Michael Boeckh (mboeckh@fredhutch.org), Richard Olsson (richard.olsson@ki.se), Roy Chemaly (rfchemaly@mdanderson.org) and Troy Lund (lundx072@umn.edu).

This manuscript has not been published and is not under consideration for publication elsewhere. We warranty that all authors have seen and approved the manuscript and contributed significantly to the work. We confirm that there are no known conflicts of interest associated with this publication and there has been no significant financial support for this work that could have influenced its outcome. We will bear the cost of reproducing our color figures.

Thank you for your consideration

Sincerely,

Prof. Florence Ader, MD, PhD

ORIGINAL ARTICLE - TRANSPLANTATION

A case-control study of early-onset severe infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients with graft failure

Short title: Infections and graft failure after HSCT

Authors:

Vincent Alcazer^{(1)✉}, Anne Conrad^{(2)(3)✉}, Florent Valour^{(2)(3)✉}, Emmanuel Bachy^{(1)(5)✉}, Gilles Salles^{(1)(5)✉}, Anne Huynh⁽⁴⁾, Régis Peffault de Latour⁽⁶⁾⁽⁷⁾, Hélène Labussière-Wallet^{(1)✉}, Florence Ader^{(2)(3)✉}

Affiliations:

⁽¹⁾Département d'Hématologie clinique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁽²⁾Service des Maladies infectieuses et tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁽³⁾Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Inserm 1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, Ecole Normale Supérieure de Lyon, Univ Lyon, Lyon, France

⁽⁴⁾Service d'Hématologie clinique, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse Oncopole, Toulouse, France

⁽⁵⁾INSERM1052, CNRS 5286, Université Claude Bernard, Faculté de Médecine Lyon-Sud Charles Mérieux Lyon-1, Pierre Bénite, France

⁽⁶⁾Service d'Hématologie-greffe, Hôpital Saint-Louis, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

⁽⁷⁾Université Paris Diderot, Paris, France

#Corresponding author:

Florence Ader, MD PhD. Département des Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital de la Croix-Rousse, F-69004, Lyon, France. ☎: +33 (0)472 071 560; ☎: +33 (0)472 072 441; ☎: florence.ader@chu-lyon.fr

Alternate Corresponding author:

Vincent Alcazer, MD. Département d'Hématologie clinique, Centre Hospitalier Lyon Sud, F-69495, Pierre-Bénite, France. ☎: +33 (0)478 864 340; ☎: +33 (0)478 864 348; ☎: vincent.alcazer@gmail.com

^aLyon 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, J. Menotti, P. Miailhes, G. Monneret, F. Morfin-Sherpa, E. Paubelle, T. Perpoint, M. Rabodonirina, M. Renault, C. Roure-Sobas, G. Salles, X. Thomas, A.T Tovar Sanchez, S. Trouillet-Assant, F. Valour, F. Wallet, M. Wallon, E. Wattel.

Word count: text: 3030; abstract: 249

Tables: 3; Figures: 3, References: 37

Key points:

- Graft failure is a severe event after allogeneic HSCT associated with a poor prognosis
- Early-onset severe infections are strongly associated with graft failure after allogeneic HSCT

Keywords: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; Graft failure; Infections.

ABSTRACT

Background: Graft failure (GF) is a severe event after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), for which pre-engraftment infections have never been thoroughly documented.

Methods: We conducted a retrospective, multicentric, matched case-control (1:2) study among adult allogeneic HSCT recipients with GF to investigate early-onset severe infections (ESIs) in such complication. Matching criteria were stem cell sources, underlying diseases, time to HSCT (± 5 years), age (± 10 years). ESIs were defined as life-threatening infections occurring upon conditioning until day 42 after HSCT. Variables were analyzed using conditional logistic regression and Fine & Gray competing risk regression models.

Results: Among 2094 HSCT (2008-2017), 49 GF cases were identified and matched with 98 controls. In univariate analysis, ESIs were strongly associated with GF (OR 11.04; 95%CI [3.86-31.61]; $p<0.0001$). Etiological causes were toxoplasmosis (OR 29.44), undocumented sepsis (OR 24.35), invasive fungal infections (OR 11.13), blood stream infections (OR 8.29), viral infections (OR 2.84) ($p<0.05$ for each). Cases were more likely to have a lower graft cellularity ($p=0.04$), gender mismatch (female->male) ($p=0.009$) and cytomegalovirus (CMV) serodiscordance ($p<0.033$). In multivariate analysis, ESIs, low graft cellularity, CMV serodiscordance were independently associated with GF (OR 14.35; $p<0.0001$, OR 4.23; $p=0.024$; OR 2.83; $p=0.035$, respectively). Cumulative incidence of ESIs was significantly higher for cases *vs.* controls (75.5% *vs.* 26.5%; $p<0.0001$). Five-year overall survival was lower in cases (19.7% *vs.* 52.9%; $p<0.0001$) with a higher infection-related mortality. A better outcome was obtained with haplo-identical rescue transplants.

Conclusions: ESIs are strongly associated with GF and may participate in mechanisms impeding engraftment.

INTRODUCTION

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the only curative treatment for several malignant and non-malignant hematological diseases to date. A sustained engraftment of the donor stem cells is essential for transplant success and overall outcome. Graft failure (GF) is a rare but severe event after HSCT, exposing the recipient to a considerably increased mortality through disease relapse, drawbacks of marrow aplasia and infections.[1] Recent retrospective studies have estimated the overall incidence of GF around 5.5%, strongly influenced by the underlying disease and the graft type.[1,2] Stratified risk ranges from 2% up to 30% when addressing peripheral stem cell source in a malignant setting or alternative graft source for a non-malignant disease, respectively.[2–5]

Primary GF is defined as never having achieved engraftment with an absolute neutrophil count (ANC) ≤ 0.5 G/L or ≥ 0.5 G/L not exceeding three consecutive days without evidence of disease relapse. Secondary GF is the loss of a previously functioning graft associated with a loss of donor chimerism. Autologous recovery can occur after a reduced-intensity conditioning and is classified in secondary GF in certain studies[2], while considered as a primary non neutropenic GF in more recent approaches.[5,6] Poor graft function is a distinct entity, defined by the presence of two or three cytopenia, hypoplastic or aplastic bone marrow with a full donor chimerism.[6]

Different risk factors such as non-malignant underlying diseases, partial remission at transplant, HLA mismatch, use of a cord blood source and low graft cellularity have been found to be consistently associated with GF.[1,2,5,7,8] Other factors such as ABO mismatch and graft-*versus*-host disease (GVHD) prophylaxis are inconsistently associated.[1,2] Infections are often cited as circumstantial events in the setting of GF, accounting for 22% of GF in a retrospective study.[8] However, to the exception of human herpes virus 6 (HHV-6), whose pre-engraftment reactivation has been found predictive of GF in double cord blood HSCT[9], causes of GF are likely multifactorial, and the mechanism through which infections may participate is unknown. Nonetheless, no study has specifically documented early-onset severe infections (ESIs) associated

with GF. The purpose of the present study was to focus on the incidence, the chronology, the type and the outcome of ESIs occurring during the expected engraftment period in the setting of GF after allogeneic HSCT. Using a case-control design with matching criteria consisting in well-documented risk factors, the objective was to determine whether ESIs were associated with GF, and to subsequently test the hypothesis using multivariate and competing risk regression models.

METHODS

Study design and patients. We conducted a retrospective, observational, multicentric matched case-control (1:2) study among adult (≥ 18 -year-old) allogeneic HSCT recipients transplanted at the Hematology department of three French tertiary-care university hospitals (Paris, Saint-Louis; Lyon, Centre Hospitalier Lyon-Sud; Toulouse, Oncopole) between January 2008 and December 2017. Recipients diagnosed with GF were identified by cross-referencing the prospectively maintained databases of the Hematology departments and by additional chart reviews. GF recipients eligible for inclusion were those who matched the following criteria: *(i)* primary GF, defined by failure to achieve donor-derived ANC ≥ 0.5 G/L for more than three consecutive days by day 42 post-HSCT, including neutropenic GF with persisting aplasia and non-neutropenic GF with autologous recovery, without evidence of disease relapse; or *(ii)* early secondary GF, defined by the loss by day 42 post-HSCT of a previously functioning graft (donor-derived sustained ANC ≥ 0.5 G/L for more than three days) associated with loss of full donor chimerism without evidence of disease relapse. Each case was matched with two controls according to stem cell source, underlying hematological disease, temporal proximity of HSCT (± 5 years), age (± 10 years) and gender. Recipients who died before day 20 after HSCT were excluded from the study.

To perform analysis on selected variables, the following recipients' characteristics were collected: demographics; underlying disease; disease status at transplantation; previous transplantation; stem cell source (cord blood unit [CB], peripheral blood mobilized stem cells [PB], and bone marrow [BM]); graft cellularity (total nucleated cells, CD34+ and CD3+ when available); high-resolution

class I and II HLA typing (performed by PCR-SSP and PCR-SBT when necessary); female donor for male recipient; ABO mismatch (absence, minor, major or bidirectional); donor and recipient serostatus for cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr-Virus (EBV) and toxoplasmosis; conditioning regimen (myeloablative [MAC] or reduced intensity [RIC]);[10] GVHD prophylaxis (calcineurin inhibitors, mycophenolate mofetil, methotrexate, cyclophosphamide, anti-thymocyte globulin [ATG], corticosteroids); type of graft failure (primary neutropenic, autologous recovery and early secondary); second graft (with graft source, HLA matching and delay between grafts); grade of acute GVHD (aGVHD); overall mortality and attributable cause (relapse, infection, GVHD or others) and infection-attributable mortality. All the chimerism analysis were performed according to each center practice, usually around day 30 post-HSCT, by standard or RQ-PCR amplification based on single nucleotide polymorphism in whole peripheral blood (+/- on selected CD3+, CD33+ and CD19+ cells) and bone marrow (+/- on selected CD34+ and CD19+ cells). The Ethics Committees of each hospital approved the study. Because of the retrospective observational nature of the study and the lack of any modification in patients' management, the need for informed consent was waived.

Early-onset severe infection assessment. ESIs were defined as life-threatening fungal, viral, parasitic or bacterial infection occurring upon conditioning (day 7 before HSCT) until day 42 post-HSCT using the EBMT classification for infections, infectious agent-related reactivations and diseases. Full definition criteria are provided in supplemental data.[9,11–13]

Objectives. The primary objective of the study was to evaluate the association between ESIs and GF. Other risk factors such as cellularity and ABO mismatch were evaluated as potential contributors to GF. Secondary objectives were to determine cumulative incidence of ESIs over time (with death from any other cause as a competing risk) and infection-related mortality over time (with death from non-infectious origin as a competing risk) upon allogeneic HSCT. Finally, we determined probabilities of overall survival for cases and controls and subsets according to the presence of ESI.

Statistical analysis. Data were expressed as count (percentage) or median (interquartile range [IQR]). Descriptive data were compared using Mann–Whitney’s U test, χ^2 test or the Fisher’s exact test, where appropriate. Odds ratios (OR) and 95% confidence interval (CI) were calculated using conditional logistic regression. OR of variables for which a contingency of 0 was present in one group were calculated using Fisher’s exact test. Variables associated with a p -value <0.10 by univariate analysis were selected for multivariate analysis. Cumulative incidence and survivals were calculated using the Fine & Gray competing risk regression model. Competing events were death from all causes for the cumulative incidence of ESIs, and infection-free death for the cumulative survival rate of infection-related death. Overall survival was estimated using the Kaplan-Meier method and compared using the log-rank (Mantel-Cox) test. Analyses were based on two-sided p -values, with statistical significance defined by $p <0.05$ and conducted with XL stat 2018 (Addinsoft) and R software version 3.4.3.

RESULTS

Over the study period, 2094 allogeneic HSCT were performed in the three centers (Figure 1). Eighty-eight recipients were identified as potential GF cases according to each center database. Thirty-nine recipients were excluded (early death before 20 days ($n=21$) or relapse ($n=18$)). Forty-nine GF were ultimately selected, including 45 (91.8%) primary GF and 4 (8.2%) early secondary GF.

Description of cases showed that nearly 70% were male and the median age at HSCT was 50 years (IQR, 34-61) (Table 1). Roughly three quarter of underlying diseases were divided into acute myeloid leukemia (26.5%, $n=13$), myelodysplastic syndrome (26.5%, $n=13$) and myeloproliferative syndrome (22.4%, $n=11$). More than half of cases (56.3%, $n=27$) were in intermediate stage at HSCT. Cell sources were PB (40.8%, $n=20$), CB (34.7%, $n=17$) and BM (24.5%, $n=12$). Median delay to first ESI episode was 12 (IQR, 7-22) *versus* 19.5 (IQR, 8.8-26.8) days for cases and controls, respectively ($p=0.201$). Depending on graft source, the delay was shorter in cases than in controls

(CB, 9.5 [IQR, 7.3-17.3] *vs.* 14 [IQR, 10-20.3] days, PB 9.5 [IQR, 2.5-20.5] *vs.* 25 [IQR, 9.3-33] days, BM 20 [IQR, 13-25] *vs.* 29 [IQR, 19-32], respectively) without reaching statistical significance. The median follow-up was 34 (IQR, 14-49) and 46 (IQR, 33.5-74.3) months for cases and controls, respectively. Twenty-eight (57.1%) cases received a rescue HSCT at a median delay of 63 (IQR, 62-63), 70 (IQR, 59-82) and 75 (IQR, 57-97) days for haploidentical, CB, and matched or mismatched unrelated donors, respectively.

The univariate analysis showed significant differences between the recipients' subsets (Table 2). Briefly, male cases were more likely to have received graft from a female donor ($p=0.009$). As previously reported, a lower total nucleated cells was observed in cases in comparison with controls (OR 2.66; 95% CI [1.04-6.79]; $p=0.040$) when using a 2.5 cutoff (10^8 cells/kg for BM/PB, 10^7 cells/kg for CB).[1,2] Too many missing data did not allow analyzing the role of anti-HLA antibodies. When addressing factors related to serostatus, significantly higher frequency of CMV serodiscordance (both positive recipient (R) with negative donor (D) and R-/D+) was observed among cases (OR 2.17; 95% CI [1.06-4.42]; $p=0.033$) with a prominence of R+/D- (31.3%) *vs.* R-/D+ (18.8%). Regarding infections, ESIs were strongly associated with GF (OR 11.04; 95%CI [3.86-31.61]; $p<0.0001$). Cases cumulated significantly more ESIs than controls ($p<0.001$). ESIs subset analysis ranked GF association according to etiologic agent (by decreasing order): toxoplasmosis (OR 29.44; 95%CI [1.29-671.65]; $p=0.034$), prolonged undocumented sepsis (OR 24.35; 95%CI [1-592.07]; $p=0.050$), invasive fungal infection (IFI) (OR 11.13; 95%CI [2.49-49.72]; $p=0.002$), blood stream infections (BSI) (OR 8.29; 95%CI [1.78-38.69]; $p=0.007$) and viral infections (OR 2.84; 95%CI [1.28-6.27]; $p=0.010$). Among viral infections, the subset including BK virus, adenovirus and Influenza A infections was significantly associated with GF (OR 11.02; 95%CI [1.251-97.16]; $p=0.031$) and a trend toward an association of GF and EBV infection was observed ($p=0.068$). The median time to first ESI described here was 9.5 [2.5-20.5], 9.5 [7.3-17.3] and 20 [13-25] days for PB, CB and BM, respectively. The median time to ESI subsets was 8 [7-11], 8.5 [5-19] and 11.5 [7.75-22.75] days for BSI, IFI and viral infections respectively, whereas

undocumented sepsis and toxoplasmosis occurred later, at a median time of 20 ([8-25] and [10.5-28] respectively) days. In multivariate analysis, ESIs (OR 14.35; 95% CI [3.58-57.49]; $p<0.0001$), total nucleated cells ≤ 2.5 (OR 4.23; 95% CI [1.21-14.74]; $p=0.024$) and CMV serodiscordance (OR 2.83; 95%CI [1.08-7.41]; $p=0.035$) were independently associated with GF (Table 3).

The cumulative incidence of ESIs upon conditioning until day 42 post-HSCT was significantly higher for cases *vs.* controls (75.5% [64.4-88.6] *vs.* 26.5% [19.1-36.9]; Gray test: $p<0.0001$) (Figure 2A). When addressing infection-related mortality, the 5-year cumulative survival rate was higher in controls than in cases (75.2% [64.7-82.7] *vs.* 47.3% [27.2-61.9] respectively; Gray test: $p=0.002$) (Figure 2B). Estimated 5-year overall survival was significantly lower in cases (19.7%, 95% CI 5.2-34.2) than in controls (52.9%, 95% CI 42.4-63.4) (HR 2.475; 95% CI [1.48-4.137]; $p<0.0001$) (Figure 3A). When performing a subset analysis of GF cases with and without ESIs, overall survival was slightly different but without statistical significance ($p=0.306$) (Figure 3B). When performing a subset analysis of GF rescued by a second transplantation, a better outcome with haplo-identical HSCT was observed in comparison with unrelated donor and CB ($p=0.023$ and $p=0.0035$, respectively) (Figure 3C).

DISCUSSION

Results show that ESIs are strongly associated with GF in adult HSCT recipients. By matching the two groups on previously known GF-risk factors and by methodically inventorying ESIs, we were able to describe pathogens and clinical settings associated with GF.

Toxoplasmosis was the opportunistic infection the most strongly associated with GF, as previously suggested in a single-center study and confirmed here in a multicenter design.[14] The use of curative trimethoprim/sulfamethoxazole is a potential cofounder with regards to myelosuppressive effect. Nonetheless, the rather late 25-day median delay for initiation of treatment likely pleads for an intrinsic impact of *Toxoplasma gondii* on engraftment. Few studies have addressed the impact of parasites on hematopoiesis. A recent study has demonstrated the induction of apoptosis in human

umbilical cord mesenchymal stem cells by *T. gondii*.[15] Regarding the importance of these cells for hematopoietic stem cell maintenance,[16] a direct effect of *T. gondii* on BM microenvironment in the setting of GF is plausible.

A novelty is that bacterial BSI and IFI were associated as well with GF. So far, no direct link has ever been evidenced between GF and bacterial BSI or IFI. Innate and adaptive immune impact of sepsis could impair engraftment in different ways including induced immune cells apoptosis or T-cell exhaustion and shift to a T_H2 phenotype.[17] Interferon (IFN)- γ production can also impair hematopoietic stem cell self-renewal, erythropoiesis and neutrophil differentiation to the benefit of monopoiesis.[18]

Most studies related to GF consistently acknowledge the primordial role of viral infections in GF.[1,2,4,8,19,20] However, to the notable exception of HHV-6,[9] few studies have thoroughly investigated virus infections in the setting of GF. From a host-pathogen perspective, direct viral infection of the hematopoietic stem and progenitor cells can trigger the activation of pattern recognition receptor in these infected cells, leading to a type I IFN response and pro-inflammatory cytokine secretion, eventually leading to impaired BM microenvironment with inhibition of hematopoietic stem and progenitor cells renewal.[21] HHV-6 has been clinically linked to GF[9] and reported to impair hematopoiesis *in vitro* with a tropism for differentiated CD34+ cells.[22] CMV infection can profoundly impair the immune response, notably through immunosuppressive properties.[23] In a murine model, CMV infection after HSCT inhibited the engraftment by down regulation of stem cell factor (SCF) production by recipient's stromal cells, and subsequent diminution of hematopoietic stem and progenitor cells expressing SCF receptor.[24] In cases, although the most frequent ESIs were of viral origin, the odd of GF occurrence upon viral infections was the lowest among pathogenic agents. The relative high frequency of viral reactivations among HSCT recipients, together with monitoring of viral load guiding pre-emptive treatment options may explain this result.

Interestingly, we found that prolonged undocumented sepsis was also strongly linked to GF. This suggests that the inflammatory burst generated by undetected exogenous or endogenous stimuli could negatively impact engraftment. Among hypothesized pathophysiological mechanisms, an overlap condition assimilated to a secondary hemophagocytic syndrome is evoked, as infections and/or intra-medullar residual malignant cells, known to be potential inducers, may trigger such a process, together with the immune suppression of HSCT.[25,26] A prospective study has evaluated the incidence of hemophagocytic syndrome after HSCT. Among 68 HSCT recipients, 6 (8.8%) had all criteria for hemophagocytic syndrome, including 3 cases without any microbiological documentation[27]. Thus, monitoring biomarkers such as ferritinemia, triglyceridemia and fibrinogenemia and discussing bone marrow aspiration may be relevant in case of persistent febrile undocumented sepsis (≥ 5 days) despite appropriately escalated anti-infectious strategies.

The multivariate model confirmed ESIs as strong and independent factors associated with GF. In addition, a lower cellularity with a cutoff of total nucleated cells ≤ 2.5 was also associated with GF, as previously reported.[2] Interestingly, CMV serodiscordance remained independently associated with GF. This association deserves special consideration, as various studies have reported a negative impact of CMV seropositivity (either of the donor or the recipient) on overall survival, with higher risk in unrelated donor grafts.[28] Ljungman *et al.* have also reported a negative impact of CMV serodiscordance on overall survival, in case of unrelated donor (for R-/D+) or myeloablative conditioning (for R+/D-).[29] Consistently, Schmidt-Hieber *et al.* have reported a worse prognosis in case of CMV seropositivity of the donor and/or the recipient in 16,628 allogeneic HSCT transplanted for acute leukemia.[30] Although this study was not designed to analyze GF (and consequently register-based GF definitions could extend to early deaths and relapses), CMV serostatus had no impact on the 4% reported GF. However, R+ and/or D+ CMV serostatus was associated with a significantly reduced frequency of complete donor chimerism in both acute myeloid and lymphoblastic leukemias recipients, together with a decreased 2-year cumulative incidence of neutrophil engraftment in the lymphoblastic subset.

Whether ESIs are causes or consequences of GF is a matter of debate. We opted for studying ESIs occurring in the window of engraftment. The mean time to engraftment differs according to graft sources and is usually reported at 16 days for PB, 20 days for BM and 25 days for CB grafts, respectively.[31–33] Based on the temporality of ESIs reported in the present study, we should definitely consider ESIs as a cause of GF.

With an estimated 5-year overall survival of 19.7%, our results are consistent with the poor prognosis often reported after GF, with a 5-year overall survival estimated between 10-50%[8,34–36]. Although no definite consensus currently exists, a second rescue graft is considered the treatment of choice for primary GF and persisting aplasia, with a 5-year overall survival ranging from 11% to 50% in recent studies.[8,34–37] In our study, haplo-identical graft seemed to do better than unrelated or CB graft as salvage therapy. However, regarding the low number of patients studied, this result must be interpreted with caution and requires further confirmation.

Our study has strengths and limitations. The strength is the relatively large case cohort from three transplant centers and exhaustive data collection. Indeed, GF is often a secondary endpoint documented by disparate inclusion criteria such as relapse,[8] absence of distinction between GF and poor graft function,[6] heterogeneous diagnosis criteria and substantial missing data such as chimerism status.[2] Thus, rigorous inclusion criteria excluding out-of-chart data (early death and relapses) and the literature-based list of ESIs are strong points of the present study. We acknowledge the bias of interpretation in inferring ESIs as potential causes of GF. Timing of infections may have likely affected the graft outcome, either by directly participating in or resulting from GF. Although the choice of control recipients provided a relevant comparator group to evaluate odds ratio, some previously reported GF risk factors were not found, likely because of under-powering. In addition, we could not include ESIs subsets in the multivariable model due to lack of power. Finally, the retrospective design precluded the collection of all variables of interest (particularly HLA antibody data).

To conclude, the present study suggests that ESIs are strongly associated with GF. Different underlying immunological mechanisms are prone to impair BM microenvironment and hematopoietic stem and progenitor cells engraftment. Further studies should address associations between hematopoietic stem and progenitor cells and infectious agents, particularly the immunological mechanisms involved in GF graft failure or poor graft function. ESIs prevention and treatment must be promptly addressed during the critical window of engraftment after HSCT.

FUNDING

This work was not funded.

DISCLOSURE OF CONFLICTS OF INTEREST

The authors have no relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript. This includes employment, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, grants or patents received or pending, or royalties.

ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to thank Fabien Subtil for his help for the biostatistical analysis, Dr. Franck-Emmanuel Nicolini and Pr. Mauricette Michallet. The authors gratefully acknowledge Myriam Renault, Sylvie Lengay and Elodie Colonnese.

AUTORSHIP CONTRIBUTIONS

VA and AC contributed to conception and design of the study, acquisition of the data, interpretation of the data, drafted the manuscript and approved the final version; FV participated in the design of the study and performed statistical analysis, revision of the paper for important intellectual content, and approved the final version; RPL, AH, EB, GS, HLW contributed to

acquisition of the data, interpretation of the results, revision of the paper for important intellectual content, and all approved the final version; FA conceived and designed the study, participated in analyses and interpretation of the data, drafted the manuscript and approved the final version. All authors have read and approved the final manuscript.

REFERENCES

1. Olsson R, Remberger M, Schaffer M, et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* **2013**; 48:537–543.
2. Olsson RF, Logan BR, Chaudhury S, et al. Primary graft failure after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancies. *Leukemia* **2015**; 29:1754–1762.
3. Davies SM, Kollman C, Anasetti C, et al. Engraftment and survival after unrelated-donor bone marrow transplantation: a report from the national marrow donor program. *Blood* **2000**; 96:4096–4102.
4. Mattsson J, Ringdén O, Storb R. Graft Failure after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **2008**; 14:165–170.
5. Mallhi K, Orchard PJ, Miller WP, Cao Q, Tolar J, Lund TC. Non-myeloablative conditioning for second hematopoietic cell transplantation for graft failure in patients with non-malignant disorders: a prospective study and review of the literature. *Bone Marrow Transplant* **2017**; 52:726–732.
6. Masouridi-Levrat S, Simonetta F, Chalandon Y. Immunological Basis of Bone Marrow Failure after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front. Immunol.* **2016**;7:362.
7. Passweg JR, Zhang M-J, Rocha V, et al. Donor Characteristics Affecting Graft Failure, Graft-versus-Host Disease, and Survival after Unrelated Donor Transplantation with Reduced-Intensity Conditioning for Hematologic Malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* **2011**; 17:1869–1873.
8. Rondón G, Saliba RM, Khouri I, et al. Long-Term Follow-Up of Patients Who Experienced Graft Failure Postallogeneic Progenitor Cell Transplantation. Results of a Single Institution Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* **2008**; 14:859–866.
9. Le Bourgeois A, Labopin M, Guillaume T, et al. Human herpesvirus 6 reactivation before engraftment is strongly predictive of graft failure after double umbilical cord blood allogeneic stem cell transplantation in adults. *Exp Hematol* **2014**; 42:945–954.
10. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant* **2009**; 15:1628–1633.

11. Semenova T, Lupo J, Alain S, et al. Multicenter Evaluation of Whole-Blood Epstein-Barr Viral Load Standardization Using the WHO International Standard. *J Clin Microbiol* **2016**; 54:1746–1750.
12. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, et al. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* **2016**; 63:e1–e60.
13. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* **2008**; 46:1813–1821.
14. Conrad A, Le Maréchal M, Dupont D, et al. A matched case-control study of toxoplasmosis after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: still a devastating complication. *Clin Microbiol Infect* **2016**; 22:636–641.
15. Chu J-Q, Jing K-P, Gao X, et al. Toxoplasma gondii induces autophagy and apoptosis in human umbilical cord mesenchymal stem cells via downregulation of Mcl-1. *Cell Cycle* **2017**; 16:477–486.
16. Crane GM, Jeffery E, Morrison SJ. Adult haematopoietic stem cell niches. *Nat Rev Immunol* **2017**; 17:573–590.
17. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol* **2013**; 13:862–874.
18. Bruin AM de, Voermans C, Nolte MA. Impact of interferon- γ on hematopoiesis. *Blood* **2014**; 124:2479–2486.
19. Wolff SN. Second hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of graft failure, graft rejection or relapse after allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant* **2002**; 29:545–552.
20. Singh H, Nikiforow S, Li S, et al. Outcomes and management strategies for graft failure after umbilical cord blood transplantation: Graft Failure After UCBT. *Am J Hematol* **2014**; 89:1097–1101.
21. Pascutti MF, Erkelens MN, Nolte MA. Impact of Viral Infections on Hematopoiesis: From Beneficial to Detrimental Effects on Bone Marrow Output. *Front Immunol* **2016**; 7:364.
22. Isomura H, Yoshida M, Namba H, Yamada M. Interaction of human herpesvirus 6 with human CD34 positive cells. *J Med Virol* **2003**; 70:444–450.
23. Freeman RB. The 'Indirect' Effects of Cytomegalovirus Infection. *Am J Transplant* **2009**; 9:2453–2458.
24. Steffens HP, Podlech J, Kurz S, Angele P, Dreis D, Reddehase MJ. Cytomegalovirus inhibits the engraftment of donor bone marrow cells by downregulation of hemopoietin gene expression in recipient stroma. *J Virol* **1998**; 72:5006–5015.

25. Janka GE. Familial and acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Annu Rev Med* **2012**; 63:233–246.
26. Schram AM, Berliner N. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis in the adult patient. *Blood* **2015**; 125:2908–2914.
27. Abdelkefi A, Jamil WB, Torjman L, et al. Hemophagocytic syndrome after hematopoietic stem cell transplantation: a prospective observational study. *Int J Hematol* **2009**; 89:368–373.
28. Ljungman P. The role of cytomegalovirus serostatus on outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol* **2014**; 21:466–469.
29. Ljungman P, Brand R, Hoek J, et al. Donor Cytomegalovirus Status Influences the Outcome of Allogeneic Stem Cell Transplant: A Study by the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Clin Infect Dis* **2014**; 59:473–481.
30. Schmidt-Hieber M, Labopin M, Beelen D, et al. CMV serostatus still has an important prognostic impact in de novo acute leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation: a report from the Acute Leukemia Working Party of EBMT. *Blood* **2013**; 122:3359–3364.
31. Brunstein CG, Gutman JA, Weisdorf DJ, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy: relative risks and benefits of double umbilical cord blood. *Blood* **2010**; 116:4693–4699.
32. Ruggeri A, Labopin M, Sormani MP, et al. Engraftment kinetics and graft failure after single umbilical cord blood transplantation using a myeloablative conditioning regimen. *Haematologica* **2014**; 99:1509–1515.
33. Ringdén O, Remberger M, Runde V, et al. Faster engraftment of neutrophils and platelets with peripheral blood stem cells from unrelated donors: a comparison with marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* **2000**; 25:S6–S8.
34. Ferrà C, Sanz J, Díaz-Pérez M-A, et al. Outcome of graft failure after allogeneic stem cell transplant: study of 89 patients. *Leuk Lymphoma* **2015**; 56:656–662.
35. Schriber J, Agovi M-A, Ho V, et al. Second Unrelated Donor Hematopoietic Cell Transplantation for Primary Graft Failure. *Biol Blood Marrow Transplant* **2010**; 16:1099–1106.
36. Remberger M, Mattsson J, Olsson R, Ringdén O. Second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a treatment for graft failure. *Clin Transplant* **2011**; 25:E68–E76.
37. Locatelli F, Lucarelli B, Merli P. Current and future approaches to treat graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opin Pharmacother* **2014**; 15:23–36.

TABLES

Characteristics	Cases (n=49)	Controls (n=98)
Age at HSCT (years)	50 (34.0-61.0)	50.5 (41.0-56.0)
Sex (male)	34 (69.4)	64 (65.3)
Underlying disease		
Acute Myeloid Leukemia	13 (26.5)	22 (22.4)
Acute Lymphoblastic Leukemia	4 (8.2)	12 (12.2)
Myelodysplastic syndrome	13 (26.5)	27 (27.6)
Myeloproliferative Syndrome	11 (22.4)	21 (21.4)
Bone marrow failure Syndrome	2 (4.1)	4 (4.1)
Lymphoproliferative neoplasm	3 (6.1)	7 (7.1)
Multiple Myeloma	3 (6.1)	5 (5.1)
Disease stage at HSCT		
Early	20 (41.7)	51 (53.1)
Intermediate	27 (56.3)	43 (44.8)
Advanced	1 (2.7)	2 (2.1)
Number of transplants		
1	40 (81.6)	84 (85.7)
2	8 (16.3)	9 (9.2)
3	1 (2)	5 (5.2)
HLA Match		
Matched Unrelated Donor	12 (24.5)	32 (32.7)
Mismatched Unrelated Donor	13 (26.5)	18 (18.4)
Cord Blood	17 (34.7)	34 (34.7)
Haploididentical	1 (2)	2 (2)
Matched sibling	6 (12.2)	12 (12.2)
Mismatch DP	13 (29.5)	24 (27)
Stem cell source		
Bone Marrow (BM)	12 (24.5)	23 (23.5)
Peripheral Blood (PB)	20 (40.8)	41 (41.8)
Cord Blood (CB)	17 (34.7)	34 (34.7)
Conditioning regimen		
Myeloablative	15 (30)	31 (31.6)
Reduced intensity	34 (69.4)	67 (68.4)
Cellularity		
Total nucleated cells		
BM/PB (10 ⁸ cells/kg)	5.8 (2.3-10.0)	7.3 (3.2-9.5)
CB (10 ⁷ cells/kg)	2.2 (1.8-2.6)	2.6 (1.7-3.1)
CD34+ cells		
BM/PB (10 ⁶ cells/kg)	5.4 (3.4-7.4)	5.9 (3.0-7.4)
CB (10 ⁵ cells/kg)	1.5 (1.1-1.8)	1.7 (1.4-2.6)
CD3+ cells (10 ⁶ cells/kg)	43.4 (6.1-163.5)	36.7 (11.7-237.5)
ABO mismatch		
No mismatch	23 (48.9)	43 (45.3)
Major	10 (21.3)	27 (28.4)
Minor	9 (19.1)	17 (17.9)
Bidirectional	5 (10.6)	8 (8.4)
Follow up (months)	34 (24-49)	46 (33.5-74.3)

Table 1. Recipient's demographic and hematological characteristics

Data are n (%) for dichotomous variables or median (IQR, interquartile range) for continuous variables. Cases and control recipients were compared using the Mann–Whitney's U test, χ^2 test or Fisher's exact test, where appropriate. There were no significant differences in baseline characteristics between the two study groups (p -value range from 0.169 to 1.000).

Abbreviations: BM, bone marrow; CB, cord blood; GVHD, graft-versus-host disease; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; PB, peripheral blood mobilized stem cells.

Variable	Cases (n=49)	Controls (n=98)	OR	95% CI	p-value
Sex mismatch					
Female donor for male recipient	16 (33.3)	13 (14.4)	3.03	[1.27-7.27]	0.013 *
Male donor for female recipient	7 (14.9)	23 (25.0)	0.37	[0.13-1.10]	0.075
Cellularity					
TNC ≤ 2.5 ^a	20 (43.5)	25 (28.1)	2.66	[1.04-6.79]	0.040 *
CD34+ cells ≤ 3 ^b	21 (44.7)	41 (44.1)	1.07	[0.44-2.60]	0.880
ABO mismatch					
Major	10 (21.3)	27 (28.4)			
Minor	9 (19.1)	17 (17.9)			
Bidirectional	5 (10.6)	8 (8.4)			
GVHD prophylaxis					
Ciclosporin	47 (95.9)	94 (95.9)	1.00	[0.18-5.66]	1.000
Tacrolimus	1 (2.0)	3 (3.1)	0.66	[0.07-6.51]	0.722
Methotrexate	13 (26.5)	24 (24.5)	1.11	[0.51-2.44]	0.788
Mycophenolate mofetil	33 (67.3)	58 (59.2)	1.35	[0.70-2.59]	0.377
Cyclophosphamide	2 (4.1)	3 (3.1)	1.35	[0.22-8.34]	0.748
Corticosteroids	3 (6.1)	5 (5.1)	1.21	[0.28-5.30]	0.797
CMV serological status at HSCT					
R-D-	10 (20.8)	30 (31.6)	0.55	[0.24-1.25]	0.153
R-D+	9 (18.8)	11 (11.6)	1.81	[0.68-4.82]	0.236
R+D-	15 (31.3)	19 (20.0)	2.04	[0.87-4.81]	0.104
D+ and/or R+	39 (79.6)	65 (68.4)	2.00	[0.85-4.72]	0.114
Serodiscordance	24 (50.0)	30 (31.6)	2.44	[1.13-5.26]	0.024 *
Toxoplasma serological status at HSCT					
R-D-	13 (27.0)	26 (28.9)	0.86	[0.41-1.84]	0.703
R-D+	8 (16.7)	8 (8.9)	2.26	[0.77-6.66]	0.140
R+D-	14 (29.2)	29 (32.2)	0.83	[0.40-1.73]	0.623
Serodiscordance	22 (45.8)	37 (41.1)	1.16	[0.60-2.21]	0.659
Early severe infection (ESI)^c					
Number of ESIs					
1	24 (64.9)	22 (84.6)			
≥ 2	13 (35.1)	4 (15.3)			
Type of ESI					
Viral infections	20 (40.8)	20 (20.4)	2.84	[1.28-6.27]	0.010 **
CMV	8 (16.3)	9 (9.2)	1.95	[0.69-5.48]	0.209
EBV	7 (14.3)	5 (5.1)	3.18	[0.92-11.00]	0.068
HHV6	6 (12.2)	7 (7.1)	2.20	[0.58-8.36]	0.249
Other virus	5 (10.2)	1 (1)	11.02	[1.25-97.16]	0.031 *
2 or more viral infection	5 (25)	2 (10)	3.00	[0.58-15.47]	0.407
Toxoplasmosis	6 (12.2)	0 (0)	29.44	[1.29-671.60]	0.034 *
IFI	14 (28.6)	6 (6.1)	11.13	[2.49-49.72]	0.002 **
BSI	9 (18.4)	3 (3.1)	8.29	[1.78-38.69]	0.007 **
Undocumented sepsis	5 (10.2)	0 (0)	24.35	[1.00-592.07]	0.050 *

Table 2. Univariate analysis of potential factors associated with graft failure among case and control recipients

Data are n (%) for dichotomous variables or median (IQR) for continuous variables. Cases and control recipients were compared using conditional logistic regression. OR of variables for which a contingency of 0 was present in one group were calculated using Fisher's exact test.

^a Total nucleated cells, in 10⁸ cells/kg for bone marrow and peripheral blood, 10⁷ cells/kg for cord blood.

^b CD34⁺ cells, in 10⁶ cells/kg for bone marrow and peripheral blood, 10⁵ cells/kg for cord blood

^c Early-onset severe infections occurring upon conditioning (day-7) until day+42 after HSCT. Full definition criteria are provided in supplemental data, Table 1.

Abbreviations: BM, bone marrow; BSI, blood stream infections; CB, cord blood; CI, confidence interval; CMV, cytomegalovirus; D, donor; EBV, Epstein Barr virus; ESI, early-onset severe infection; GVHD, graft-versus-host disease; HHV-6, human herpes virus-6; IFI: Invasive Fungal Infection, PB, peripheral blood mobilized stem cells; R, recipient; TNC, total nucleated cells.

Variable	OR	95% CI	p-value	
ESI	14.35	[3.58-57.49]	<0.0001	****
Total nucleated cells ≤ 2.5 ^a	4.23	[1.21-14.74]	0.024	*
CMV serodiscordance	2.83	[1.08-7.41]	0.035	*
Female donor for male recipient	2.29	[0.65-8.09]	0.197	

Table 3. Multivariate analysis of factors associated with graft failure among cases and controls recipients

Risk factors were compared using a conditional multivariate logistic regression model.

^a Total nucleated cells, in 10⁸ cells/kg for bone marrow and peripheral blood, 10⁷ cells/kg for cord blood.

Abbreviations: CI, confidence interval; CMV, cytomegalovirus; ESI, early-onset severe infection; OR, odds ratio

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Flow chart of patients included in the study

Abbreviations: GF, graft failure; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation

Figure 2. Cumulative incidence and survival analyses.

Cumulative incidence and survival analysis were calculated using the Fine & Gray competing risk regression model.

A: cumulative incidence of ESIs over time upon conditioning (day -7) until day +42 after HSCT, with death from all causes as competing event.

B: cumulative survival rate of infection-related death from HSCT until 5 years post-HSCT, with death from non-infectious origin as competing event

Abbreviations: ESI, early-onset severe infection; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation.

Figure 3. Survival analyses

Overall survival (OS) probabilities were estimated by the Kaplan-Meier method and compared by the log-rank test.

A: OS of cases *versus* control recipients

B: OS of cases *versus* control recipients according to the presence of ESI

C: OS among recipients who underwent a second graft after GF

Abbreviations: ESI, early-onset severe infection; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation.

FIGURES

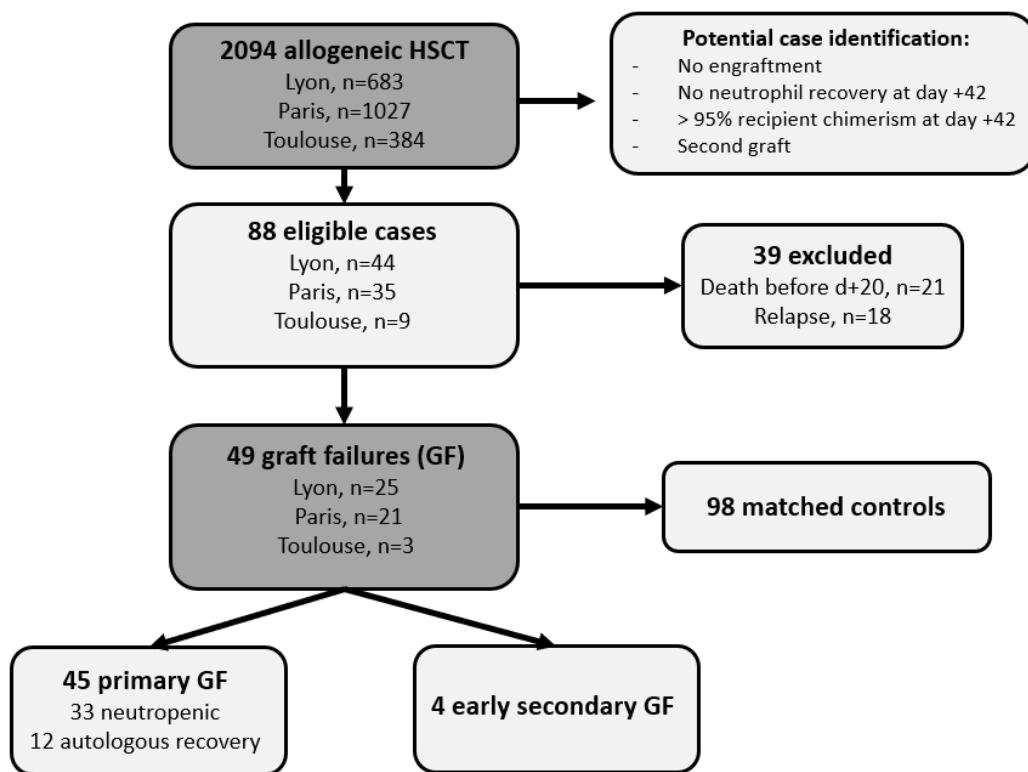


Figure 1 – Flow chart of patients included in the study

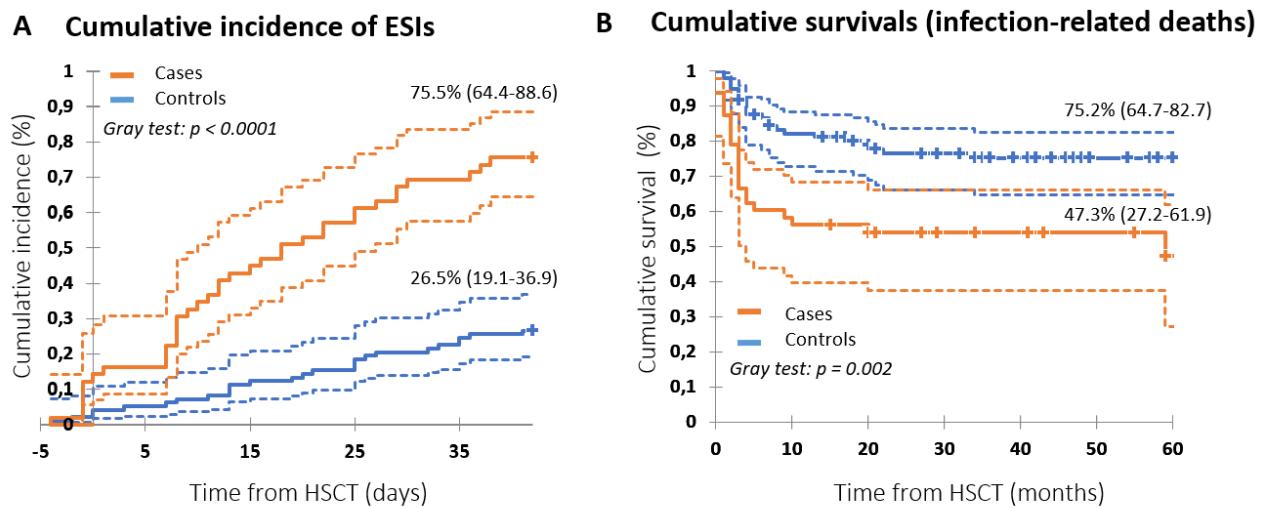


Figure 2 – Cumulative incidence and survival analysis

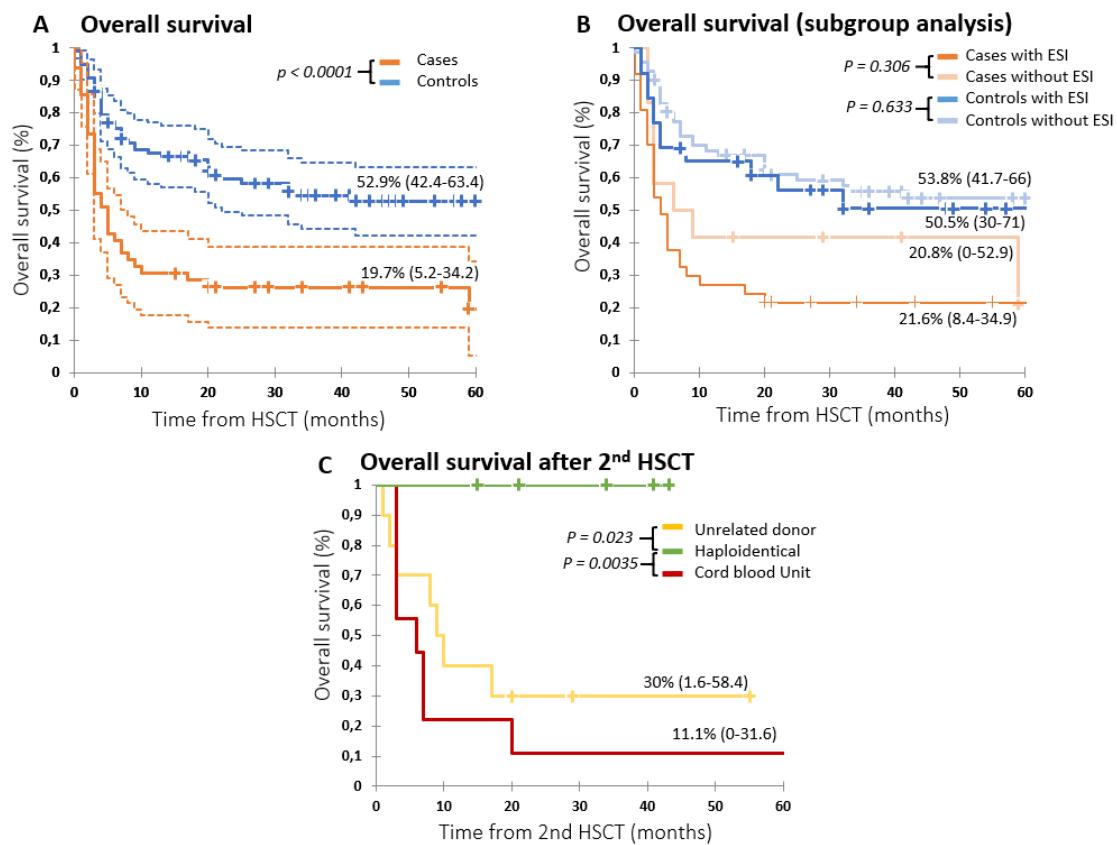


Figure 3 – Survival analysis

SUPPLEMENTAL DATA

Type of infection	Criteria of severe infection
Fungal	According to 2016 IDSA and 2008 EORTC/MSG criteria^{1,2}: All proven or probable invasive fungal disease. Possible Aspergillosis were retained if responsible of a prolonged > 5 days fever without other documentation
Viral Were excluded: directly treated low viral load (< 3 log ₁₀ copies/mL for CMV/HHV6, < 4 log ₁₀ UI/mL for EBV, evidence of BK virus in urine without symptoms nor BK viremia)	HHV6³: High initial viral load (>3 log ₁₀ copies/mL) or increasing viral load judged significant and treated EBV⁴: High initial viral load (>4 log ₁₀ copies/mL) or increasing viral load judged significant and treated CMV⁵: High initial viral load (>3 log ₁₀ copies/mL), rapid viral load doubling time (>1 log ₁₀ copies/mL in 3 days) or proven CMV disease BK virus⁶: Positive BK viremia Adenovirus⁷: High initial viral load (>3 log ₁₀ copies/mL if intermediate risk, > 2 log ₁₀ copies/mL if high risk), or increasing viral load judged significant and treated Influenza: Documented pneumonia

Bacterial Were excluded: BSI without organ dysfunction	Blood Stream Infection (BSI) with at least one organ dysfunction: According to 2016 SEPSIS 3 criteria⁸: Sepsis (qSOFA and SOFA ≥ 2) Septic shock According to 2001 International sepsis definitions conference⁹: Severe sepsis with at least one organ dysfunction Septic shock
Parasitic	Toxoplasmosis¹⁰: Infection (at least one blood sample positive tested by PCR for <i>T. Gondii</i>) or disease
Sepsis of unknown origin	≥ 5 days persistent fever ($\geq 38.5^\circ\text{C}$) under appropriate anti-infectious agents incrementation, without any documentation

Supplemental table 1. definition of severe infections

Viral DNA load was assessed by RQ-PCR as recommended, from whole blood samples, two times a week for CMV, once for EBV and HHV6 and only in high risk selected patients for adenovirus. Toxoplasmosis screening was performed only in high-risk grafts (recipient with a positive serology), according to each centre habit. BK virus infection was researched in patients presenting urinary symptoms by RQ-PCR in urine and blood. Influenza infection was documented by molecular assay (conventional RT-PCR or rapid molecular assay) in patients with acute febrile respiratory illnesses occurring during outbreaks and epidemics.

CMV: Cytomegalovirus, EBV: Epstein Barr Virus, HHV-6: Human HerpesVirus-6

REFERENCES:

1. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, et al. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2016;63(4):e1–e60.
2. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin. Infect. Dis.* 2008;46(12):1813–1821.
3. Le Bourgeois A, Labopin M, Guillaume T, et al. Human herpesvirus 6 reactivation before engraftment is strongly predictive of graft failure after double umbilical cord blood allogeneic stem cell transplantation in adults. *Exp. Hematol.* 2014;42(11):945–954.
4. Styczynski J, Velden W van der, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica.* 2016;101(7):803–811.
5. Emery V, Zuckerman M, Jackson G, et al. Management of cytomegalovirus infection in haemopoietic stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.* 2013;162(1):25–39.
6. Philippe M, Ranchon F, Gilis L, et al. Cidofovir in the Treatment of BK Virus–Associated Hemorrhagic Cystitis after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2016;22(4):723–730.
7. Lindemans CA, Leen AM, Boelens JJ. How I treat adenovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Blood.* 2010;116(25):5476–5485.
8. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801–810.
9. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med.* 2003;29(4):530–538.
10. Martino R, Maertens J, Bretagne S, et al. Toxoplasmosis after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 2000;31(5):1188–1194.

DISCUSSION

Nos résultats montrent une forte association entre les IPS et la non prise de greffe. Cette association est particulièrement marquée pour les toxoplasmoses, les infections fongiques invasives, le sepsis sévère et le sepsis prolongé non documenté. Déjà bien commentées dans l'article, nous ne reviendrons pas sur les principales limites de l'étude, forcément biaisée du fait de son caractère rétrospectif. Nous commenterons brièvement les résultats liés aux IPS, avant d'aborder les perspectives ouvertes par ces données.

I. RESULTATS DE L'ETUDE

1. Association IPS-non prise de greffe

Avec une incidence cumulée d'IPS à J+42 significativement plus élevée chez les cas par rapport aux témoins (75,5% vs. 26,5%), les IPS toutes causes confondues sont fortement associées à la non prise de greffe dans notre étude (OR 11,04). Ces résultats sont d'autant plus significatifs que nos groupes étaient appariés sur les critères connus de non prise de greffe, et que l'association se renforce (OR 14,35) dans le modèle multivarié incluant la cellularité et la sérodiscordance CMV. Le fait que les infections pourraient être aussi bien la cause des non prises de greffe que la conséquence de l'aplasie induite constitue un biais important à prendre en compte dans l'analyse de ces résultats. Cependant, la précocité observée de ces événements infectieux, particulièrement lors de l'analyse en sous-groupe par source cellulaire (médiane de 9,5 jours pour les greffons de CSP et cordons) ou par pathogène (médiane de 8 jours pour les sepsis sévères, 8,5 jours pour les infections fongiques et 11,5 jours pour les infections virales), survenant avant la date théorique de sortie d'aplasie moyenne, doit faire fortement considérer ces IPS comme potentiels facteurs favorisants la non prise de greffe.

a) Toxoplasmose

Avec six cas dans le groupe étudié contre zéro dans le groupe contrôle, les infections à *Toxoplasma gondii* ressortent très fortement associées à la non prise de greffe dans notre étude (OR 29,44). Ces résultats rejoignent les observations précédentes faites par le groupe HEMINF, rapportant deux cas de non prises de greffe sur 23 cas de toxoplasmose après ACSH (171). Le traitement curatif par triméthoprime/sulfamethoxazole (cotrimoxazole), avec sa myélotoxicité, pourrait être un potentiel facteur confondant dans ces résultats. Cependant, le délai médian tardif de début de traitement (25 jours) associé au fait que certains patients ont été traités par une

association moins myélotoxique (pyriméthamine et sulfadiazine) plaide en faveur d'un réel effet du parasite sur la bonne prise du greffon.

b) Infections bactériennes et fongiques

Pour la première fois, notre travail rapporte une association forte entre les infections fongiques invasives, les infections bactériennes et la non prise de greffe (OR 11,13 et OR 8,29 respectivement). Si les rapports directs entre les différents pathogènes fongiques/bactériens et la CSH sont moins évidents que pour les virus, la réaction immunitaire induite par ces micro-organismes (entrant notamment l'épuisement et l'apoptose des LT) ainsi que l'impact de l'IFN- γ sur l'hématopoïèse pourraient gêner la prise de greffe de nombreuses manières.

c) Sepsis prolongé non documenté

Cette catégorie visait à définir une situation clinique récurrente : celle d'un sepsis avec fièvre persistante sans aucune documentation malgré l'escalade antibiotique et antifongique. Les patients peuvent ainsi passer plusieurs jours (voir semaines) dans un état d'inflammation intense avec une fièvre dépassant les 40°C. Dans notre étude, une telle situation se retrouve fortement associée à la non prise de greffe malgré une p -value à la limite de la significativité statistique (OR 24,35 ; [1,00-592,07] ; $p=0,050$). La significativité clinique est cependant bien réelle, suggérant que le stress inflammatoire généré par un stimulus endogène ou exogène non contrôlé peut gêner la prise du greffon. Sur le plan immunologique, la situation se rapprocherait donc d'un syndrome d'activation macrophagique. La surveillance de marqueurs biologiques tels que la ferritine, les triglycérides ou le fibrinogène associée à la réalisation d'un bilan médullaire complet en cas de situation clinique évocatrice avec aplasie persistante et fièvre prolongée (≥ 5 jours) malgré une escalade anti-infectieuse adaptée pourrait ainsi se justifier.

d) Infections virales

Avec un OR à 2,84, les infections virales arrivent à la dernière place du classement des IPS les plus fortement associées à la non prise de greffe dans notre étude. Ceci est à contrebalancer par leur fréquence, représentant 40,8% des IPS chez les cas. Les stratégies de surveillance systématiques et de traitement préemptif tout comme la fréquence relative de ces infections (20,4% des témoins ayant également présenté une infection virale précoce) pourraient expliquer ce résultat.

De façon surprenante, les réactivations HHV-6 et CMV ne sont pas associées à la non prise de greffe dans notre étude ($p=0,249$ et $p=0,209$, respectivement). Ceci pourrait s'expliquer par un manque de puissance, 6 (12,2%) et 8 (16,3%) cas ayant présenté une réactivation contre 7 (7,1%) et 9 (9,2%) témoins. Les nombreux effets immunosupresseurs de l'HHV-6 et du CMV, décrits plus haut, auraient de nombreuses raisons d'influer la prise de greffe. La relative fréquence de ces

réactivations virales rend l'analyse difficile sur des effectifs réduits. Sur une plus grande population, une analyse en sous-groupe sur les greffes de cordons aurait également pu être intéressante pour chercher à mettre en évidence une éventuelle association entre l'HHV-6 et la non prise de greffe.

A la lumière des éléments avancés dans la discussion, la présence d'une tendance vers l'association entre la réPLICATION EBV et la non prise de greffe en analyse univariée ($p=0,068$) peut paraître étonnante. La réPLICATION précoce de l'EBV avant J42 pourrait toutefois être le témoin d'un état d'immunosuppression enclin à la non prise de greffe. Un monitoring de l'activité des LB dans ce contexte pourrait être intéressant. Par ailleurs, les LT spécifiques du virus pourraient également inhiber la CSH, comme cela a été suggéré après des cas de mononucléose infectieuse compliquées d'aplasie médullaire chez le sujet immunocompétent (183).

Du fait des effectifs réduits, les autres infections virales ont été regroupées en un seul et même groupe dans notre étude. Ce sous-groupe, réunissant les infections à BK virus ($n=4$), à adénovirus ($n=1$) et à *Influenza* ($n=1$) est fortement associé à la non prise de greffe (OR 11,02). Ces infections étant plus rares dans la période précoce (particulièrement dans le cas du virus *Influenza*, dont la transmission est censée être prévenue par l'isolement protecteur), leur diagnostic, moins standardisé, peut également être plus tardif. Ce délai pourrait ainsi potentiellement laisser assez de temps à l'infection pour instaurer une pression immunitaire suffisante pour gêner la bonne prise du greffon.

2. Rôle de la sérodiscordance

Les différentes actions immunosuppressives et sur la reconstitution immunitaire du CMV pourraient expliquer l'association entre la sérodiscordance CMV et la non prise de greffe observée dans notre étude. Ces données rejoignent les résultats rapportés par Ljungman *et al.* (diminution de la survie globale pour les patients séronégatifs recevant un greffon de donneur non apparenté séropositif ainsi que pour les patients séropositifs recevant un greffon de donneur séronégatif en cas de conditionnement myéloablatif) (76). On pourrait ainsi imaginer qu'en cas de receveur séronégatif, la transmission du CMV par le greffon pourrait promouvoir une réaction inflammatoire épuisant la moelle tout en dirigeant la reconstitution immunitaire anti-CMV au dépend du reste du répertoire lymphocytaire T. Inversement, en cas de receveur séropositif, les LT du donneur séronégatif pourraient être vite supprimés ou du moins monopolisés par le CMV au dépend de leur action promouvant la prise de greffe. Là encore, le manque de puissance associé à l'approche préemptive de traitement participant probablement à l'absence d'association entre la réactivation CMV et la non prise de greffe dans notre étude. Ces résultats pourraient également

signifier que le virus n'a pas besoin d'être à un seuil détectable dans le sang pour médier ses effets favorisant le rejet.

3. Survie après non prise de greffe

Nos résultats confirment la faible survie globale à 5 ans après perte du greffon (19,7% [5,2-34,2]). Comme nous l'avons vu, ces chiffres varient fortement entre les différents sous-groupes, avec une mortalité plus élevée chez les patients ne bénéficiant pas de seconde greffe. Parmi les patients bénéficiant d'une greffe de sauvetage, les patients ayant reçu une greffe haplo-identique présentaient une survie globale à 3 ans nettement meilleure que ceux ayant bénéficié d'une greffe de donneur non apparenté ou de sang de cordon (100% *vs.* 30% et 11,1%, respectivement). Une disponibilité plus rapide du greffon associée à la reconstitution immunitaire permise par le greffon haplo-identique (notamment en termes d'immunité innée, lymphocytes NK et T $\gamma\delta$) pourraient permettre une meilleure prise du greffon dans un environnement qui lui était hostile jusqu'alors. Il pourrait être intéressant d'étudier le conditionnement et le protocole immunosupresseur réalisés dans ce contexte. Ces résultats doivent toutefois être interprétés avec précaution du fait des effectifs réduits étudiés (n=5 pour les greffes haplo-identiques, n=10 pour les autres groupes).

II. PERSPECTIVES

Des interactions complexes entre l'hôte, le greffon et les écosystèmes microbiens (qu'il s'agisse du microbiome symbiotique ou de micro-organismes opportunistes pathogènes) sont induites *de facto* par la procédure d'ACSH. Si un intérêt particulier est porté à l'étude des interactions entre l'hôte et le greffon (interface entre deux répertoires immunitaires dissemblables), l'impact des agents infectieux est quant à lui moins bien décrit.

L'article présenté dans cette thèse est le préambule à un projet d'étude des syndromes d'insuffisance médullaire après ACSH. Le rationnel ayant été développé tout au long de ce travail, la section suivante exposera une proposition de projet d'étude prospective translationnelle visant à analyser conjointement les facteurs immunologiques et infectieux susceptibles d'interférer avec la greffe. Une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans les syndromes d'insuffisance médullaire après ACSH permettrait une optimisation de la prise en charge des patients et du pronostic de l'ACSH.

1. Hypothèse de travail et objectif de l'étude

Notre hypothèse de travail est que l'activation des cellules immunitaires (notamment des lymphocytes T) impliquées dans la physiopathologie des syndromes d'insuffisance médullaire n'est pas le seul fait de l'alloréactivité, mais que les écosystèmes microbiens participent au développement des cytopénies. L'objectif principal sera donc de déterminer les facteurs immunitaires et microbiens associés aux syndromes d'insuffisance médullaire. Cet objectif sera atteint au moyen du développement d'outils permettant la caractérisation de l'environnement immunitaire et microbien du greffon afin de déterminer des états ou profils associés aux syndromes d'insuffisance médullaire.

2. Patients et méthodes

a) Définitions et critères d'inclusion des receveurs d'ACSH

Tout patient adulte (≥ 18 ans) présentant une hémopathie maligne avec première indication d'ACSH sera éligible. Les insuffisances médullaires après ACSH incluront les non prises de greffe et les dysfonctions du greffon selon les critères précédemment décrits dans le tableau 1 (copié ci-après). Les patients avec une bonne récupération médullaire constitueront la population contrôle.

DEFINITIONS DES SYNDROMES D'INSUFFISANCE MEDULLAIRE APRES ACSH

Non prise de greffe (graft failure)

- **Primaire neutropénique :**
 - Absence de sortie d'aplasie (PNN \leq 0,5 G/L) avant J+42 post-ACSH
 - Chimérisme mixte ou \geq 95% receveur
- **Primaire non neutropénique :**
 - Sortie d'aplasie (PNN \geq 0,5 G/L) avant J+42 post-ACSH
 - Chimérisme \geq 95% receveur (= Reconstitution autologue)
- **Secondaire précoce :**
 - Sortie d'aplasie pendant au moins 3 jours consécutifs (PNN \geq 0,5 G/L) avant retour en aplasie avant J+42 post-ACSH
 - Perte du chimérisme du donneur (chimérisme mixte ou \geq 95% receveur)
- **Secondaire tardive :**
 - Sortie d'aplasie pendant au moins 3 jours consécutifs (PNN \geq 0,5 G/L) avant retour en aplasie après J+42 post-ACSH
 - Perte du chimérisme du donneur (chimérisme mixte ou \geq 95% receveur)

Dysfonction du greffon (Poor graft function)

- Chimérisme total donneur (\geq 95% donneur)
- Présence d'une ou plusieurs cytopénies persistantes après J+42 post-ACSH :
 - PNN \leq 0,5 G/L
 - Plaquettes \leq 20 G/L
 - Hémoglobine \leq 70 g/L
- Moelle hypoplasique
- Absence de GrHD

Critères d'exclusion

- Rechute précoce de la maladie (avant J+42) et/ou décès survenant précocement après l'ACSH.

Tableau 1 : Définitions des syndromes d'insuffisance médullaire (Bone Marrow Failure Syndromes) après ACSH

ACSH : *Allogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques*, GrHD : *Graft-versus-Host Disease (maladie du greffon contre l'hôte)*, PNN : *Polynucléaires neutrophiles*

b) Workflow de l'étude

Une étude pilote « preuve de concept » sera d'abord menée en monocentrique au centre hospitalier Lyon Sud. L'analyse de la faisabilité du protocole pilote et des résultats préliminaires permettra d'affiner le design de l'étude afin de proposer une étude multicentrique par la suite, le nombre de centres participant restant à déterminer en fonction de la validation médicale et scientifique par chaque centre d'une telle proposition de recherche. L'avis du conseil scientifique de la SFGM-TC sera sollicité pour cette étude.

Le projet sera mené selon un design chronologique prévu par le suivi conventionnel post-ACSH, en respectant les délais nécessaires à l'établissement et au maintien de la prise de greffe. Les prélèvements seront donc effectués dans le cadre du suivi classique des patients allogreffés, aucune visite ni aucun prélèvement n'étant rajouté (Figure 3).

c) Recueil des données clinico-biologiques

Après information et recueil du consentement du patient, toutes les informations requises par le protocole seront consignées dans un cahier d'observation électronique sécurisé. Les données seront recueillies au fur et à mesure qu'elles seront obtenues, de façon anonymisée.

La liste exhaustive des variables cliniques et biologiques recueillies en période pré-transplantation, liées à la transplantation et en période post-transplantation est présentée dans les tableaux 3 et 4 ci-après. Ces variables seront recueillies à l'état basal pour les données pré-transplantation et liées à la transplantation, et à chaque visite (quand requis) pour les données post-transplantation.

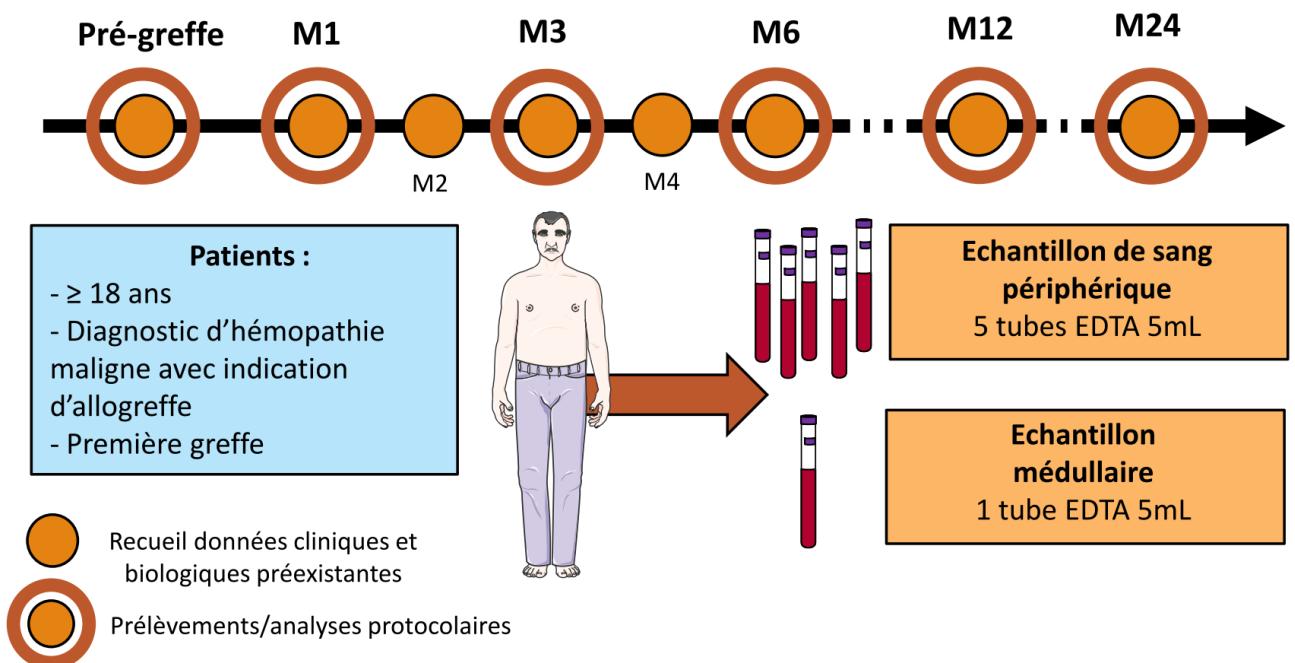


Figure 3: Protocole de suivi prospectif après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

M : Mois

DONNEES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES PRE-EXISTANTES RECUÉILLIES

Pré-greffe

- **Données démographiques du patient**
 - Age, Sexe, score comorbidités (HCT-CI) + détails comorbidités (diabète, tabac, maladie pulmonaire ou cardiaque chronique, maladie auto-immune, cancer) splénectomie
 - Antécédent de greffe autologue
 - Anticorps anti-HLA (si positif : recherche spécificité contre le donneur)
- **Données hématologiques**
 - Type de maladie (LAM et SMD, LAL, SMP, aplasie médullaire, SLP, MM), facteurs génétiques et moléculaires pronostiques
 - Statut de la maladie (précoce, intermédiaire, tardive/avancée)
 - Maladie résiduelle (évaluée en cytologie + immunophénotypage, cytogénétique et moléculaire quand réalisable)
- **Données relatives au donneur et greffon**
 - Données démographiques donneur : sexe, âge
 - Source (Moelle osseuse, cellules souches périphériques, sang de cordon)
 - Compatibilité HLA (HLA A, B, C, DR, DQ et DP)
 - Compatibilité ABO (Mineure, Majeure, Mixte)
 - Cellularité du greffon : cellules nucléées totales, CD34+ et CD3+
 - Traitement du greffon (congélation, déserythrocitation...)
- **Données relatives à la greffe**
 - Conditionnement prévu (Myéloablatif/intensité réduite/non myéloablatif)
- **Données infectiologiques**
 - Sérologies patient et donneur : CMV, EBV, HSV, toxoplasmose, VIH, VHB, VHC, syphilis
 - PCR virales sanguines : CMV, EBV, HHV-6, Adénovirus, Toxoplasmose, BK-virus

Suivi : M1, M2, M3, M4, M6, M12, M24

- **Prise de greffe**
 - Délai de prise de greffe (en jours)
 - Chimérisme sur sang et moelle
 - Maladie du greffon (aigüe/chronique, grade, réponse, réfractaire ?)
- **Données hématologiques**
 - Réponse (évaluée en cytologie + immunophénotypage, cytogénétique et moléculaire quand réalisable)
- **Traitements reçus**
 - Type de traitements (classés en : Immunosupresseur, anti-infectieux, myélotoxique)
 - Prophylaxie de la GvHD
 - Traitement de la non prise ou dysfonction du greffon
 - Immunoglobulines polyvalentes
- **Infections** (cf Annexe 1)
 - Bactériennes, Fongiques, Virales, Parasitaires, Sepsis non documentés

Tableau 3 : Données clinico-biologiques recueillies prévues dans le suivi habituel

ACSH : *Allogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques*, CMV : *Cytomegalovirus*, EBV : *Epstein-barr Virus*, GvHD : *Graft-Versus-Host Disease* (maladie du greffon contre l'hôte), HLA : *Human Leukocyte Antigen*, HHV-6 : *Human Herpes Virus 6*, HSV : *Herpes Simplex Virus*.

d) Analyses protocolaires : méthodes

Pour répondre à l'objectif principal, plusieurs approches se basant sur des méthodes innovantes d'exploration du système immunitaire et des écosystèmes microbiens seront utilisées et testées de façon différentielle et séquentielle sur deux fractions sanguines : médullaire et périphérique. Des prélèvements issus de donneurs sains (pour le sang périphérique) ou de patients en rémission complète depuis plus de 5 ans venant à l'occasion d'une visite de contrôle (pour la moelle osseuse) seront analysés au titre de population de référence.

Une première approche consistera à développer des tests immunitaires fonctionnels basés sur des données transcriptomiques et protéomiques. Une analyse du séquençage de l'ARN sur sang total et médullaire nous permettra d'étudier différentes signatures immunitaires (innées, T classique, helper et cytotoxique, T régulatrice, T mémoires, T γ δ , NK, B classique et régulatrice) et d'établir les profils immunitaires associés à la non prise de greffe. Le versant fonctionnel sera étudié selon une approche méthodologique et analytique adaptée des travaux proposés récemment par les équipes de l'institut Pasteur (Consortium Milieu Interieur) (184). Cette méthode permet un dosage des principales cytokines de l'immunité adaptative et innée directement sur sang total après 24h d'incubation dans une seringue prête à l'emploi. La réponse à différents stimulis peut également être évaluée. L'immunité innée sera étudiée par analyse de la synthèse de TNF- α après stimulation du sang total et médullaire par des antigènes immunogènes ubiquitaires tels que le LPS, l'entérotoxine staphylococcique B, le VZV. En plus du TNF- α , d'autres cytokines/chemokines seront analysées dans le surnageant de culture pour apprécier le versant adaptatif (IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, IFN- γ). Ces deux résultats nous permettront de dresser un profil immunitaire quantitatif, qualitatif et fonctionnel associé à l'insuffisance médullaire après ACSH.

Une deuxième approche consistera à étudier le virome sanguin des receveurs d'ACSH par méthode de High Throughput Sequencing (HTS). Ce volet aura pour but d'évaluer la composition du virome associée aux syndromes d'insuffisance médullaire après ACSH et d'analyser en quoi elle diffère des receveurs d'ACSH sans insuffisance médullaire. L'existence d'un virome médullaire et l'évaluation de sa composition différentielle dans les deux populations sera également recherchée.

Pour les besoins du protocole, les analyses seront réalisées avant greffes et à certaines échéances du suivi standard, à M1, M3, M6, M12 et M24.

DONNEES BIOLOGIQUES PROTOCOLAIRES

Pré-greffe et suivi : M1, M2, M3, M4, M6, M12, M24

- **Immunophénotypage :**
 - Lymphocytes T $\alpha\beta$
 - CD3+, CD4 et CD8+ avec ratio CD3/CD8
 - PD1, production IFN γ
 - Lymphocytes T $\gamma\delta$
 - Lymphocytes B
 - CD19+, CD20+, CD21+
 - Expression de HLA-DR et PD1 sur les monocytes
 - Lymphocytes T_{reg}
 - CD25+ Foxp3+
 - Lymphocytes NK
 - CSM (moelle) :
 - CD73+, CD90+, CD105+, CD14, CD34 & CD45
- **Biomarqueurs sanguins**
 - IFN γ , IL-4, IL-10, TNF α
 - Ratio IL10/TNF α s
 - Ratio IFN- γ /IL-4
- **Dosage des immunoglobulines**
 - Sous types : IgG, M, A
- **Test fonctionnels**
 - Analyse fonctionnelle après exposition à différents antigènes tels que le LPS, l'entérotoxine staphylococcique B ou le VZV par système Truculture ®
- **Virologie :**
 - PCR virales multiplex (sang et moelle)
 - Virome sanguin et médullaire (HTS)
- **En cas de fièvre prolongée inexplicable**
 - Numération Formule Sanguine
 - Coagulation avec fibrinogène
 - Triglycérides
 - Myélogramme avec bilan virologique complet

Tableau 4 : Données biologiques prévues dans le protocole

ACSH : *Allogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques*, CMV : *Cytomegalovirus*, EBV : *Epstein-barr Virus*, GvHD : *Graft-Versus-Host Disease (maladie du greffon contre l'hôte)*, HHV-6 : *Human Herpes Virus 6*, HLA : *Human Leukocyte Antigen*, HSV : *Herpès Simplex Virus*, HTS : *High Throughput Sequencing*

e) Effectifs attendus et analyses statistiques

L'incidence globale des dysfonctions du greffon est estimée entre 10 et 25% après ACSH (185). A ceci s'ajoute les non prises de greffe, dont l'incidence globale est estimée à 5,5% toutes greffes confondues (7,8). Sachant qu'environ 80 greffes allogéniques sont réalisées chaque année au centre hospitalier Lyon Sud, une vingtaine de patients incluables dans le groupe « insuffisance médullaire » est attendue par année. La première partie étant exploratoire et monocentrique, une vingtaine de patients dans chaque groupe est attendue. Le recueil sera purement prospectif pour les quarante premiers patients. Une fois le nombre de patients atteints dans le groupe contrôle (avec un suivi minimum d'un an), les prélèvements seront congelés et analysés uniquement en cas de développement d'un syndrome d'insuffisance médullaire pour compléter le groupe des cas.

Cette première analyse et sa faisabilité pratique nous permettra ensuite d'étendre l'étude à d'autres centres. Un nombre de sujets nécessaire sera alors calculé en fonction des résultats attendus.

3. Retombées attendues

Cette étude nous permettra de décrire les phénomènes immunologiques et infectieux intervenant dans la prise de greffe et l'insuffisance médullaire après ACSH. Une meilleure compréhension de ces événements devrait nous aider à mieux les prévenir et améliorer la prise en charge des cytopénies après ACSH. Comprendre l'interaction avec les micro-organismes du microbiome et les microrganismes pathogènes devrait également permettre d'ouvrir de nouvelles voies thérapeutiques pour ces syndromes ne bénéficiant actuellement que de peu d'options. Enfin, la découverte d'un éventuel virome médullaire serait une première faisant reconsidérer le modèle actuel de zone de privilège immun.

CONCLUSION

C'est en approfondissant un sujet que l'on s'aperçoit progressivement de l'étendue de ce que l'on ignore. Ainsi, ce travail aura rempli sa fonction si désormais il existe plus de questions qu'il n'y en avait auparavant. Dans le contexte spécifique de la procédure complexe de l'ACSH, la compréhension des mécanismes régissant les relations entre l'hôte receveur et les écosystèmes microbiens est loin d'être parfaite. Les différents effecteurs et médiateurs impliqués dans ce dialogue immunologique, dont l'état des connaissances a été résumé dans ce document, nous permet ainsi d'envisager différents moyens par lesquels les agents infectieux peuvent interférer avec la physiologie de la CSH. De futures études plus poussées devraient nous permettre de mieux comprendre ces interactions et d'améliorer la prise en charge du patient.

REFERENCES

1. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Basak GW, Bonini C, Duarte R, et al. Is the use of unrelated donor transplantation leveling off in Europe? The 2016 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant*. 14 mars 2018;1.
2. A. D'Souza, C. Fretham. Current Uses and Outcomes of Hematopoietic Cell Transplantation (HCT): CIBMTR Summary Slides [Internet]. 2017. Disponible sur: <https://www.cibmtr.org/>
3. Agence de la biomédecine - Le rapport annuel médical et scientifique 2016 [Internet]. [cité 2 août 2018]. Disponible sur: <https://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2016/donnees/cellules/04-national/synthese.htm>
4. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, Hingorani S, Sorror ML, Boeckh M, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med*. 25 nov 2010;363(22):2091-101.
5. Körbling M, Anderlini P. Peripheral blood stem cell versus bone marrow allotransplantation: does the source of hematopoietic stem cells matter? *Blood*. 15 nov 2001;98(10):2900-8.
6. Hahn T, McCarthy PL, Hassebroek A, Bredeson C, Gajewski JL, Hale GA, et al. Significant Improvement in Survival After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation During a Period of Significantly Increased Use, Older Recipient Age, and Use of Unrelated Donors. *J Clin Oncol*. 1 juill 2013;31(19):2437-49.
7. Olsson R, Remberger M, Schaffer M, Berggren DM, Svahn BM, Mattsson J, et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(4):537–543.
8. Olsson RF, Logan BR, Chaudhury S, Zhu X, Akpek G, Bolwell BJ, et al. Primary graft failure after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancies. *Leukemia*. août 2015;29(8):1754-62.
9. Passweg JR, Zhang M-J, Rocha V, Kan F, Champlin RE, Isola LM, et al. Donor Characteristics Affecting Graft Failure, Graft-versus-Host Disease, and Survival after Unrelated Donor Transplantation with Reduced-Intensity Conditioning for Hematologic Malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant*. déc 2011;17(12):1869-73.
10. Rondón G, Saliba RM, Khouri I, Giralt S, Chan K, Jabbour E, et al. Long-Term Follow-Up of Patients Who Experienced Graft Failure Postallogeneic Progenitor Cell Transplantation. Results of a Single Institution Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant*. août 2008;14(8):859-66.
11. Mallhi K, Orchard PJ, Miller WP, Cao Q, Tolar J, Lund TC. Non-myeloablative conditioning for second hematopoietic cell transplantation for graft failure in patients with non-malignant disorders: a prospective study and review of the literature. *Bone Marrow Transplant*. mai 2017;52(5):726-32.
12. Mattsson J, Ringdén O, Storb R. Graft Failure after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. janv 2008;14(1):165-70.

13. Wolff SN. Second hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of graft failure, graft rejection or relapse after allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant.* avr 2002;29(7):545-52.
14. Singh H, Nikiforow S, Li S, Ballen KK, Spitzer TR, Soiffer R, et al. Outcomes and management strategies for graft failure after umbilical cord blood transplantation: Graft Failure After UCBT. *Am J Hematol.* déc 2014;89(12):1097-101.
15. Anasetti C, Amos D, Beatty PG, Appelbaum FR, Bensinger W, Buckner CD, et al. Effect of HLA compatibility on engraftment of bone marrow transplants in patients with leukemia or lymphoma. *N Engl J Med.* 26 janv 1989;320(4):197-204.
16. Barge AJ, Johnson G, Witherspoon R, Torok-Storb B. Antibody-mediated marrow failure after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood.* 1 oct 1989;74(5):1477-80.
17. Masouridi-Levrat S, Simonetta F, Chalandon Y. Immunological Basis of Bone Marrow Failure after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol* [Internet]. 16 sept 2016 [cité 2 nov 2017];7. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fimmu.2016.00362/abstract>
18. Lund TC, Liegel J, Bejanyan N, Orchard PJ, Cao Q, Tolar J, et al. Second allogeneic hematopoietic cell transplantation for graft failure: Poor outcomes for neutropenic graft failure: Outcomes of HCT After Graft Failure. *Am J Hematol.* oct 2015;90(10):892-6.
19. Larocca A, Piaggio G, Podestà M, Pitto A, Bruno B, Di Grazia C, et al. Boost of CD34+-selected peripheral blood cells without further conditioning in patients with poor graft function following allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica.* juill 2006;91(7):935-40.
20. Ferrà C, Sanz J, Díaz-Pérez M-A, Morgades M, Gayoso J, Cabrera J-R, et al. Outcome of graft failure after allogeneic stem cell transplant: study of 89 patients. *Leuk Lymphoma.* mars 2015;56(3):656-62.
21. Davies SM, Kollman C, Anasetti C, Antin JH, Gajewski J, Casper JT, et al. Engraftment and survival after unrelated-donor bone marrow transplantation: a report from the national marrow donor program. *Blood.* 15 déc 2000;96(13):4096-102.
22. Akpek G, Pasquini MC, Logan B, Agovi M-A, Lazarus HM, Marks DI, et al. Effects of spleen status on early outcomes after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* juin 2013;48(6):825-31.
23. Plett PA, Frankovitz SM, Orschell CM. Distribution of marrow repopulating cells between bone marrow and spleen early after transplantation. *Blood.* 15 sept 2003;102(6):2285-91.
24. Cluzeau T, Lambert J, Raus N, Dessaux K, Absi L, Delbos F, et al. Risk factors and outcome of graft failure after HLA matched and mismatched unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation: a study on behalf of SFGM-TC and SFHI. *Bone Marrow Transplant.* 8 févr 2016;
25. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood.* 15 déc 2007;110(13):4576-83.

26. Kekre N, Mak KS, Stopsack KH, Binder M, Ishii K, Brånvall E, et al. Impact of HLA-Mismatch in Unrelated Donor Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Meta-Analysis. *Am J Hematol.* 91(6):551-5.
27. Fleischhauer K, Shaw BE, Gooley T, Malkki M, Bardy P, Bignon J-D, et al. Effect of T-cell-epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haemopoietic-cell transplantation: a retrospective study. *Lancet Oncol.* 1 avr 2012;13(4):366-74.
28. Petersdorf EW, Hansen JA, Martin PJ, Woolfrey A, Malkki M, Gooley T, et al. Major-Histocompatibility-Complex Class I Alleles and Antigens in Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med.* 20 déc 2001;345(25):1794-800.
29. Petersdorf EW, Longton GM, Anasetti C, Mickelson EM, McKinney SK, Smith AG, et al. Association of HLA-C disparity with graft failure after marrow transplantation from unrelated donors. *Blood.* 1 mars 1997;89(5):1818-23.
30. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, et al. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood.* 1 juin 2002;99(11):4200-6.
31. Remberger M, Watz E, Ringdén O, Mattsson J, Shanwell A, Wikman A. Major ABO Blood Group Mismatch Increases the Risk for Graft Failure after Unrelated Donor Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1 juin 2007;13(6):675-82.
32. Spellman S, Bray R, Rosen-Bronson S, Haagenson M, Klein J, Flesch S, et al. The detection of donor-directed, HLA-specific alloantibodies in recipients of unrelated hematopoietic cell transplantation is predictive of graft failure. *Blood.* 1 avr 2010;115(13):2704-8.
33. Fleischhauer K, Locatelli F, Zecca M, Orofino MG, Giardini C, De Stefano P, et al. Graft rejection after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation for thalassemia is associated with nonpermissive HLA-DPB1 disparity in host-versus-graft direction. *Blood.* 1 avr 2006;107(7):2984-92.
34. Endres RO, Kleinman SH, Carrick DM, Steele WR, Wright DJ, Norris PJ, et al. Identification of specificities of antibodies against human leukocyte antigens in blood donors. *Transfusion (Paris).* août 2010;50(8):1749-60.
35. Morin-Zorman S, Loiseau P, Taupin J-L, Caillat-Zucman S. Donor-Specific Anti-HLA Antibodies in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol [Internet].* 2016 [cité 2 juill 2018];7. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00307/full>
36. Cutler C, Kim HT, Sun L, Sese D, Glotzbecker B, Armand P, et al. Donor-specific anti-HLA antibodies predict outcome in double umbilical cord blood transplantation. *Blood.* 15 déc 2011;118(25):6691-7.
37. Ciurea SO, Thall PF, Wang X, Wang SA, Hu Y, Cano P, et al. Donor-specific anti-HLA Abs and graft failure in matched unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 24 nov 2011;118(22):5957-64.

38. Brunstein CG, Noreen H, DeFor TE, Maurer D, Miller JS, Wagner JE. Anti-HLA Antibodies in Double Umbilical Cord Blood Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1 nov 2011;17(11):1704-8.
39. Detrait M, Dubois V, Sobh M, Morisset S, Tedone N, Labussière H, et al. Impact of anti-HLA antibodies on allogeneic hematopoietic stem cell transplantation outcomes after reduced-intensity conditioning regimens. *Exp Hematol.* oct 2012;40(10):792-9.
40. Gladstone DE, Bettinotti MP. HLA donor-specific antibodies in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: challenges and opportunities. *Hematol-Am Soc Hematol Educ Program.* déc 2017;645-50.
41. Ciurea SO, Cao K, Fernandez-Vina M, Kongtim P, Malki MA, Fuchs E, et al. The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Consensus Guidelines for the Detection and Treatment of Donor-specific Anti-HLA Antibodies (DSA) in Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* mai 2018;53(5):521-34.
42. Nordlander A, Uhlin M, Ringdén O, Kumlien G, Hauzenberger D, Mattsson J. Immune modulation to prevent antibody-mediated rejection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Immunol.* sept 2011;25(2-3):153-8.
43. Gale RP, Feig S, Ho W, Falk P, Rippey C, Sparkes R. ABO blood group system and bone marrow transplantation. *Blood.* août 1977;50(2):185-94.
44. Buckner CD, Clift RA, Sanders JE, Williams B, Gray M, Storb R, et al. ABO-incompatible marrow transplants. *Transplantation.* oct 1978;26(4):233-8.
45. Stussi G, Muntwyler J, Passweg JR, Seebach L, Schanz U, Gmür J, et al. Consequences of ABO incompatibility in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* juill 2002;30(2):87-93.
46. Eichwald EJ, Silmser CR. Skin. *Transplant Bull.* 1955;2:148-9.
47. Gratwohl A, Hermans J, Niederwieser D, van Biezen A, van Houwelingen HC, Apperley J, et al. Female donors influence transplant-related mortality and relapse incidence in male recipients of sibling blood and marrow transplants. *Hematol J Off J Eur Haematol Assoc.* 2001;2(6):363-70.
48. Stern M, Passweg JR, Locasciulli A, Socié G, Schrezenmeier H, Békássy AN, et al. Influence of Donor/Recipient Sex Matching on Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Aplastic Anemia. *Transplantation.* juill 2006;82(2):218.
49. Kernan NA, Bordignon C, Heller G, Cunningham I, Castro-Malaspina H, Shank B, et al. Graft failure after T-cell-depleted human leukocyte antigen identical marrow transplants for leukemia: I. Analysis of risk factors and results of secondary transplants. *Blood.* 1 nov 1989;74(6):2227-36.
50. Kim HT, Zhang M-J, Woolfrey AE, Martin AS, Chen J, Saber W, et al. Donor and recipient sex in allogeneic stem cell transplantation: what really matters. *Haematologica.* 1 oct 2016;101(10):1260-6.

51. Scott BL, Pasquini MC, Logan BR, Wu J, Devine SM, Porter DL, et al. Myeloablative Versus Reduced-Intensity Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol*. 13 févr 2017;35(11):1154-61.
52. Le Blanc K, Rembarger M, Uzunel M, Mattsson J, Barkholt L, Ringdén O. A Comparison of Nonmyeloablative and Reduced-Intensity Conditioning for Allogeneic Stem-Cell Transplantation. *Transplantation*. oct 2004;78(7):1014.
53. Seidel MG, Fritsch G, Matthes-Martin S, Lawitschka A, Lion T, Potschger U, et al. In vitro and in vivo T-cell depletion with myeloablative or reduced-intensity conditioning in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 1 janv 2005;90(10):1405-14.
54. Bacigalupo A, Lamparelli T, Bruzzi P, Guidi S, Alessandrino PE, di Bartolomeo P, et al. Antithymocyte globulin for graft-versus-host disease prophylaxis in transplants from unrelated donors: 2 randomized studies from Gruppo Italiano Trapianti Midollo Osseo (GITMO). *Blood*. 15 nov 2001;98(10):2942-7.
55. Bacigalupo A. ATG in allogeneic stem cell transplantation: standard of care in 2017? Point. *Blood Adv*. 28 mars 2017;1(9):569-72.
56. Kröger N, Solano C, Wolschke C, Bandini G, Patriarca F, Pini M, et al. Antilymphocyte Globulin for Prevention of Chronic Graft-versus-Host Disease. *N Engl J Med*. 7 janv 2016;374(1):43-53.
57. Fehse N, Fehse B, Kröger N, Zabelina T, Freiberger P, Krüger W, et al. Influence of anti-thymocyte globulin as part of the conditioning regimen on immune reconstitution following matched related bone marrow transplantation. *J Hematother Stem Cell Res*. avr 2003;12(2):237-42.
58. Kekre N, Antin JH. ATG in allogeneic stem cell transplantation: standard of care in 2017? Counterpoint. *Blood Adv*. 28 mars 2017;1(9):573-6.
59. Ruggeri A, Labopin M, Bacigalupo A, Afanasyev B, Cornelissen JJ, Elmaagacli A, et al. Post-transplant cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis in HLA matched sibling or matched unrelated donor transplant for patients with acute leukemia, on behalf of ALWP-EBMT. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol*. 15 mars 2018;11:40.
60. Schriber J, Agovi M-A, Ho V, Ballen KK, Bacigalupo A, Lazarus HM, et al. Second Unrelated Donor Hematopoietic Cell Transplantation for Primary Graft Failure. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1 août 2010;16(8):1099-106.
61. Rembarger M, Mattsson J, Olsson R, Ringdén O. Second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a treatment for graft failure. *Clin Transplant*. 2011;25(1):E68-76.
62. Cesaro S, Latour RP de, Tridello G, Pillon M, Carlson K, Fagioli F, et al. Second allogeneic stem cell transplant for aplastic anaemia: a retrospective study by the severe aplastic anaemia working party of the European society for blood and marrow transplantation. *Br J Haematol*. 171(4):606-14.
63. Bacigalupo A, Socié G, Schrezenmeier H, Tichelli A, Locasciulli A, Fuehrer M, et al. Bone marrow versus peripheral blood as the stem cell source for sibling transplants in acquired

- aplastic anemia: survival advantage for bone marrow in all age groups. *Haematologica*. août 2012;97(8):1142-8.
64. Locatelli F, Lucarelli B, Merli P. Current and future approaches to treat graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opin Pharmacother*. 1 janv 2014;15(1):23-36.
 65. Fuji S, Nakamura F, Hatanaka K, Taniguchi S, Sato M, Mori S, et al. Peripheral Blood as a Preferable Source of Stem Cells for Salvage Transplantation in Patients with Graft Failure after Cord Blood Transplantation: A Retrospective Analysis of the Registry Data of the Japanese Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1 sept 2012;18(9):1407-14.
 66. Yoshihara S, Ikegami K, Taniguchi K, Kaida K, Kim EH, Nakata J, et al. Salvage haploidentical transplantation for graft failure using reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant*. mars 2012;47(3):369-73.
 67. Platzbecker U, Binder M, Schmid C, Rutt C, Ehninger G, Bornhäuser M. Second donation of hematopoietic stem cells from unrelated donors for patients with relapse or graft failure after allogeneic transplantation. *Haematologica*. août 2008;93(8):1276-8.
 68. Vongwiwatana A, Tasanarong A, Hidalgo LG, Halloran PF. The role of B cells and alloantibody in the host response to human organ allografts. *Immunol Rev*. 196(1):197-218.
 69. Chang AT, Platt JL. The Role of Antibodies in Transplantation. *Transplant Rev* Orlando Fla. oct 2009;23(4):191-8.
 70. Storb R. B cells versus T cells as primary barrier to hematopoietic engraftment in allosensitized recipients. *Blood*. 29 janv 2009;113(5):1205-1205.
 71. Hanajiri R, Murata M, Sugimoto K, Murase M, Sakemura R, Goto T, et al. Integration of humoral and cellular HLA-specific immune responses in cord blood allograft rejection. *Bone Marrow Transplant*. sept 2015;50(9):1187-94.
 72. Nakamura H, Gress RE. Graft rejection by cytolytic T cells. Specificity of the effector mechanism in the rejection of allogeneic marrow. *Transplantation*. févr 1990;49(2):453-8.
 73. Kernan NA, Flomenberg N, Dupont B, O'Reilly RJ. Graft rejection in recipients of T-cell-depleted HLA-nonidentical marrow transplants for leukemia. Identification of host-derived antidonor allocytotoxic T lymphocytes. *Transplantation*. juin 1987;43(6):842-7.
 74. Voogt PJ, Fibbe WE, Marijt W a. F, Veenhof WFJ, Hamilton M, Zwaan FE, et al. Rejection of bone-marrow graft by recipient-derived cytotoxic T lymphocytes against minor histocompatibility antigens. *The Lancet*. 20 janv 1990;335(8682):131-4.
 75. Feng X, Hui KM, Younes HM, Brickner AG. Targeting minor histocompatibility antigens in graft versus tumor or graft versus leukemia responses. *Trends Immunol*. déc 2008;29(12):624-32.
 76. Voogt PJ, Goulmy E, Fibbe WE, Veenhof WF, Brand A, Falkenburg JH. Minor histocompatibility antigen H-Y is expressed on human hematopoietic progenitor cells. *J Clin Invest*. sept 1988;82(3):906-12.

77. Vogt MHJ, Paus RA de, Voogt PJ, Willemze R, Falkenburg JHF. DFFRY codes for a new human male-specific minor transplantation antigen involved in bone marrow graft rejection. *Blood*. 1 févr 2000;95(3):1100-5.
78. Komatsu M, Mammolenti M, Jones M, Jurecic R, Sayers TJ, Levy RB. Antigen-primed CD8+ T cells can mediate resistance, preventing allogeneic marrow engraftment in the simultaneous absence of perforin-, CD95L-, TNFR1-, and TRAIL-dependent killing. *Blood*. 15 mai 2003;101(10):3991-9.
79. Zimmerman Z, Shatry A, Deyev V, Podack E, Mammolenti M, Blazar BR, et al. Effector Cells Derived from Host CD8 Memory T Cells Mediate Rapid Resistance against Minor Histocompatibility Antigen-Mismatched Allogeneic Marrow Grafts without Participation of Perforin, Fas Ligand, and the Simultaneous Inhibition of 3 Tumor Necrosis Factor Family Effector Pathways. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1 août 2005;11(8):576-86.
80. Gandy KL, Domen J, Aguila H, Weissman IL. CD8+TCR+ and CD8+TCR- cells in whole bone marrow facilitate the engraftment of hematopoietic stem cells across allogeneic barriers. *Immunity*. nov 1999;11(5):579-90.
81. Spierings E, Vermeulen CJ, Vogt MH, Doerner LE, Falkenburg JHF, Mutis T, et al. Identification of HLA class II-restricted H-Y-specific T-helper epitope evoking CD4+ T-helper cells in H-Y-mismatched transplantation. *The Lancet*. 23 août 2003;362(9384):610-5.
82. Haabeth OAW, Tveita AA, Fauskanger M, Schjesvold F, Lorvik KB, Hofgaard PO, et al. How Do CD4+ T Cells Detect and Eliminate Tumor Cells That Either Lack or Express MHC Class II Molecules? *Front Immunol [Internet]*. 2014 [cité 11 juill 2018];5. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2014.00174/full>
83. Urbieta M, Barao I, Jones M, Jurecic R, Panoskalsis-Mortari A, Blazar BR, et al. Hematopoietic progenitor cell regulation by CD4+CD25+ T cells. *Blood*. 10 juin 2010;115(23):4934-43.
84. Barao I, Hanash AM, Hallett W, Welniak LA, Sun K, Redelman D, et al. Suppression of natural killer cell-mediated bone marrow cell rejection by CD4+CD25+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci*. 4 avr 2006;103(14):5460-5.
85. Edinger M, Hoffmann P, Ermann J, Drago K, Fathman CG, Strober S, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Nat Med*. sept 2003;9(9):1144-50.
86. Edinger M, Hoffmann P. Regulatory T cells in stem cell transplantation: strategies and first clinical experiences. *Curr Opin Immunol*. 1 oct 2011;23(5):679-84.
87. Fujisaki J, Wu J, Carlson AL, Silberstein L, Putheti P, Larocca R, et al. *In vivo* imaging of T_{reg} cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche. *Nature*. juin 2011;474(7350):216-9.
88. Murphy WJ, Kumar V, Bennett M. Rejection of bone marrow allografts by mice with severe combined immune deficiency (SCID). Evidence that natural killer cells can mediate the specificity of marrow graft rejection. *J Exp Med*. 1 avr 1987;165(4):1212-7.

89. Kannan GS, Aquino-Lopez A, Lee DA. Natural killer cells in malignant hematatology: A primer for the non-immunologist. *Blood Rev.* 1 mars 2017;31(2):1-10.
90. Sun K, Alvarez M, Ames E, Barao I, Chen M, Longo DL, et al. Mouse NK cell-mediated rejection of bone marrow allografts exhibits patterns consistent with Ly49 subset licensing. *Blood.* 9 févr 2012;119(6):1590-8.
91. Taylor MA, Ward B, Schatzle JD, Bennett M. Perforin- and Fas-dependent mechanisms of natural killer cell-mediated rejection of incompatible bone marrow cell grafts. *Eur J Immunol.* 2002;32(3):793-9.
92. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, Perruccio K, Shlomchik WD, Tosti A, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science.* 15 mars 2002;295(5562):2097-100.
93. Murphy WJ, Keller JR, Harrison CL, Young HA, Longo DL. Interleukin-2-activated natural killer cells can support hematopoiesis in vitro and promote marrow engraftment in vivo. *Blood.* 1 août 1992;80(3):670-7.
94. Handgretinger R, Schilbach K. The potential role of $\gamma\delta$ T cells after allogeneic HCT for leukemia. *Blood.* 8 mars 2018;131(10):1063-72.
95. Godder KT, Henslee-Downey PJ, Mehta J, Park BS, Chiang K-Y, Abhyankar S, et al. Long term disease-free survival in acute leukemia patients recovering with increased gammadelta T cells after partially mismatched related donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* juin 2007;39(12):751-7.
96. Locatelli F, Merli P, Pagliara D, Li Pira G, Falco M, Pende D, et al. Outcome of children with acute leukemia given HLA-haploidential HSCT after $\alpha\beta$ T-cell and B-cell depletion. *Blood.* 03 2017;130(5):677-85.
97. Rådestad E, Wikell H, Engström M, Watz E, Sundberg B, Thunberg S, et al. Alpha/Beta T-Cell Depleted Grafts as an Immunological Booster to Treat Graft Failure after Hematopoietic Stem Cell Transplantation with HLA-Matched Related and Unrelated Donors [Internet]. *Journal of Immunology Research.* 2014 [cité 6 août 2018]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2014/578741/>
98. Taylor PA, Ehrhardt MJ, Roforth MM, Swedin JM, Panoskaltsis-Mortari A, Serody JS, et al. Preformed antibody, not primed T cells, is the initial and major barrier to bone marrow engraftment in allosensitized recipients. *Blood.* 1 févr 2007;109(3):1307-15.
99. Nordlander A, Mattsson J, Sundberg B, Sumitran-Holgersson S. Novel antibodies to the donor stem cell population CD34+/VEGFR-2+ are associated with rejection after hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation.* 15 sept 2008;86(5):686-96.
100. Tazzari PL, Rondelli D, Re F, Bandini G, Ricci F, Tassi C, et al. Antibodies reactive with neutrophils following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Haematol.* janv 1999;62(1):57-62.
101. Mohty M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia.* juill 2007;21(7):1387-94.

102. Shimony O, Nagler A, Gellman YN, Refaeli E, Rosenblum N, Eshkar-Sebban L, et al. Anti-T Lymphocyte Globulin (ATG) Induces Generation of Regulatory T Cells, at Least Part of Them Express Activated CD44. *J Clin Immunol*. 1 févr 2012;32(1):173-88.
103. Feng X, Kajigaya S, Solomou EE, Keyvanfar K, Xu X, Raghavachari N, et al. Rabbit ATG but not horse ATG promotes expansion of functional CD4+CD25highFOXP3+ regulatory T cells in vitro. *Blood*. 1 avr 2008;111(7):3675-83.
104. Simmons PJ, Przepiorka D, Thomas ED, Torok-Storb B. Host origin of marrow stromal cells following allogeneic bone marrow transplantation. *Nature*. 30 août 1987;328(6129):429-32.
105. Balan A, Lucchini G, Schmidt S, Schneider A, Tramsen L, Kuçi S, et al. Mesenchymal stromal cells in the antimicrobial host response of hematopoietic stem cell recipients with graft-versus-host disease—friends or foes? *Leukemia*. oct 2014;28(10):1941-8.
106. Muguruma Y, Yahata T, Miyatake H, Sato T, Uno T, Itoh J, et al. Reconstitution of the functional human hematopoietic microenvironment derived from human mesenchymal stem cells in the murine bone marrow compartment. *Blood*. 1 mars 2006;107(5):1878-87.
107. Zhao K, Liu Q. The clinical application of mesenchymal stromal cells in hematopoietic stem cell transplantation. *J Hematol Oncol* Hematol Oncol. déc 2016;9(1):46.
108. Hu K, Wang M, Fan C, Wang L, Guo M, Ai H. CM-DiI labeled mesenchymal stem cells homed to thymus inducing immune recovery of mice after haploidentical bone marrow transplantation. *Int Immunopharmacol*. sept 2011;11(9):1265-70.
109. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol*. sept 2008;8(9):726-36.
110. Auletta JJ, Deans RJ, Bartholomew AM. Emerging roles for multipotent, bone marrow-derived stromal cells in host defense. *Blood*. 23 févr 2012;119(8):1801-9.
111. Chan JL, Tang KC, Patel AP, Bonilla LM, Pierobon N, Ponzio NM, et al. Antigen-presenting property of mesenchymal stem cells occurs during a narrow window at low levels of interferon- γ . *Blood*. 15 juin 2006;107(12):4817-24.
112. Qin A, Lai D-H, Huang W, Wu M, Chen X, Xiang P, et al. Bone Marrow-Derived MSCs Stimulated by IFN- γ Inhibited the Growth of Toxoplasma Gondii Via up-Regulation of GBP1. *Blood*. 6 déc 2014;124(21):5143-5143.
113. Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, Lankester A, Cometa A, Egeler RM, et al. Cotransplantation of ex vivo-expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation. *Blood*. 1 oct 2007;110(7):2764-7.
114. Meuleman N, Tondreau T, Ahmad I, Kwan J, Crokaert F, Delforge A, et al. Infusion of mesenchymal stromal cells can aid hematopoietic recovery following allogeneic hematopoietic stem cell myeloablative transplant: a pilot study. *Stem Cells Dev*. nov 2009;18(9):1247-52.

115. Xiong Y-Y, Fan Q, Huang F, Zhang Y, Wang Y, Chen X-Y, et al. Mesenchymal Stem Cells versus Mesenchymal Stem Cells Combined with Cord Blood for Engraftment Failure after Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Pilot Prospective, Open-Label, Randomized Trial. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1 févr 2014;20(2):236-42.
116. King KY, Goodell MA. Inflammatory modulation of HSCs: viewing the HSC as a foundation for the immune response. *Nat Rev Immunol*. oct 2011;11(10):685-92.
117. Nagai Y, Garrett KP, Ohta S, Bahrun U, Kouro T, Akira S, et al. Toll-like Receptors on Hematopoietic Progenitor Cells Stimulate Innate Immune System Replenishment. *Immunity*. 1 juin 2006;24(6):801-12.
118. Esplin BL, Shimazu T, Welner RS, Garrett KP, Nie L, Zhang Q, et al. Chronic Exposure to a TLR Ligand Injures Hematopoietic Stem Cells. *J Immunol*. 1 mai 2011;186(9):5367-75.
119. Boettcher S, Gerosa RC, Radpour R, Bauer J, Ampenberger F, Heikenwalder M, et al. Endothelial cells translate pathogen signals into G-CSF–driven emergency granulopoiesis. *Blood*. 28 août 2014;124(9):1393-403.
120. Pascutti MF, Erkelens MN, Nolte MA. Impact of Viral Infections on Hematopoiesis: From Beneficial to Detrimental Effects on Bone Marrow Output. *Front Immunol*. 2016;7:364.
121. Dagenais-Lussier X, Loucif H, Murira A, Laulhé X, Stäger S, Lamarre A, et al. Sustained IFN-I Expression during Established Persistent Viral Infection: A “Bad Seed” for Protective Immunity. *Viruses*. 30 déc 2017;10(1):12.
122. Essers MAG, Offner S, Blanco-Bose WE, Waibler Z, Kalinke U, Duchosal MA, et al. IFN α activates dormant haematopoietic stem cells in vivo. *Nature*. 16 avr 2009;458(7240):904-8.
123. Assinger A. Platelets and Infection – An Emerging Role of Platelets in Viral Infection. *Front Immunol* [Internet]. 2014 [cité 24 janv 2018];5. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2014.00649/full>
124. Drobyski WR, Dunne WM, Burd EM, Knox KK, Ash RC, Horowitz MM, et al. Human herpesvirus-6 (HHV-6) infection in allogeneic bone marrow transplant recipients: evidence of a marrow-suppressive role for HHV-6 in vivo. *J Infect Dis*. mars 1993;167(3):735-9.
125. Wang F-Z, Linde A, Dahl H, Ljungman P. Human herpesvirus 6 infection inhibits specific lymphocyte proliferation responses and is related to lymphocytopenia after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. déc 1999;24(11):1201-6.
126. Quintela A, Escuret V, Roux S, Bonnafous P, Gilis L, Barraco F, et al. HHV-6 infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: From chromosomal integration to viral co-infections and T-cell reconstitution patterns. *J Infect*. 1 févr 2016;72(2):214-22.
127. Chevallier P, Hebia-Fellah I, Planche L, Guillaume T, Bressolette-Bodin C, Coste-Burel M, et al. Human herpes virus 6 infection is a hallmark of cord blood transplant in adults and may participate to delayed engraftment: a comparison with matched unrelated donors as stem cell source. *Bone Marrow Transplant*. juill 2010;45(7):1204-11.
128. Le Bourgeois A, Labopin M, Guillaume T, Delaunay J, Foucher Y, Tessoulin B, et al. Human herpesvirus 6 reactivation before engraftment is strongly predictive of graft failure after

- double umbilical cord blood allogeneic stem cell transplantation in adults. *Exp Hematol.* nov 2014;42(11):945-54.
129. Lusso P. HHV-6 and the immune system: mechanisms of immunomodulation and viral escape. *J Clin Virol.* 1 déc 2006;37:S4-10.
 130. Wang F-Z, Larsson K, Linde A, Ljungman P. Human herpesvirus 6 infection and cytomegalovirus-specific lymphoproliferative responses in allogeneic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* oct 2002;30(8):521-6.
 131. Knox KK, Carrigan DR. In vitro suppression of bone marrow progenitor cell differentiation by human herpesvirus 6 infection. *J Infect Dis.* mai 1992;165(5):925-9.
 132. DesJardin JA, Cho E, Supran S, Gibbons L, Werner BG, Snydman DR. Association of Human Herpesvirus 6 Reactivation with Severe Cytomegalovirus-Associated Disease in Orthotopic Liver Transplant Recipients. *Clin Infect Dis.* 15 oct 2001;33(8):1358-62.
 133. Chevallier P, Robillard N, Illiaquer M, Esbelin J, Mohty M, Bodin-Bressollette C, et al. HHV-6 cell receptor CD46 expression on various cell subsets of six blood and graft sources: A prospective series. *J Clin Virol.* 1 avr 2013;56(4):331-5.
 134. Teira P, Battiwalla M, Ramanathan M, Barrett AJ, Ahn KW, Chen M, et al. Early cytomegalovirus reactivation remains associated with increased transplant-related mortality in the current era: a CIBMTR analysis. *Blood.* 19 2016;127(20):2427-38.
 135. Chan ST, Logan AC. The clinical impact of cytomegalovirus infection following allogeneic hematopoietic cell transplantation: Why the quest for meaningful prophylaxis still matters. *Blood Rev.* 1 mai 2017;31(3):173-83.
 136. Green ML, Leisenring WM, Xie H, Walter RB, Mielcarek M, Sandmaier BM, et al. CMV reactivation after allogeneic HCT and relapse risk: evidence for early protection in acute myeloid leukemia. *Blood.* 15 août 2013;122(7):1316-24.
 137. Streblow DN, Orloff SL, Nelson JA. Acceleration of allograft failure by cytomegalovirus. *Curr Opin Immunol.* oct 2007;19(5):577-82.
 138. Crough T, Khanna R. Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. *Clin Microbiol Rev.* 1 janv 2009;22(1):76-98.
 139. Freeman RB. The « indirect » effects of cytomegalovirus infection. *Am J Transplant.* nov 2009;9(11):2453-8.
 140. Hummel M, Kurian SM, Lin S, Borodyanskiy A, Zhang Z, Li Z, et al. Intragraft TNF receptor signaling contributes to activation of innate and adaptive immunity in a renal allograft model. *Transplantation.* 27 janv 2009;87(2):178-88.
 141. Suessmuth Y, Mukherjee R, Watkins B, Koura DT, Finstermeier K, Desmarais C, et al. CMV reactivation drives posttransplant T-cell reconstitution and results in defects in the underlying TCR β repertoire. *Blood.* 18 juin 2015;125(25):3835-50.

142. Scheper W, Dorp S van, Kersting S, Pietersma F, Lindemans C, Hol S, et al. $\gamma\delta$ T cells elicited by CMV reactivation after allo-SCT cross-recognize CMV and leukemia. *Leukemia*. juin 2013;27(6):1328-38.
143. Tangye SG, Palendira U, Edwards ESJ. Human immunity against EBV—lessons from the clinic. *J Exp Med*. 1 févr 2017;214(2):269-83.
144. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz K, Storek J, et al. Guidelines for Preventing Infectious Complications among Hematopoietic Cell Transplantation Recipients: A Global Perspective. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1 oct 2009;15(10):1143-238.
145. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, López-Guillermo A, Khamashta MA, Bosch X. Adult haemophagocytic syndrome. *The Lancet*. 26 avr 2014;383(9927):1503-16.
146. Schram AM, Berliner N. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis in the adult patient. *Blood*. 7 mai 2015;125(19):2908-14.
147. Styczynski J, Velden W van der, Fox CP, Engelhard D, Camara R de la, Cordonnier C, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 1 juill 2016;101(7):803-11.
148. Burns DM, Tierney R, Shannon-Lowe C, Croudace J, Inman C, Abbotts B, et al. Memory B-cell reconstitution following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an EBV-associated transformation event. *Blood*. 17 déc 2015;126(25):2665-75.
149. Ison MG. Adenovirus Infections in Transplant Recipients. *Clin Infect Dis*. 1 août 2006;43(3):331-9.
150. Kumar G, Ahmad S, Taneja A, Patel J, Guddati AK, Nanchal R, et al. Severe Sepsis in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients*. *Crit Care Med*. févr 2015;43(2):411.
151. Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, Alexander BD, Anaissie EJ, Walsh TJ, et al. Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, 2001–2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis*. 15 avr 2010;50(8):1091-100.
152. Kolb-Mäurer A, Wilhelm M, Weissinger F, Bröcker E-B, Goebel W. Interaction of human hematopoietic stem cells with bacterial pathogens. *Blood*. 15 nov 2002;100(10):3703-9.
153. Baldridge MT, King KY, Boles NC, Weksberg DC, Goodell MA. Quiescent hematopoietic stem cells are activated by IFN-gamma in response to chronic infection. *Nature*. 10 juin 2010;465(7299):793-7.
154. Kolb-Mäurer A, Weissinger F, Kurzai O, Mäurer M, Wilhelm M, Goebel W. Bacterial infection of human hematopoietic stem cells induces monocytic differentiation. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1 mars 2004;40(2):147-53.

155. Rodriguez S, Chora A, Goumnerov B, Mumaw C, Goebel WS, Fernandez L, et al. Dysfunctional expansion of hematopoietic stem cells and block of myeloid differentiation in lethal sepsis. *Blood*. 5 nov 2009;114(19):4064-76.
156. Scumpia PO, Kelly-Scumpia KM, Delano MJ, Weinstein JS, Cuenca AG, Al-Quran S, et al. Cutting Edge: Bacterial Infection Induces Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Expansion in the Absence of TLR Signaling. *J Immunol*. 1 mars 2010;184(5):2247-51.
157. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. déc 2013;13(12):862-74.
158. Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, et al. Immunosuppression in Patients Who Die of Sepsis and Multiple Organ Failure. *JAMA*. 21 déc 2011;306(23):2594-605.
159. Bruin AM de, Voermans C, Nolte MA. Impact of interferon- γ on hematopoiesis. *Blood*. 16 oct 2014;124(16):2479-86.
160. Lin F, Karwan M, Saleh B, Hodge DL, Chan T, Boelte KC, et al. IFN- γ causes aplastic anemia by altering hematopoietic stem/progenitor cell composition and disrupting lineage differentiation. *Blood*. 11 déc 2014;124(25):3699-708.
161. Geissler K, Tricot G, Leemhuis T, Walker E, Broxmeyer HE. Differentiation-inducing effect of recombinant human tumor necrosis factor alpha and gamma-interferon in vitro on blast cells from patients with acute myeloid leukemia and myeloid blast crisis of chronic myeloid leukemia. *Cancer Res*. 1 juin 1989;49(11):3057-62.
162. Berthon C, Driss V, Liu J, Kuranda K, Leleu X, Jouy N, et al. In acute myeloid leukemia, B7-H1 (PD-L1) protection of blasts from cytotoxic T cells is induced by TLR ligands and interferon-gamma and can be reversed using MEK inhibitors. *Cancer Immunol Immunother*. 1 déc 2010;59(12):1839-49.
163. Folgiero V, Goffredo BM, Filippini P, Masetti R, Bonanno G, Caruso R, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) activity in leukemia blasts correlates with poor outcome in childhood acute myeloid leukemia. *Oncotarget*. 30 avr 2014;5(8):2052-64.
164. Beadling C, Slifka MK. How do viral infections predispose patients to bacterial infections? *Curr Opin Infect Dis*. juin 2004;17(3):185.
165. Sloand E, Kim S, Maciejewski JP, Tisdale J, Follmann D, Young NS. Intracellular interferon-gamma in circulating and marrow T cells detected by flow cytometry and the response to immunosuppressive therapy in patients with aplastic anemia. *Blood*. 15 août 2002;100(4):1185-91.
166. Zeng W, Miyazato A, Chen G, Kajigaya S, Young NS, Maciejewski JP. Interferon-gamma-induced gene expression in CD34 cells: identification of pathologic cytokine-specific signature profiles. *Blood*. 1 janv 2006;107(1):167-75.
167. Martino R, Maertens J, Bretagne S, Rovira M, Deconinck E, Ullmann AJ, et al. Toxoplasmosis after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Clin Infect Dis*. 15 nov 2000;31(5):1188-94.

168. Gajurel K, Dhakal R, Montoya JG. Toxoplasma prophylaxis in haematopoietic cell transplant recipients: a review of the literature and recommendations. *Curr Opin Infect Dis.* août 2015;28(4):283.
169. Mele A, Paterson PJ, Prentice HG, Leoni P, Kibbler CC. Toxoplasmosis in bone marrow transplantation: a report of two cases and systematic review of the literature. *Bone Marrow Transplant.* avr 2002;29(8):691-8.
170. Goebel WS, Conway JH, Faught P, Vakili ST, Haut PR. Disseminated toxoplasmosis resulting in graft failure in a cord blood stem cell transplant recipient. *Pediatr Blood Cancer.* 1 févr 2007;48(2):222-6.
171. Conrad A, Maréchal ML, Dupont D, Ducastelle-Leprêtre S, Balsat M, Labussière-Wallet H, et al. A matched case-control study of toxoplasmosis after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: still a devastating complication. *Clin Microbiol Infect.* 1 juill 2016;22(7):636-41.
172. Chu J-Q, Jing K-P, Gao X, Li P, Huang R, Niu Y-R, et al. Toxoplasma gondii induces autophagy and apoptosis in human umbilical cord mesenchymal stem cells via downregulation of Mcl-1. *Cell Cycle.* 4 mars 2017;16(5):477-86.
173. Crane GM, Jeffery E, Morrison SJ. Adult haematopoietic stem cell niches. *Nat Rev Immunol.* sept 2017;17(9):573-90.
174. Espinoza JL, Kotecha R, Nakao S. Microbe-Induced Inflammatory Signals Triggering Acquired Bone Marrow Failure Syndromes. *Front Immunol [Internet].* 2017 [cité 26 juill 2018];8. Disponible sur: <http://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.00186/full>
175. Kell DB, Pretorius E. On the translocation of bacteria and their lipopolysaccharides between blood and peripheral locations in chronic, inflammatory diseases: the central roles of LPS and LPS-induced cell death. *Integr Biol.* 2 nov 2015;7(11):1339-77.
176. Rascovan N, Duraisamy R, Desnues C. Metagenomics and the Human Virome in Asymptomatic Individuals. *Annu Rev Microbiol.* 2016;70(1):125-41.
177. Moustafa A, Xie C, Kirkness E, Biggs W, Wong E, Turpaz Y, et al. The blood DNA virome in 8,000 humans. *PLOS Pathog.* 22 mars 2017;13(3):e1006292.
178. Cadwell K. The Virome in Host Health and Disease. *Immunity.* 19 mai 2015;42(5):805-13.
179. Kuriyama T, Takenaka K, Kohno K, Yamauchi T, Daitoku S, Yoshimoto G, et al. Engulfment of hematopoietic stem cells caused by down-regulation of CD47 is critical in the pathogenesis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood.* 8 nov 2012;120(19):4058-67.
180. Abdelkefi A, Jamil WB, Torjman L, Ladeb S, Ksouri H, Lakhal A, et al. Hemophagocytic syndrome after hematopoietic stem cell transplantation: a prospective observational study. *Int J Hematol.* 1 avr 2009;89(3):368-73.
181. Ljungman P, Brand R, Hoek J, de la Camara R, Cordonnier C, Einsele H, et al. Donor Cytomegalovirus Status Influences the Outcome of Allogeneic Stem Cell Transplant: A

Study by the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Clin Infect Dis. 15 août 2014;59(4):473-81.

182. Schmidt-Hieber M, Labopin M, Beelen D, Volin L, Ehninger G, Finke J, et al. CMV serostatus still has an important prognostic impact in de novo acute leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation: a report from the Acute Leukemia Working Party of EBMT. Blood. 7 nov 2013;122(19):3359-64.
183. Shadduck RK, Winkelstein A, Zeigler Z, Lichten J, Goldstein M, Michaels M, et al. Aplastic anemia following infectious mononucleosis: possible immune etiology. Exp Hematol. mai 1979;7(5):264-71.
184. Duffy D, Rouilly V, Libri V, Hasan M, Beitz B, David M, et al. Functional Analysis via Standardized Whole-Blood Stimulation Systems Defines the Boundaries of a Healthy Immune Response to Complex Stimuli. Immunity. 20 mars 2014;40(3):436-50.
185. Bittencourt H, Rocha V, Filion A, Ionescu I, Herr A-L, Garnier F, et al. Granulocyte colony-stimulating factor for poor graft function after allogeneic stem cell transplantation: 3 days of G-CSF identifies long-term responders. Bone Marrow Transplant. sept 2005;36(5):431-5.
186. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 15 août 2016;63(4):e1-60.
187. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 15 févr 2016;62(4):e1-50.
188. Tissot F, Agrawal S, Pagano L, Petrikos G, Groll AH, Skiada A, et al. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. Haematologica. 2017;102(3):433-44.
189. Tortorano AM, Richardson M, Roilides E, Diepeningen A van, Caira M, Munoz P, et al. ESCMID and ECMM joint guidelines on diagnosis and management of halohyphomycosis: *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp. and others. Clin Microbiol Infect. 1 avr 2014;20:27-46.
190. Maschmeyer G, Helweg-Larsen J, Pagano L, Robin C, Cordonnier C, Schellongowski P, et al. ECIL guidelines for treatment of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in non-HIV-infected haematology patients. J Antimicrob Chemother. 1 sept 2016;71(9):2405-13.
191. Emery V, Zuckerman M, Jackson G, Aitken C, Osman H, Pagliuca A, et al. Management of cytomegalovirus infection in haemopoietic stem cell transplantation. Br J Haematol. juill 2013;162(1):25-39.
192. Ljungman P, Camara R de la, Cordonnier C, Einsele H, Engelhard D, Reusser P, et al. Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. Bone Marrow Transplant. août 2008;42(4):227-40.
193. Cesaro S, Dalianis T, Hanssen Rinaldo C, Koskenvuo M, Pegoraro A, Einsele H, et al. ECIL guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated

- haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother.* 1 janv 2018;73(1):12-21.
194. European guidelines for diagnosis and treatment of adenovirus infection in leukemia and stem cell transplantation: summary of ECIL-4 (2011). *Transpl Infect Dis.* 12 nov 2012;14(6):555-63.
 195. Engelhard D, Mohty B, Camara R de la, Cordonnier C, Ljungman P. European guidelines for prevention and management of influenza in hematopoietic stem cell transplantation and leukemia patients: summary of ECIL-4 (2011), on behalf of ECIL, a joint venture of EBMT, EORTC, ICHS, and ELN. *Transpl Infect Dis.* 1 juin 2013;15(3):219-32.
 196. Hirsch HH, Martino R, Ward KN, Boeckh M, Einsele H, Ljungman P. Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4): Guidelines for Diagnosis and Treatment of Human Respiratory Syncytial Virus, Parainfluenza Virus, Metapneumovirus, Rhinovirus, and Coronavirus. *Clin Infect Dis.* 15 janv 2013;56(2):258-66.
 197. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 23 févr 2016;315(8):801-10.

ANNEXES

Type d'infection	Pathogènes
Fongique	<i>Aspergillus</i> spp. (186) <i>Candida</i> spp. (187) Mucormycoses (188) Hyalohyphomycoses (189) <i>Pneumocystis jirovecii</i> (190)
Virale <u>Exclusion :</u> charge virale initiale faible traitée (< 3 log ₁₀ copies/mL pour CMV/HHV-6, < 4 log ₁₀ UI/mL pour EBV, présence de BK virus dans les urines sans symptômes ou sans virémie)	EBV (147) CMV (191,192) HHV-6, -7, -8 (192) BK virus (193) Adénovirus (194) Influenza (195) Virus respiratoires (196)
Bactérienne	Bactériémie sans dysfonction d'organe Selon les critères 2016 SEPSIS 3 (qSOFA et SOFA ≥ 2) : (197) - Sepsis - Choc septique
Sepsis non documenté	Fièvre ($\geq 38,5^{\circ}\text{C}$) non documentée, persistante (≥ 5 jours) malgré une escalade anti-infectieuse appropriée
Parasitaire	Toxoplasmose (167)

Annexe 1 : Tableau des infections recueillies après ACSH

Les critères diagnostiques (donnés en références) sont ceux des dernières conférences de consensus de l'ECIL (regroupant différentes sociétés savantes : l'EBMT, l'EORTC, l'ICHS et l'ELN).

CMV : Cytomégalovirus, EBV : Virus d'Epstein-Barr, HHV : Virus de l'Herpès Humain



Nom, prénom du candidat : ALCAZER Vincent

CONCLUSIONS

La perte de greffon après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) est un événement rare, de très mauvais pronostic. Si plusieurs facteurs de risques tels que le type de maladie sous-jacente, la source cellulaire ou la compatibilité HLA sont clairement identifiés comme pouvant favoriser la perte de greffon, les facteurs de risques infectieux sont quant à eux souvent cités sans jamais avoir fait l'objet d'une étude approfondie démontrant leur lien causal dans cette complication. L'objectif de ma thèse était d'identifier les facteurs de risques infectieux associés aux pertes de greffons de CSH par le biais d'une étude cas-témoin.

2094 dossiers de patients ayant bénéficié d'une allogreffe de CSH entre 2008 et 2017 ont été analysés via la base de données de trois centres hospitalo-universitaires universitaires (Lyon (CHLS), Paris (Saint-Louis) et Toulouse (Incopole)). 88 cas éligibles ont été identifiés, permettant de retenir 49 cas de pertes de greffons analysables. 98 témoins leurs ont été appariés sur des critères précédemment identifiés comme associés à la perte de greffon (type de maladie, source cellulaire, compatibilité HLA, et autant que possible sur le sexe l'âge et la temporalité de la greffe). Les événements infectieux précoces sévères (IPS), définis sur des critères de sévérité (infection menaçant le pronostic vital) et de temporalité (survenant pendant la période entourant la prise de greffe, allant du début du conditionnement J-7 jusqu'à J42 après greffe) ont été recueillis par croisement de la base de données respective de chaque centre avec le dossier médical du patient. D'autres critères démographiques, hématologiques tels que la cellularité, la prophylaxie pour la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) ou la compatibilité ABO et microbiologiques afférentes aux événements infectieux ont également été recueillis.

L'analyse descriptive n'a révélé aucune différence statistiquement significative dans les caractéristiques démographiques et hématologiques des deux groupes, confirmant la qualité de l'appariement. En analyse univariée, les IPS étaient fortement associées aux pertes de greffon (OR 8,54 ; Intervalle de confiance à 95% (IC95%) [3,97-18,82] ; p<0,001). La discordance de sérologie CMV entre le donneur et le receveur (sérodiscordance) était également associée à la perte de greffon (OR 2,17 ; IC95% [1,06 ; 4,42] ; p<0,033), avec une tendance à des greffons de plus faible cellularité chez les cas (p=0,074). En analyse en sous-groupe, les IPS associées à la perte de greffon étaient (par ordre décroissant de risque) : la toxoplasmose (OR 29,44 ; IC95% [1,29-671,65] ; p=0,034), les sepsis prolongés non documentés (OR 24,35 ; IC95% [1-592,07] ; p=0,050), les bactériémies sévères (OR 7,13 ; IC95% CI [1,83-27,70] ; p=0,005), les infections fongiques invasives (OR 5,54 ; IC95% [1,96-15,69] ; p<0,001) et les infections virales (OR 2,69 ; IC95% [1,27-5,71] ; p=0,01). En analyse multivariée, les IPS et la serodiscordance CMV étaient les seuls facteurs de risques indépendants associés à la perte de greffon (OR 7,94 ; IC95% [3,28-19,20] ; p<0,001 et OR 3,20 ; IC95% [1,32-7,76] ; p=0,010, respectivement).

En prenant le décès (toutes causes confondues) comme événement compétitif, l'incidence cumulée à 42 jours après allogreffe des ISP était significativement plus élevée chez les cas par rapport aux témoins (75,5% [64,4-88,6] vs. 26,5% [19,1-36,9] respectivement ; Gray test : p<0,0001). La mortalité cumulée à 5 ans liée aux ISP, avec le décès de cause non infectieuse en événement compétitif, était significativement plus importante chez les cas par rapport aux témoins (75,2% [64,7-82,7] vs. 47,3% [27,2-61,9] respectivement ; Gray test : p=0,002).

ACCOMPAGNER
CRÉER
PARTAGER



La survie globale à 5 ans était significativement plus basse chez les cas (19,7% [5,2-34,2]) par rapport aux témoins (52,9% [42,4-63,4]) (HR 2,475; IC 95% [1,48-4,137] ; p<0,0001). L'analyse en sous-groupe montrait une tendance au pronostic moins favorable pour les cas ayant présentés des ISP comparés à ceux n'en ayant pas fait, sans atteindre la significativité statistique (p=0,306). Concernant les 2^{ème} greffes de sauvetage, les patients ayant bénéficié d'une greffe haplo-identique présentaient une meilleure survie globale que ceux ayant bénéficiés d'une greffe de donneur non apparenté ou de sang de cordon (p=0,023 et p=0,0035 respectivement).

Cette étude fait le point sur les événements infectieux sévères survenant après allogreffe, montrant une forte association entre les ISP et les pertes de greffon. Bien que cette relation ait souvent été suggérée dans d'autres études, cela n'avait jamais été démontré. Par ailleurs, seules les infections virales sont habituellement analysées. Pour la première fois, les autres agents infectieux fongiques, bactériens et parasitaires sont étudiés. Le pronostic très péjoratif des pertes de greffon est en outre confirmé, avec de façon intéressante une meilleure survie globale chez les patients ayant bénéficié d'une greffe haplo-identique en traitement de sauvetage.

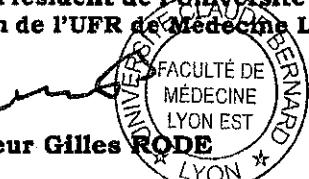
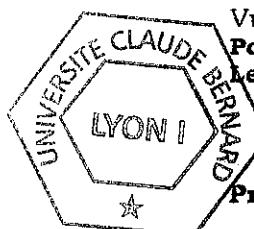
Le Président de la thèse,
Nom et Prénom du Président

Signature

S. Rode P. M.

Vu :
Pour Le Président de l'Université
Le Doyen de l'UFR de Médecine Lyon Est

C. Rode
Professeur Gilles RODE



Vu et permis d'imprimer
Lyon, le 26 JUIN 2018

ACCOMPAGNER
CRÉER
PARTAGER



Vincent ALCAZER – Infections précoces sévères et non prise de greffe de cellules souches hématopoïétiques

RESUME

Les infections sont souvent citées comme facteur de risque de non prise de greffe après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (ACSH). Cependant, aucune étude n'a jamais étudié spécifiquement les événements infectieux précoces sévères (IPS) dans ce contexte ni démontré leur association à la non prise de greffe.

Entre 2008 et 2017, 2094 patients allogreffés dans trois centres (Paris, Lyon, Toulouse) ont été analysés permettant de retenir 49 cas de non prise de greffe. Pour chaque cas, deux témoins ($n=98$ au total) ont été appariés sur des critères déjà connus comme favorisant la non prise de greffe (maladie hématologique, compatibilité HLA, source cellulaire, et autant que possible âge, sexe et temporalité de la greffe).

En analyse univariée, les IPS étaient fortement associées à la perte de greffon (Odds Ratio (OR) 11,04 ; $p<0,0001$) avec par ordre décroissant de risque : les toxoplasmoses (OR 29,44), les sepsis prolongés non documentés (OR 24,35), les infections fongiques invasives (OR 11,13), les sepsis sévères (OR 8,29) et les infections virales (OR 2,84) ($p<0,05$ pour chaque sous-groupe). En analyse multivariée, les IPS, la faible cellularité et la sérodiscordance CMV étaient indépendamment associés à la perte de greffon (OR 14,35 ; $p<0,0001$, OR 4,23 ; $p=0,024$ et OR 2,83 ; $p=0,035$, respectivement). L'incidence cumulée des IPS à 42 jours après ACSH était significativement plus élevée chez les cas par rapport aux témoins (75,5% vs. 26,5% respectivement ; $p<0,0001$). La survie globale à 5 ans était significativement plus basse chez les cas par rapport aux témoins (19,7% vs. 52,9% ; $p<0,0001$). Les patients ayant bénéficié d'une greffe haplo-identique en sauvetage présentaient une survie globale nettement meilleure que ceux ayant bénéficié d'une greffe de donneur non apparenté ou de sang de cordon (100% vs. 30% ; $p=0,023$ et 100% vs. 11,1% ; $p=0,0035$, respectivement).

Nos résultats montrent que les IPS sont fortement associées à la non prise de greffe de CSH. Le pronostic péjoratif des pertes de greffon est en outre confirmé, avec des résultats intéressants concernant la greffe haplo-identique en traitement de sauvetage.

MOTS CLES

Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, non prise de greffe, rejet, perte de greffon, infections précoces sévères

JURY

Président : Monsieur le Professeur Gilles SALLES
Membres : Madame la Professeure Florence ADER
Monsieur le Professeur Régis PEFFAULT DE LATOUR
Monsieur le Professeur Hervé GHESQUIERES
Madame la Doctoresse Hélène LABUSSIERE
Invitée : Madame la Doctoresse Anne HUYNH

DATE DE SOUTENANCE

Mardi 25 Septembre 2018

ADRESSE DE L'AUTEUR

M. Vincent ALCAZER, 24 Rue Lalande 69006 LYON
Vincent.alcazer@chu-lyon.fr