



**PROTOCOLE DE GREFFE DE SANG PLACENTAIRE EN CAS  
D'APLASIE MEDULLAIRE SEVERE CONSTITUTIONNELLE OU  
IDIOPATHIQUE EN ECHEC DE TRAITEMENT  
IMMUNOSUPPRESSEUR**

**« APCORD »**

*Sous l'égide de la Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie cellulaire  
(SFGM-TC) et de la Société Française de Greffe de Moelle Pédiatrique et d'Eurocord*

**Version 1.1 du 05 08 2010**

**Code Promoteur : HAO 09 003 – P090201**

**Promoteur :** Département de la Recherche Clinique et du Développement  
(DRCD) pour l'Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-  
HP)  
Chef de Projet - Valérie MILLUL  
Email : [valerie.millul@sls.aphp.fr](mailto:valerie.millul@sls.aphp.fr)  
Tel : 01 44 84 17 51 / 17 93  
Fax : 01 44 84 17 99

**Investigateur coordonnateur :** Dr REGIS PEFFAULT DE LATOUR  
Service d'Hématologie – Greffe  
Hôpital Saint Louis  
1, avenue Claude Vellefaux, 75010 Paris, France  
Tel : (33) 01 42 38 50 73  
Fax (33) 01 42 49 96 36  
e-mail : [regis.peffaultdelatour@sls.aphp.fr](mailto:regis.peffaultdelatour@sls.aphp.fr)

**Monitoring, Gestion des données, Analyse statistique :**

Dr R. Porcher, Pr S. Chevret  
Attaché de Recherche Clinique (ARC) :  
Mme Samia FEYFANT

Unité de Recherche Clinique Cancérologie du GH Lariboisière Saint Louis  
DBIM  
Hôpital Saint Louis  
1, avenue Claude Vellefaux, 75010 Paris, France  
Tel : (33) 01 42 49 97 42  
Fax (33) 01 42 49 97 45  
e-mails : [nom.prenom@univ-paris-diderot.fr](mailto:nom.prenom@univ-paris-diderot.fr)

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

<b>CSH</b>	Cellules Souches Hématopoïétiques
<b>CIBMTR</b>	The Center for International Blood and Marrow Transplant Research
<b>FGM</b>	France Greffe de Moelle
<b>GVHD</b>	Graft Versus Host Disease
<b>GCSF</b>	Granulocyte-Colony Stimulating Factor
<b>HSV</b>	Herpes Simplex Virus
<b>SAA</b>	Severe Aplastic Anemia
<b>EBMT</b>	The European Group for Blood and Marrow Transplantation
<b>GEC</b>	Groupe d'Etude du Chimérisme
<b>USP</b>	Unité de Sang Placentaire
<b>SFGM-TC</b>	Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire

## RESUME

---

### ETUDE « APCORD »

#### *Protocole de greffe de sang placentaire en cas d'aplasie médullaire sévère constitutionnelle ou idiopathique en échec de traitement immunosuppresseur*

**Investigateur coordonnateur :** Dr Régis Peffault de Latour, Service d'Hématologie-Greffe, Hôpital Saint Louis, Paris. E mail : [regis.peffaultdelatour@sls.aphp.fr](mailto:regis.peffaultdelatour@sls.aphp.fr)

#### **Justification de l'étude**

Les premiers résultats des greffes de sang placentaire dans le cadre d'aplasie médullaire constitutionnelle ou idiopathique en échec de traitement immunosuppresseur doivent être confirmés de manière prospective.

#### **Objectif principal**

Mortalité liée à la procédure évaluée à 1 an (20% définissant la borne de non efficacité)

#### **Objectifs secondaires**

- Evaluer les complications à court terme: non prise, rejet, reconstitution autologue, incidence et sévérité de la GVHD, incidence et sévérité des infections, rechute précoce et mort.
- Evaluer les complications à moyen terme (12 et 24 mois): survie globale, rechute, infections, GVHD chronique, insuffisance médullaire secondaire.

#### **Population de l'étude**

##### ***Critères d'inclusion***

1. Patients âgés de 3 à 55 ans
2. Aplasie médullaire constitutionnelle (avec les critères d'aplasie médullaire sévère) ou acquise en échec après traitement immunosuppresseur
3. Absence de donneur de moelle HLA identique intra familial ou non apparenté (en cas de présence d'un donneur apparenté 9/10, la décision finale est laissée à l'investigateur)
4. Consentement éclairé signé

##### ***Critères de non inclusion***

1. Evolution clonale au moment de la greffe (myélodysplasie, leucémie aiguë)
2. Indice de Karnovsky (âge  $\geq$  18 ans) ou de Lanski (âge  $<$  18 ans)  $<$  60%
3. Contre-indication à l'irradiation corporelle totale (2 Grays)
4. Non affiliation à un régime de sécurité Sociale (bénéficiaire ou ayant droit)

***Critères de sélection des greffons placentaires :*** selon les critères de qualité exigés par FGM

#### **1. Compatibilité HLA**

- i. **Sérologique** pour les antigènes de classe I (A et B)
  - ii. **ET allélique** (4 digits) pour les antigènes de classe II (DR)
    1. Au plus 2 différences HLA entre les deux unités et avec le patient en cas d'aplasie médullaire non constitutionnelle, auquel cas le mismatch HLA sera inférieur ou égal à 1
- 2. Dose cellulaire :** avant décongélation  $> 4 \times 10^7$  **cellules nucléées/Kg**
- i. L'utilisation de deux unités de sang placentaire est possible à condition de respecter les caractéristiques de compatibilité et de dose de cellules, uniquement s'il s'agit d'une aplasie médullaire non constitutionnelle.
- 3. Absence d'anticorps anti HLA** chez le receveur contre l'un des antigènes du greffon

### Nombre de sujets nécessaire

Il faut inclure 26 patients pour pouvoir détecter un taux de survie à un an de 50% avec une puissance supérieure à 90%, en considérant qu'un taux de survie inférieur à 20% indique une non efficacité de l'allogreffe. Le calcul du nombre de sujets à inclure a été basé sur un **schéma de Fleming à une étape**, avec un test unilatéral de niveau 2,5%.

### Traitement

⇒ Conditionnement : Fludarabine 30mg/m<sup>2</sup> de J-6 à J-3, Endoxan 30mg/Kg de J-6 à J-3\*,  
Sérum anti lymphocytaire 3,75mg/Kg de J-3 à J-2, Irradiation corporelle totale (2 Grays) à J-2

**\*la dose d'endoxan est de 10 mg/Kg/J (40 mg/Kg dose totale) pour les aplasies médullaires constitutionnelles**

⇒ Transplantation (JO) : **si deux unités, elles sont passées à 6 heures d'intervalle.**

Prévention de la GVHD: Cislosporine seule débutée à J-3.

**En cas de syndrome Mismatch : Corticothérapie par Prednisone à 1 mg/Kg/j en 3 prises débutée typiquement à J7 jusqu'à J15, puis diminuée progressivement pour être arrêtée à J28.**

⇒ Prévention

- Prévention des réactivations EBV et lymphomes EBV : une injection d'anti CD20 Rituximab (Mabthera®) 150 mg/m<sup>2</sup> est réalisée à J5.
- Prévention des infections et traitement de support : le traitement empirique des infections fongiques est conseillé pendant l'hospitalisation par caspofungine (Cancidas®). L'utilisation de facteurs de croissance type G CSF (Neupogen®) est recommandée à partir de J5. Les autres mesures sont identiques à une greffe habituelle selon les règles du service selon les standards JACIE.

### Période d'étude

5 ans comprenant 3 ans d'inclusion et 2 ans de suivi post-greffe pour chaque patient.

### Méthodologie

Essai de phase II ouvert non contrôlé.

### Critère d'évaluation principal

Mortalité liée à la procédure évaluée à 1 an : si 10 patients sur 26 ou plus sont en vie à un an, le traitement sera jugé acceptable (ce qui correspond à un test exact à 2,5% comparant le taux de survie à 20%). Les résultats seront présentés en termes d'estimation ponctuelle et d'intervalle de confiance exact à 95%.

### Critères d'évaluation secondaires

- Evaluation des complications à court terme: non prise, rejet, reconstitution autologue, incidence et sévérité de la GVHD, incidence et sévérité des infections, mortalité précoce.
- Evaluer les complications à moyen terme (12 et 24 mois): survie globale, rechute, infections, GVHD chronique, insuffisance médullaire secondaire.

**PAGE DE SIGNATURE D'UN PROTOCOLE DE RECHERCHE BIOMEDICALE PAR  
L'INVESTIGATEUR COORDONNATEUR ET LE REPRESENTANT DU  
PROMOTEUR**

Recherche biomédicale N° **HAO 09 003 – P090201**

**Version 1.1 du 05 /08 /2010.**

*Titre : « Protocole de greffe de sang placentaire en cas d'aplasie médullaire sévère constitutionnelle ou idiopathique en échec de traitement immunosuppresseur » - « APCORD »*

L'investigateur coordonnateur :

Date :   12 /   03 /   2010   

**Dr Régis PEFFAULT de LATOUR**

**Signature :** 

Service d'Hématologie - Greffe

Hôpital Saint Louis

1, avenue Claude Vellefaux, 75010 Paris, France

Directeur de la DIRC

Date :    /    /   

**M. Christophe MISSE**

**Signature :**

Assistance publique – Hôpitaux de Paris (AP-HP)

Délégation Interrégionale à la Recherche Clinique (DIRC)

1, Avenue Claude Vellefaux

75010 Paris

NB : cette version correspond au texte du protocole et annexes adressés au CPP et à l'autorité compétente respectivement pour avis et demande d'autorisation et aux autres interlocuteurs de recherche (directeurs d'hôpitaux...).

Si ensuite une autre version est rédigée suite à des modifications, il faut refaire le circuit des signatures afin d'être toujours à jour des versions du protocole actif.

## SOMMAIRE

---

<b>1. INTRODUCTION ET JUSTIFICATION DE LA RECHERCHE, RESULTATS ATTENDUS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>8</b>
A. ALLOGREFFE ET APLASIES MEDULLAIRES .....	8
B. LE SANG PLACENTAIRE COMME SOURCE ALTERNATIVE DE CELLULES .....	9
C. ALLOGREFFE DE SANG PLACENTAIRE ET APLASIES MEDULLAIRES .....	10
<b>2. OBJECTIFS DE LA RECHERCHE .....</b>	<b>12</b>
A. OBJECTIF PRINCIPAL .....	12
B. OBJECTIFS SECONDAIRES .....	12
<b>3. CONCEPTION DE LA RECHERCHE .....</b>	<b>13</b>
A. CRITERES D'EVALUATION .....	13
<b>4. SELECTION DES PERSONNES DE LA RECHERCHE.....</b>	<b>17</b>
A. RECRUTEMENT DES PATIENTS.....	17
B. CRITERES DE SELECTION DES PATIENTS PARTICIPANT A LA RECHERCHE.....	17
C. CRITERES DE SELECTION DES GREFFONS.....	18
<b>5. TRAITEMENTS ADMINISTRES AUX PERSONNES QUI SE PRETENT A LA RECHERCHE ....</b>	<b>20</b>
A. GREFFE.....	20
B. SUIVI POST-GREFFE .....	22
C. PREVENTION, DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT DES INFECTIONS.....	22
<b>6. CRITERES DE JUGEMENT.....</b>	<b>25</b>
A. CRITERE D'EVALUATION PRINCIPAL .....	25
B. CRITERES D'EVALUATION SECONDAIRES .....	25
C. CALENDRIER DE RECUEIL DES PARAMETRES D'EVALUATION.....	25
<b>7. EVALUATION DE LA SECURITE.....</b>	<b>26</b>
A. DESCRIPTION DES PARAMETRES D'EVALUATION DE LA SECURITE.....	26
B. COMITES SPECIFIQUES DE LA RECHERCHE.....	27
C. PROCEDURES MISES EN PLACE EN VUE DE L'ENREGISTREMENT, DE LA NOTIFICATION ET DU SUIVI DES EVENEMENTS INDESIRABLES. ....	27
<b>8. ANALYSE STATISTIQUE .....</b>	<b>31</b>
A. RECUEIL, VALIDATION ET ARCHIVAGE DES DONNEES .....	31
B. NOMBRE DE PATIENTS .....	31
C. ANALYSES STATISTIQUES .....	32
<b>9. DROIT D'ACCES AUX DONNEES ET DOCUMENTS SOURCE .....</b>	<b>33</b>
<b>10. CONTROLE ET ASSURANCE DE LA QUALITE.....</b>	<b>33</b>
A. PROCEDURES DE MONITORING.....	33
B. TRANSCRIPTION DES DONNEES DANS LE CAHIER D'OBSERVATION.....	34
<b>11. CONSIDERATIONS LEGALE ET ETHIQUE.....</b>	<b>35</b>
A. DEMANDE D'AUTORISATION AUPRES DE L'AFSSAPS .....	35
B. DEMANDE D'AVIS AU COMITE DE PROTECTION DES PERSONNES .....	35
C. MODIFICATIONS .....	35
D. DECLARATION CNIL.....	36
E. NOTE D'INFORMATION ET CONSENTEMENT ECLAIRE.....	37
F. RAPPORT FINAL DE LA RECHERCHE .....	37

<b>12.</b>	<b>ASSURANCE ET ENGAGEMENT SCIENTIFIQUE.....</b>	<b>37</b>
A.	ASSURANCE.....	37
B.	ENGAGEMENT SCIENTIFIQUE .....	38
<b>13.</b>	<b>REGLES RELATIVES A LA PUBLICATION.....</b>	<b>38</b>
<b>14.</b>	<b>LISTE DES ANNEXES.....</b>	<b>38</b>
A.	REFERENCES.....	39
B.	ANNEXE 1 : REACTION AIGUE DU GREFFON CONTRE L'HOTE.....	43
C.	ANNEXE 2 : REACTION CHRONIQUE DU GREFFON CONTRE L'HOTE.....	44
D.	ANNEXE 3 : DEFINITIONS DES INFECTIONS FUNGIQUES .....	47
E.	ANNEXE 4 : SCORE GREFIG : SCORE DE SEVERITE DES INFECTIONS .....	48
F.	ANNEXE 5: ECHELLE DE KARNOVSKY .....	50
G.	ANNEXE 6: CHIMERISME.....	50
H.	ANNEXE 7: RECONSTITUTION IMMUNITAIRE.....	51
I.	ANNEXE 8: SCHEMA GENERAL DE L'ETUDE.....	52
J.	ANNEXE 9: LISTE DES CENTRES PARTICIPANTS.....	53
K.	ANNEXE 10: CHOIX DU GREFFON .....	56
L.	ANNEXE 11: SUIVI POST-GREFFE .....	57
M.	ANNEXE 12: CONDITIONNEMENTS .....	58
N.	ANNEXE 13: PREVENTION ET TRAITEMENT DES INFECTIONS .....	59
O.	ANNEXE 14 : FORMULAIRE DE DECLARATION DES EIGS .....	60
P.	ANNEXE 15 : GRILLE DE CLASSIFICATION DES EIG .....	63

## **1. Introduction et justification de la recherche, résultats attendus et perspectives**

### **A. Allogreffe et aplasies médullaires**

Il faut distinguer aplasie médullaire idiopathique et aplasie médullaire congénitale

#### **1. Allogreffe et aplasie médullaire idiopathique**

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est le seul traitement curateur de l'aplasie médullaire idiopathique mais peut être responsable d'un taux non négligeable de morbidité et de mortalité. Les études rétrospectives ont montré une amélioration de la survie après allogreffe depuis le milieu des années 1970(1-3). Le schéma initial de prise en charge des aplasies médullaires idiopathiques sévères ou très sévères est à l'heure actuelle bien établi(4-6). L'allogreffe est indiquée en première ligne de traitement chez les sujets de moins de 40 ans disposant d'un donneur HLA-géno-identique dans la fratrie. La survie à long terme s'est améliorée depuis le milieu des années 70 (1) et varie actuellement entre 75 et 90% selon les études(3, 4, 7). La source de cellules doit être de la moelle(8), le conditionnement recommandé associe sérum anti-lymphocytaire (SAL) et cyclophosphamide (à la dose de 200mg/kg)(4) et la prophylaxie de la GVHD, ciclosporine et methotrexate(7, 9, 10). En l'absence de donneur géno-identique, les recommandations actuelles préconisent un traitement immunosuppresseur par SAL Ciclosporine(4). En cas d'échec de ce traitement, on discute alors la réalisation d'une deuxième cure de SAL Ciclosporine ou une allogreffe à partir de donneur non apparenté.

On note une nette amélioration de la survie des greffes non apparentées depuis la fin des années 1990, avec des survies à long terme de l'ordre de 50%, remettant en cause la place de l'allogreffe non apparentée dans la stratégie actuelle de traitement de l'aplasie médullaire idiopathique, en particulier chez les sujets jeunes(2, 7, 9, 11-14). Cette amélioration de la survie est à rapporter en partie à une amélioration des techniques de typage HLA, permettant d'améliorer la compatibilité HLA entre donneur et receveur(13, 14). Sur le plan du conditionnement, il a été démontré qu'un conditionnement par cyclophosphamide et SAL était insuffisant, et il convient donc de discuter l'ajout de fludarabine ou de faibles doses d'irradiation(2, 7, 11, 13). En cas d'échec ou de rechute après traitement immunosuppresseur, l'indication d'allogreffe à partir d'un donneur non apparenté 10/10 chez le patient jeune (moins de 20 ans) ne pose guère d'état d'âme compte tenu des résultats récents(2, 11, 13, 14). Chez les patients âgés de plus de 20 ans et en très bon état général, l'allogreffe à partir d'un donneur non apparenté 10/10 est envisagée après échec de 2 cures de SAL ciclosporine. Ces recommandations ont d'ailleurs été validées très récemment lors du dernier congrès européen d'allogreffe (EBMT 2008) par le groupe de travail sur l'aplasie médullaire.

## **2. Allogreffe et aplasie médullaire constitutionnelle**

Les maladies génétiques responsables d'aplasie médullaire sont des pathologies rares, parfois de diagnostic difficile, qu'il faut savoir évoquer et rechercher de façon systématique chez l'enfant et l'adulte jeune (Revue détaillée (15-17)). La Maladie de Fanconi (MF) et la Dyskératose Congénitale (DKC) ont la particularité d'être fréquemment responsables de tableaux cliniques d'aplasie/hypoplasie médullaire.

Concernant la maladie de Fanconi, le risque de développer une hémopathie myéloïde clonale est d'environ 90% à 40 ans et 90% des décès sont liés à une hémopathie. L'espérance de vie se situe entre 16 et 23 ans. Le pronostic sombre de cette maladie est hématologique(18). Le pronostic des DKC n'est guère meilleur, l'évolution naturelle étant émaillée de complications à type de cancers épithéliaux, fibroses pulmonaires et hémopathies. En l'absence de greffe, les seuls traitements proposés pour ces deux maladies sont symptomatiques avec facteurs de croissance, support transfusionnel et androgènes. Le seul traitement curatif hématologique est donc la greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques. Concernant la MF, le développement de conditionnements adaptés à l'extrême sensibilité de ces patients aux agents intercalants et aux radiations ionisantes a permis une nette amélioration des résultats de ces greffes (19). Ainsi lorsqu'un greffon géno-identique (intrafamilial) est disponible, la survie globale est désormais supérieure à 70%(20, 21). En cas de greffe non apparentée, la survie globale de ces malades reste de l'ordre de 30%(22). Une étude récente du CIBMTR préconise dans des situations de greffe non apparentée pour MF une indication précoce de greffe avec des conditionnements à base de fludarabine et une T-déplétion(23). Concernant la DKC, la littérature est peu abondante sur le sujet et les résultats restent peu enthousiasmants du fait de complications majeures à long terme incluant vascularites et fibroses pulmonaires(24).

### **B. Le sang placentaire comme source alternative de cellules**

La première greffe de sang placentaire a été faite en 1988(25). Depuis, plusieurs études ont validé l'approche en définissant les critères de qualité du greffon(26, 27), et en comparant les résultats de cette modalité de greffe avec ceux de greffes non apparentées de donneur volontaire dans les mêmes indications(28, 29). Le sang placentaire est ainsi établi comme une source alternative de cellules souches chez les patients ne disposant pas de donneur intrafamilial ou volontaire(30, 31). Peu de données cependant concernent l'adulte et ce n'est que récemment qu'une extension des indications chez l'adulte a eu lieu, notamment par l'association de deux unités de sang placentaire, permettant d'obtenir le nombre de cellules suffisant(32). Deux facteurs ont été rapidement établis comme fondamentaux dans le bénéfice des greffes de sang placentaire : la cellularité et la compatibilité HLA. La quantité minimale

de cellules infusées a été clairement établie(26, 27). Une relation à l'identité HLA était suggérée : plus la disparité HLA est grande plus la quantité de cellules doit être élevée(26, 33). Contrairement aux autres greffes de cellules souches hématopoïétiques, un certain degré de disparité HLA est en effet possible du fait de la naïveté du système immunitaire fœtal(34, 35). La détermination des antigènes est sérologique pour la classe I (antigènes A et B) et allélique pour la classe II (DR). Une compatibilité 4/6 est ainsi acceptable(27). Le respect de la compatibilité dans l'une des deux classes est cependant conseillé. Plus récemment l'équipe de Minneapolis redéfinissait les caractéristiques des greffons en montrant que la prise et l'efficacité thérapeutique étaient dépendantes de la compatibilité ET de la cellularité, justifiant le développement de greffes de sang placentaire avec deux unités plutôt qu'une si nécessaire(36).

### **C. Allogreffe de sang placentaire et aplasies médullaires**

Cette question se pose en cas d'aplasie médullaire acquise réfractaire ou en rechute après 2 traitements immunosuppresseurs sans donneur non apparenté. En cas d'aplasie constitutionnelle et en l'absence de donneur intra-familial, là encore l'allogreffe à partir de sang placentaire est la seule alternative.

Très peu de publications sont disponibles sur le sujet. Une équipe chinoise rapporte leur expérience sur 9 patients ayant présenté une aplasie médullaire sévère idiopathique entre 1998 et 2004, allogreffés à partir d'1 (n=3) ou de 2 unités de sang placentaire (n=6)(37, 38). Tous les patients ont eu un premier traitement immunosuppresseur ; le délai entre le diagnostic et la greffe est de 4 mois. Le conditionnement associe cyclophosphamide et sérum anti lymphocytaire. La prophylaxie de la GVHD est assurée par ciclosporine et methotrexate. L'âge médian est de 25 ans. Il n'y a pas d'information sur le taux de GVHD aiguë et une GVHD chronique est observée dans 40% des cas. Les résultats sont bons puisque la survie globale est de 78% avec un suivi médian de 32 mois. L'équipe de San Antonio rapporte des résultats similaires chez 9 enfants ayant une SAA avec une survie globale de 78% à 34 mois(39). Une équipe japonaise rapporte son expérience chez 31 patients, adultes, présentant aussi une SAA. L'incidence cumulée de GVHD aiguë et chronique est de 17% et 20%, respectivement. La survie globale est de 40% à 2 ans. Sur les 18 décès observés, près de la moitié sont dus à une non prise (n=7). Cette étude met ainsi en évidence l'importance d'un conditionnement associant une faible dose d'irradiation, du cyclophosphamide et de la fludarabine(40).

Concernant les aplasies constitutionnelles, Eurocord, en 2007, a rapporté 93 MF allogreffés à partir de sang placentaire non apparenté. L'incidence de GVHD aiguë et chronique étaient de 32% et 16%, respectivement. La survie globale est de l'ordre de 40%. Les facteurs associés à un meilleur pronostic étaient la dose de cellules (élevée), un conditionnement à base de fludarabine et le fait que le receveur n'a jamais été immunisé contre le cytomégalo virus(41). Nous avons rapporté notre expérience concernant 14 malades dont 9 malades avec des aplasies médullaires constitutionnelles, allogreffés entre

2003 et 2007 à l'Hôpital Saint Louis. Il s'agit d'adultes (n=8) et d'enfants (n=6) présentant des aplasies très sévères (plus de 20 transfusions en culots globulaires et en plaquettes, délai médian entre le diagnostic et la greffe de plus de 30 mois et au moins deux traitements immunosuppresseurs pour les aplasies idiopathiques). Tous les patients ont reçu deux unités de sang placentaire. Les conditionnements étaient très hétérogènes ainsi que la prophylaxie de la GVHD. Les résultats sont cohérents avec la littérature avec une survie de 80% pour les SAA et 33% pour les aplasies constitutionnelles après un suivi moyen de 23 mois. Sept patients sont décédés dont 4 d'infections(42). En revanche, nous avons observé un taux important de GVHD avec 2 unités en comparaison avec l'étude princeps de 93 malades, raison pour laquelle l'allogreffe de sang placentaire doit être faite à partir d'une seule unité avec au plus 1 différence HLA chez ce type de malade.

Ainsi, ces premiers résultats encourageants suggèrent d'étendre cette procédure de manière homogène à l'ensemble des patients présentant une aplasie idiopathique sévère en échec de traitement immunosuppresseur et aux patients présentant une aplasie médullaire constitutionnelle. L'objectif primaire est d'étudier la faisabilité (toxicité et complications). Sur le plan statistique, on entend par faisabilité une survie globale de l'ordre de 50% (rejet à 20%). Nous évaluerons les complications à court terme: non prise, rejet, reconstitution autologue, incidence et sévérité de la GVHD, incidence et sévérité des infections, rechute précoce et mort. Les complications à moyen terme (1 an) seront aussi appréhendées: survie globale, rechute, survie sans rechute, infections, GVHD chronique, insuffisance médullaire secondaire.

## **2. Objectifs de la recherche**

### **A. Objectif principal**

Evaluer l'efficacité en termes de mortalité liée à la procédure évaluée à 1 an (20% définissant la borne de non efficacité) des patients présentant **une aplasie médullaire** sévère constitutionnelle ou idiopathique en échec de traitement immunosuppresseur, **allogreffés à partir de sang placentaire**.

### **B. Objectifs secondaires**

#### **B. 1. Evaluer les complications à court terme (3 premiers mois)**

- Non prise, rejet ou reconstitution autologue
- Incidence et sévérité des réactions aiguës et chroniques du greffon contre l'hôte
- Incidence et sévérité des infections
- Mortalité précoce
- Evaluation médico-économique

#### **B. 2. Evaluer les complications à moyen terme (12 et 24 mois)**

- Survie globale
- Maladie du greffon contre l'hôte chronique
- Incidence et sévérité des infections
- Insuffisance médullaire secondaire

#### **C. 3. Evaluer le chimérisme et la reconstitution immunitaire**

### 3. Conception de la recherche

#### A. Critères d'évaluation

##### *1. Critère d'évaluation principal*

**Le critère d'évaluation principal est la mortalité liée à la procédure évaluée à 1 an.**

##### *2. Critères d'évaluation secondaires*

###### Critères d'évaluation de la toxicité de la procédure (jusqu'à 2 ans)

- Non prise, rejet ou reconstitution autologue
- Survenue de GVHD aiguë (annexe 1) ou chronique (annexe 2)
- Incidence et sévérité des infections. Les infections seront définies selon les critères de l'EBMT (Cordonnier, [www.ebmt.org](http://www.ebmt.org)), incluant les définitions de l'EORTC-MSG pour les infections fongiques(43) (annexe 3). La sévérité des infections sera enregistrée selon les grades GREFIG(44) (annexe 4)
- Mortalité liée à la greffe à 100 jours
- Survie globale (sur la durée de suivi maximale de quatre ans)
- Toxicité non imputable à la GVHD ou à l'infection classée selon les grades de toxicité de l'OMS et retentissement sur l'état général par l'Echelle de Karnovsky ou de Lanski (Annexe 5)
- Evaluation médico-économique des 3 premiers mois

###### Critères d'évaluation biologique

- Chimérisme : le chimérisme sera effectué selon les pratiques en cours dans le centre pratiquant l'allogreffe. Les dates recommandées sont J30 (en pratique, lors de la sortie d'aplasie), J100, 12 mois et 2 ans et en cas de cytopénies secondaires. L'objectif est double : suivre un chimérisme mixte classique dans cette pathologie guidant l'immunosuppression et évaluer en cas de double greffe de sang placentaire lequel des deux cordons est responsable de l'hématopoïèse chez le receveur. Les prélèvements du receveur et du (des) greffon(s) placentaire(s) avant la greffe servent de référence (Annexe 6).

- Reconstitution immunitaire : elle consistera en des phénotypes lymphocytaires itératifs selon les pratiques en cours dans le centre pratiquant l'allogreffe. **Le but de ces examens est une évaluation simple des différentes sous populations lymphocytaires afin de pouvoir appréhender objectivement le déficit immunitaire potentiel chez ces patients ayant pour source de cellules du sang placentaire.** Les dates et les phénotypes recommandés sont 3, 6, 12 et 24 mois (Annexe 7). Une électrophorèse des protides (dosage des gammaglobulines) est recommandée à 3, 6, 12 et 24 mois.

## **B. Plan expérimental**

### ***1. Choix du plan expérimental et justification***

Le pronostic des patients présentant une aplasie médullaire idiopathique sévère sans donneur intra-familial et en échec de traitement immunosuppresseur ou ceux présentant une aplasie constitutionnelle sévère sans donneur intra-familial est catastrophique en l'absence d'allogreffe de moelle. La chance que possède chaque patient d'origine caucasienne de trouver un donneur compatible dans les fichiers de donneurs volontaires avec une compatibilité allélique 10/10 (seule acceptable dans ce contexte) est d'environ 30%. D'autre part, un patient d'une autre origine ethnique a une chance beaucoup plus faible de trouver un donneur volontaire. Les minorités ethniques sont très mal représentées dans les banques de donneurs volontaires et le développement de banques spécifiques de donneurs volontaires dans les communautés sous-représentées se heurte souvent à des blocages culturels. Le sang placentaire apparaît ainsi être une alternative puisque la compatibilité moins exigeante sur le plan du système HLA offre plus de chance de trouver un (deux) sang(s) placentaire(s) compatible(s).

Le but de cette étude est d'évaluer ce type de greffe par un essai de phase II non contrôlé. Cette étude est applicable chez l'enfant comme chez l'adulte. Chaque patient inclus sera suivi au minimum jusqu'à 12 mois de la greffe ou jusqu'au décès, et au maximum 48 mois après la greffe.

*Le schéma expérimental choisi est un schéma de Fleming en une étape qui permet de détecter de façon précoce, avec un minimum de sujets, une stratégie à l'efficacité suffisante pour justifier une étude de phase III. L'objectif est de minimiser le risque d'éliminer une stratégie active ou a contrario, de rejeter rapidement des stratégies insuffisamment actives et d'éviter ainsi d'y exposer inutilement des patients. Enfin, eu égard au critère de jugement principal (mortalité à 1 an), une seule étape a été retenue.*

### ***2. Déroulement de l'étude***

Le déroulement de l'étude est schématisé en annexe 8. L'étude sera réalisée dans les centres greffeurs participants et avec la collaboration active des services prenant en charge les patients atteints d'aplasies médullaires idiopathique ou constitutionnelle (annexe 9). Le schéma proposé est celui d'une information première du patient sur le bénéfice attendu de l'allogreffe pour sa pathologie. Le caractère particulier de l'étude sur le sang placentaire sera expliqué. Les risques et les contraintes potentiels ainsi que les bénéfices attendus de la greffe de sang placentaire seront exposés. Le patient aura au moins deux semaines de délai de réflexion avant de signer son consentement. L'ensemble des examens ou procédures de ce protocole sont conformes aux recommandations JACIE.

### Avant la greffe : bilan pré-greffe

Dès lors que les patients présentent une indication d'allogreffe (Cf critères d'inclusion IV, B., 1.), un typage HLA est effectué. Si aucun donneur volontaire 10/10 n'a pu être identifié, une recherche de greffon placentaire est effectuée. Lors d'une visite de consultation dans le cadre du suivi du patient, un bilan initial permettant la vérification des critères d'éligibilité sera effectué et l'information donnée au patient. La consultation pré-greffe sera organisée de telle sorte que l'inclusion puisse se faire dans les 6 semaines précédant la date programmée de la greffe. Les patients seront suivis par le centre greffeur dès l'inclusion. Le bilan pré-greffe sera effectué selon la législation en vigueur et les procédures du centre. En plus des sérologies et examens habituels, le patient aura un prélèvement sanguin pour l'étude ultérieure du chimérisme, selon les pratiques locales en vigueur. Après signature du consentement et validation des critères d'éligibilité, les patients seront inclus.

### Suite du bilan pré-greffe

La prise en charge du patient sera faite selon les règles de bonnes pratiques en thérapie cellulaire et les habitudes du centre. Un myélogramme sera effectué dans les 6 semaines qui précèdent la greffe avec analyse du caryotype afin de vérifier l'absence d'évolution clonale. ***En cas de myélodysplasie ou de leucémie aiguë, le patient ne peut être inclus dans cette étude.***

### Greffe

La greffe et la prise en charge du greffon seront réalisées selon les modalités habituelles de chaque centre. Le choix du greffon repose sur un algorithme défini *en annexe 10*.

### Suivi après la greffe

Le suivi post-greffe s'effectuera selon des modalités comparables dans chaque centre et qui sont schématisées en *annexe 11* et détaillées ci-dessous. L'étude du chimérisme et la reconstitution immunitaire sont laissés à la discrétion des centres investigateurs. Toutefois, des recommandations sont jointes (*annexes 6, 7 et 11*).

### ***3. Organisation logistique***

L'enregistrement des patients aura lieu de façon centralisée auprès du Département de Biostatistique et Informatique Médicale (DBIM, Dr R Porcher, Pr S Chevret) par l'investigateur de chaque centre.

Une demande d'inclusion, comportant la validation des critères d'éligibilité et la garantie du recueil du consentement signé du patient sera transmise par le centre investigateur par fax au DBIM (fax : **01 42 49 97 45**).

Il sera alors attribué au patient un numéro d'anonymat dans l'étude, et adressé au centre le calendrier prévisionnel des visites. L'ARC enverra des messages de rappel 8 à 10 jours avant chaque visite et/ou prélèvement biologique du protocole. Le clinicien greffeur confirmera, par fax au DBIM le début du conditionnement (entre J-6 et J-2) (Fax de début de conditionnement au 01 42 49 97 45). En cas de non réalisation de la greffe, le clinicien préviendra le DBIM dans les 48 heures par téléphone (01 42 49 97 45) et fax de « non réalisation de la greffe ».

Les données cliniques et biologiques seront ainsi collectées dans un cahier d'observation standardisé (CRF). Avant la greffe, ces données correspondent au formulaire Med (Minimal Essential Data) A et B aplasie médullaire du système PROMISE, système de collection électronique des données du registre européen de l'European Blood and Marrow Transplantation (EBMT) auquel adhère la Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGMTC). Après la greffe, les caractéristiques biologiques du greffon ainsi que les données cliniques des patients seront collectées dans les CRF. Sous la responsabilité de l'investigateur, l'ARC en charge de l'étude participera à la vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion des patients, et au respect des bonnes pratiques cliniques.

## 4. Sélection des personnes de la recherche

### A. Recrutement des patients

Les patients seront proposés au centre d'allogreffe selon les modalités habituelles de recrutement. Les patients seront recrutés dans les services d'hématologie pédiatrique et adulte par les hématologistes ayant en charge des aplasies médullaires, qu'elles soient idiopathiques acquises ou constitutionnelles. Les patients seront adressés au centre de greffe dans les 6 semaines qui précèdent la greffe afin d'organiser le bilan pré-greffe, la vérification des critères d'inclusion et de non inclusion. Les patients seront inclus par les investigateurs des centres de greffe.

### B. Critères de sélection des patients participant à la recherche

Un total de **26 sujets** sera inclus sur 3 ans.

#### ***B1. Critères d'inclusion des patients***

TOUS les 4 doivent être respectés :

***1. Age: de 3 à 55 ans***

***2. Aplasie médullaire présentant une indication d'allogreffe de moelle:***

- *Aplasia médullaire constitutionnelle* : les critères retenus pour l'indication d'allogreffe chez l'enfant et l'adulte sont les critères d'aplasie médullaire sévère (hémoglobine < 8 g/dl, polynucléaires neutrophiles <  $0.5 \times 10^9/l$  et plaquettes <  $20 \times 10^9/l$ ) ou les patients présentant des cytopénies modérées mais transfusés en culots globulaires et/ou en plaquettes.
- *Aplasia médullaire idiopathique acquise*: le patient présentant une aplasie médullaire réfractaire au traitement par SAL et Ciclosporine (aucun critère de réponse à 6 mois) est éligible dans APCORD. Le patient en rechute après traitement immunosuppresseur doit avoir reçu au total au moins deux traitements immunosuppresseurs par SAL et Ciclosporine avant que l'indication d'allogreffe de sang placentaire ne soit proposée.

***3. Absence de donneur de moelle familial ou non apparenté HLA identique***

En cas de présence d'un donneur apparenté 9/10, la décision finale est laissée à l'investigateur

***4. Consentement signé***

## ***B2. Critères de non inclusion des patients***

La présence d'au moins l'un des critères suivants INTERDIT l'inclusion dans l'étude :

1. Evolution clonale au moment de la greffe (myélodysplasie, leucémie aiguë):
2. Echelle de Karnovsky (âge  $\geq$  18 ans) ou de Lanski (âge < 18 ans) < 60%
3. Contre-indication à l'irradiation corporelle totale de 2 Grays
4. Grossesse
5. Non affiliation à un régime de sécurité sociale (bénéficiaire ou ayant droit)

## **C. Critères de sélection des greffons**

L'acquisition des greffons suivra les règles actuelles d'importation des greffons sur le plan des contrôles déterminés par l'AFSAPS. Les banques appartenant au réseau français de banques de sang placentaire ou les banques appartenant au réseau Netcord seront préférées en raison de leurs critères de qualité connus.

Les 3 critères de sélection de greffon sont les suivants :

### ***1. Nombre de cellules avant décongélation***

C'est le premier critère de choix. La cellularité exigée pour la greffe est **de plus de  $4 \times 10^7$ /Kg** cellules nucléées avant décongélation ; on pourra faire appel à une ou deux unités de sang placentaire SAUF en cas d'aplasie médullaire constitutionnelle pour laquelle une seule unité de sang placentaire sera utilisée.

### ***2. Typage HLA***

Le greffon placentaire est défini par sa compatibilité vérifiée sérologiquement sur les antigènes de classe I (A et B) et allélique (4 digits) pour les antigènes de classe II (DR).

### ***3. Absence d'immunisation du receveur***

Le choix définitif se fera après avoir étudié les anticorps anti HLA du receveur afin d'être sûr qu'il n'y a pas d'immunisation du receveur contre un des antigènes HLA des donneurs.

Enfin, on évitera les incompatibilités majeures ABO

L'algorithme de choix concernant les aplasies médullaires idiopathiques est résumé ci-dessous (Voir Annexe 10):

1. En priorité un seul cordon contenant plus de  $4 \times 10^7$  cellules nucléées totales par Kg de poids du receveur avant décongélation quelle que soit la différence HLA en privilégiant la meilleure compatibilité : 6/6, à défaut 5/6, à défaut 4/6 si les deux différences sont dans la même classe.
2. Un patient présentant une aplasie médullaire idiopathique acquise pourra recevoir deux cordons si un seul n'est pas suffisant. La compatibilité entre les deux greffons et entre

chaque greffon et le receveur doit respecter les mêmes règles : 6/6, à défaut 5/6, à défaut 4/6 si les deux différences sont dans la même classe. Un greffon unique admettant une compatibilité 4/6 portant sur un antigène dans les deux classes peut aussi être proposé.

3. Un patient présentant une aplasie médullaire constitutionnelle ne pourra recevoir qu'une seule unité de sang placentaire, 6/6 ou à défaut 5/6, contenant plus de  $4 \times 10^7$  cellules nucléées totales par Kg

Après vérification des critères d'inclusion et de non inclusion, et après sélection d'un greffon valide, le sujet sera inclus et un fax de confirmation d'inclusion adressé au DBIM le jour de la greffe (J0).  
En absence de greffe, un Formulaire de Non Greffe sera faxé auprès du DBIM, précisant les raisons : choc septique, syndrome hémorragique, évolution clonale, ou autre cause.

## 5. Traitements administrés aux personnes qui se prêtent à la recherche

### A. Greffe

#### 1. Conditionnement

Le conditionnement consiste en l'association de (annexe12) :

- **Cyclophosphamide\*** : 30 mg/Kg de J-6 à J-3 (dans 250 ml de sérum glucosé sur 3 heures). On maintiendra une hydratation d'au moins 4 l/m<sup>2</sup> de sérum glucosé avec 6g de NaCl/l et on réalisera une protection vésicale par uromitexan (dose quotidienne double de la dose de cyclophosphamide à répartir en 4 prises).

*\*La dose de cyclophosphamide sera diminuée à 10mg/Kg de J-6 à J-3 en cas d'aplasie médullaire constitutionnelle.*

- **Fludarabine** 30 mg/m<sup>2</sup> de J-6 à J-3 (dans 100 ml de sérum physiologique en 30 minutes).

- **Sérum Antilymphocytaire** (Thymoglobuline, Genzyme) 3,75mg/Kg de J-3 à J-2 (dans 50 ml de sérum physiologique en 12 heures). La prémédication est celle utilisée habituellement dans les centres.

- **Irradiation corporelle totale** de 2 Grays à J-1 (délivrée à 6-7 cGy/mn depuis 2 sources de Co 60 ou une dose équivalente délivrée par un accélérateur linéaire).

#### 2. Greffon

L'unité de sang placentaire sera injectée à J0. En cas d'allogreffe à partir de 2 unités de sang placentaire, l'USP transfusée en premier sera la plus riche en cellules nucléées et sera appelée USP n°1 ; l'USP transfusée en second sera appelée USP n°2.

#### 3. Prévention des réactivations EBV et lymphome post-transplantation

Compte tenu du risque de réactivation EBV et de lymphome post transplantation du fait de l'immunosuppression importante du conditionnement, une dose unique d'anti-CD20 Rituximab (Mabthera) 150 mg/m<sup>2</sup> sera effectuée à J5. Cette attitude est justifiée du fait des résultats très récents non encore publiés du groupe de travail européen sur l'aplasie médullaire de ce type de conditionnement à partir de donneur non apparenté, non sang placentaire dans la même indication. La surveillance et le traitement préventif vis-à-vis de l'EBV sont détaillés ci-dessous. Néanmoins, cette attitude est réservée aux seuls patients séropositifs pour l'EBV.

#### ***4. Immunosuppression***

La prophylaxie de la GVHD est assurée par l'association de

- Cyclosporine A (Néoral®) : la dose est de 3mg/kg IV, divisée en 2 prises par jour, débutée à j-3. Le taux résiduel de cyclosporine dans le sang sera ajusté si nécessaire pour maintenir des taux de # 300 ng/ml. La dose ne sera diminuée dans les 3 premiers mois qu'en cas de toxicité, ou si les taux sont supérieurs à 700ng/ml en l'absence de toxicité. La cyclosporine sera progressivement diminuée en fonction de la GVHD et de la tolérance **entre 6 et 9 mois pour être arrêtée entre 9 et 12 mois après la greffe**. En cas de chimérisme mixte, il est conseillé de réaugmenter la cyclosporine en fonction de la tolérance.

- Le traitement de la GVHD est assuré par

Les critères de définition et de sévérité de la GVHD (aiguë ou chronique) figurent en annexe 1 et 2. Il est recommandé de traiter la GVHD de la façon suivante :

- **GVHD aiguë** : un traitement par prednisone à 2 mg/Kg/j est préconisé. En cas de GVHD cortico-sensible, ce traitement est poursuivi à la même dose pendant une durée totale de 14 jours puis diminué progressivement sur 6 à 8 semaines. La cortico-résistance est définie par une progression des lésions dans les 3 premiers jours, une stabilité des lésions à J7 ou l'absence de rémission complète à J14. Cela implique une deuxième ligne de traitement qui est laissée à l'initiative de l'investigateur.

- **GVHD chronique** : un traitement par prednisone à 1-1,5 mg/Kg/j et cyclosporine per os à 4 mg/Kg/j est préconisé pendant 14 jours puis alternance prednisone/cyclosporine selon le schéma de Sullivan *et al*(45). Au-delà de la première ligne de traitement, le traitement de la GVHD chronique est laissé à l'initiative de l'investigateur.

#### ***5. Facteurs de croissance***

Filgrastim 5 µg/Kg/j à partir de J5 en perfusion intra-veineuse ou en injection sous-cutanée, jusqu'à obtention de 5000 leucocytes/mm<sup>3</sup> et espacé tous les deux jours jusqu'au maintien de 5000 leucocytes/mm<sup>3</sup> deux jours consécutifs.

#### ***6. Syndrome Mismatch***

Un mismatch syndrome est possible typiquement à J7 associant fièvre, érythème alors que le patient est toujours en aplasie, avec dans les cas sévères une hypotension et une détresse respiratoire. Il est alors fondamental d'éliminer un problème infectieux. En l'absence de causes infectieuses, on débutera une corticothérapie par prednisone à 1 mg/Kg/j en 3 prises qui sera poursuivie jusqu'à J15, puis diminuée progressivement pour être arrêtée à J28.

## B. Suivi post-greffe

Le suivi post-greffe s'effectuera selon des modalités comparables dans chaque centre et qui sont schématisées en annexe 11.

Les patients seront suivis quotidiennement jusqu'à J45 (délai moyen d'hospitalisation) puis toutes les semaines **jusqu'à J100** sur :

- Examen clinique
- Numérations journalières à partir de J0 jusqu'à la sortie d'aplasie ( $PN > 500 /mm^3$  pendant 2 jours après le nadir atteint, ensuite numérations 2 fois par semaine jusqu'à J 28 puis une fois par semaine jusqu'à J100).
- Bilan hépatique 2 fois par semaine jusqu'à J45 puis chaque semaine jusqu'au J100
- Urée, créatinine, ionogramme sanguin quotidiennement jusqu'à J45 puis chaque semaine jusqu'à J100.
- Dosage de la ciclosporine A une fois par semaine
- Les surveillances infectieuses dans les 100 premiers jours sont détaillées ci-dessous (Cf C.).

**A J100**, un examen clinique, un bilan biologique standard (Numération formule sanguine, ionogramme sanguin, urée créatininémie, bilan hépatique complet), un chimérisme et un phénotypage lymphocytaire sont effectués.

**Après J100**, les patients seront suivis selon les modalités et fréquences habituelles de chaque centre. Quatre visites seront colligées pour le protocole à J180, 12mois, 18 mois et 24 mois (annexe 11). Elles comportent un examen clinique, un bilan biologique standard (Numération formule sanguine, ionogramme sanguin, urée créatininémie, bilan hépatique complet). L'étude du chimérisme et la reconstitution immunitaire (à partir des phénotypes lymphocytaires et électrophorèse des protides) seront aussi réalisées lors de ces visites (annexes 6, 7 et 11).

## C. Prévention, diagnostic et traitement des infections

⇒ Les prophylaxies recommandées sont les suivantes (annexe 13)

- **Infections bactériennes** : la décontamination digestive est laissée à l'initiative de l'investigateur. La prophylaxie recommandée contre le pneumocoque est l'amoxicilline 500 mg par jour dès la sortie d'aplasie. La dose pédiatrique est de 100mg/Kg sans dépasser 1g/J. L'arrêt de cette prophylaxie est laissé à l'initiative de l'investigateur. L'adjonction d'immunoglobulines prophylactiques n'est pas systématique mais doit être débutée après un premier épisode infectieux bactérien si le taux d'immunoglobulines est inférieur à 3g/l (à la dose de 0,5g/Kg/mois).

- **Infections virales** : les patients séropositifs pour HSV et VZV recevront une prophylaxie de la réactivation herpétique par Zelitrex per os (1 cp 500mg x 2/j) ou Acyclovir IV (5mg/Kg x 3/J) pendant les 4 premières semaines. Un relais sera pris par Zelitrex 1 cp à 500 mg par jour. Ce traitement sera arrêté de manière concomitante à l'arrêt de l'immunosuppression en l'absence de signe de maladie du greffon contre l'hôte.

- **Infections fongiques** : les patients seront pris en charge selon les modalités de chaque centre : isolement en flux laminaires pour l'hospitalisation initiale et si possible pour les ré hospitalisations dans le cadre de GVHD ou si le patient reçoit une corticothérapie. Un traitement par fluconazole 400 mg/J sera débuté à J+1 par voie orale (10mg/Kg/J chez l'enfant). En cas de traitement antifongique empirique, la 2<sup>ème</sup> ligne de traitement recommandée est le Cancidas pendant la durée d'hospitalisation. La prophylaxie antifongique à la sortie du service de greffe est laissée à l'initiative de l'investigateur.

- **Infections parasitaires** : tous les patients recevront une prophylaxie du Pneumocystis jiroveci par Bactrim prophylactique à doses conventionnelles à partir de la sortie d'aplasie. Ce traitement sera poursuivi tant que le patient recevra une corticothérapie et que le taux de CD4+ sera inférieur à 400/mm<sup>3</sup>. On adjoint une supplémentation en acide folinique. Cette prophylaxie peut être remplacée par Wellvone ou aérosol de Pentacarinate le cas échéant.

⇒ Surveillance prospective des infections:

- **Infections bactériennes** : une hémoculture systématique quotidienne sera faite pour les patients recevant une corticothérapie durant l'hospitalisation et lors de leur visite de suivi (Hôpital de jour et consultation). Une radio de thorax systématique par semaine est préconisée.

- **Infections virales** : les patients séropositifs pour HSV, VZV, CMV, EBV auront une PCR hebdomadaire. Une surveillance similaire est effectuée pour l'Adénovirus. Ces surveillances seront poursuivies jusqu'à J100, et au-delà de J100 s'il existe des signes de GVHD active ou une corticothérapie de plus de 0,5 mg/Kg/j. Le risque de réactivation viral est élevé, notamment vis-à-vis de l'EBV, justifiant une surveillance prolongée.

- **Infections fongiques** : Une antigénémie aspergillaire sera réalisée toutes les semaines jusqu'à J100, puis ultérieurement s'il existe des signes de GVHD active ou une corticothérapie de plus de 0,5 mg/Kg/j. Une radio de thorax systématique par semaine est préconisée.

- **Infections parasitaires** : Une PCR toxoplasmose ainsi qu'une radio de thorax seront effectuées toutes les semaines.

### Diagnostic et score de gravité des infections:

Les infections seront définies selon les critères de l'EBMT (Cordonnier, [www.ebmt.org](http://www.ebmt.org)), incluant les définitions de l'EORTC-MSG pour les infections fongiques(43) (annexe 3). La sévérité des infections sera enregistrée selon les grades GREFIG(44) (annexe 4).

#### ⇒ Traitement des infections:

- **Infections bactériennes** : La prise en charge d'une infection documentée bactérienne est laissée à l'initiative de l'investigateur.

- **Infections virales** : En cas de PCR plasmatique HSV positive, le traitement recommandé est l'acyclovir à la dose de 30mg/Kg/j IV en 3 injections quotidiennes. La durée de traitement est laissée à l'initiative de l'investigateur. Le seuil de traitement préemptif vis-à-vis du CMV est de 1000 copies/ml. Le traitement préemptif du CMV fait appel au Cymevan (IV, 5 mg/Kg/12h) ou au Foscavir (IV, 60mg/Kg/8h) avec les précautions d'usage habituelles de ces médicaments (G-CSF éventuel pour le Cymevan, hydratation pour le Foscavir). La durée totale de traitement est de 14 jours selon les recommandations européennes. Un traitement d'entretien est justifié lors de récurrence d'infection à CMV. Le seuil de traitement préemptif vis-à-vis de l'EBV est de 10 000 copies/ml (sang total). On s'assurera de l'absence de lymphoprolifération à EBV dont le traitement éventuel le cas échéant est laissé à l'initiative de l'investigateur. Le traitement préemptif de l'EBV fait appel à du Mabthera à la dose de 375 mg/m<sup>2</sup>/semaine, le nombre de cures étant fonction de la réponse objectivée par la PCR. En cas de PCR plasmatique adénovirus positive, le traitement repose sur des injections de Vistid à la dose de 5 mg/Kg/semaine avec les précautions d'usage habituelles de ce médicament (hydratation, probenecide).

- **Infections fongiques et parasitaires** : La prise en charge d'une infection documentée parasitaire est laissée à l'initiative de l'investigateur.

## **6. Critères de jugement**

### **A. Critère d'évaluation principal**

Taux de survie à 1 an (20% définissant la borne de non efficacité).

### **B. Critères d'évaluation secondaires**

- Non prise, rejet ou reconstitution autologue
- Incidence cumulée de GVHD aiguë (annexe 1) ou chronique (annexe 2)
- Incidence et sévérité des infections. Les infections seront définies selon les critères de l'EBMT (Cordonnier, [www.ebmt.org](http://www.ebmt.org)), incluant les définitions de l'EORTC-MSG pour les infections fongiques(43) (annexe 3). La sévérité des infections sera enregistrée selon les grades GREFIG(44) (annexe 4)
- Mortalité liée à la greffe à 100 jours
- Survie globale (sur la durée de suivi maximal de cinq ans)
- Toxicité non imputable à la GVHD ou à l'infection classée selon les grades de toxicité de l'OMS et retentissement sur l'état général par l'Echelle de Karnovsky (Annexe 5)
- Evaluation médico-économique à 100 jours

### **C. Calendrier de recueil des paramètres d'évaluation**

Le tableau des visites est situé en annexe 11

## **7. Evaluation de la sécurité**

### **A. Description des paramètres d'évaluation de la sécurité**

- **Evénement indésirable**

Toute manifestation nocive survenant chez une personne qui se prête à une recherche biomédicale que cette manifestation soit liée ou non à la recherche ou au produit sur lequel porte cette recherche.

- **Effet indésirable d'un médicament expérimental**

Toute réaction nocive et non désirée à un médicament expérimental quelle que soit la dose administrée

- **Evénement ou effet indésirable grave**

Tout événement ou effet indésirable qui entraîne la mort, met en danger la vie de la personne qui se prête à la recherche, nécessite une hospitalisation ou la prolongation de l'hospitalisation, provoque une incapacité ou un handicap importants ou durables, ou bien se traduit par une anomalie ou une malformation congénitale, vis-à-vis d'un produit de santé (médicament ou autres produits de santé) quelle que soit la dose administrée.

- **Effet indésirable inattendu d'un produit de santé expérimental**

Tout effet indésirable dont la nature, la sévérité ou l'évolution ne concorde pas avec les informations figurant dans le résumé des caractéristiques du produit lorsque le médicament ou le produit est autorisé, ou dans la brochure pour l'investigateur lorsqu'il n'est pas autorisé.

- **Fait nouveau**

Toute nouvelle donnée de sécurité, pouvant conduire à une réévaluation du rapport des bénéfices et des risques de la recherche, du produit de santé ou du médicament expérimental, ou qui pourrait être suffisant pour envisager des modifications dans l'administration du médicament expérimental, dans la conduite de la recherche.

## **B. Comités spécifiques de la Recherche**

### **1. Comité de pilotage**

Il sera constitué des initiateurs cliniciens du projet, du biostatisticien en charge du projet, des représentants du promoteur et d'un représentant d'Eurocord.

Son rôle est de définir l'organisation générale, le déroulement de la recherche et la coordination des informations. Ce comité décidera en cours de recherche des conduites à tenir dans les cas imprévus. Il sera composé des personnes suivantes : Dr Régis Peffault de Latour (investigateur coordonnateur), Pr Gérard Socié (Chef de Service, Hématologie-greffe, Saint Louis), Dr Raphaël Porcher (Biostatisticien de l'étude, DBIM Saint Louis), Dr Vanderson Rocha (Eurocord), Valérie Millul (Chef de projet-DIRC).

### **2. Comité indépendant de surveillance.**

Toute recherche portant sur un produit de santé doit prévoir la mise en place d'un Comité de surveillance indépendant.

Il a une fonction consultative lorsque le promoteur fait appel à lui sur des points médicaux tels la tolérance et les événements indésirables. Il est constitué de personnes extérieures à la recherche dont nécessairement un clinicien spécialiste de la pathologie étudiée et un pharmacologue/pharmacovigilant et selon le protocole

Ce comité est en cours de constitution.

## **C. Procédures mises en place en vue de l'enregistrement, de la notification et du suivi des événements indésirables.**

### ⇒ **Déclaration et notification des EIs et EIGs**

#### ▪ **Evénements indésirables non graves**

Tout événement indésirable non grave observé lors de la recherche et dans ses suites devra être reporté dans le cahier d'observation dans la section prévue à cet effet.

Un seul événement doit être reporté par item. L'événement peut correspondre à un symptôme, un diagnostic ou à un résultat d'examen complémentaire jugé significatif. Tous les éléments cliniques ou para-cliniques permettant de décrire au mieux l'événement correspondant doivent être reportés.

▪ **Événements indésirables graves (EIG) :**

Les investigateurs doivent notifier **immédiatement au promoteur AP-HP** les événements indésirables graves tels que définis ci-dessus.

**L'investigateur complète les formulaires d'événements indésirables graves (du cahier d'observation de la recherche) et les envoie au DRCD par fax au 01 44 84 17 99 et ce, dans les 48 heures** (après si possible un appel téléphonique immédiat au 01 44 84 17 23 en cas de décès ou d'une menace vitale).

Pour chaque événement indésirable grave, **l'investigateur devra émettre un avis sur le lien de causalité de l'événement avec chaque produit ou médicament expérimental et avec les autres traitements éventuels.**

L'obtention d'informations relatives à la description et l'évaluation d'un événement indésirable peuvent ne pas être possibles dans le temps imparti pour la déclaration initiale.

**Aussi, l'évolution clinique ainsi que les résultats des éventuels bilans cliniques et des examens diagnostiques et/ou de laboratoire, ou toute autre information permettant une analyse adéquate du lien de causalité seront rapportés :**

- soit sur la déclaration initiale d'EIG s'ils sont immédiatement disponibles,
- soit ultérieurement et le plus rapidement possible, en envoyant par fax une nouvelle déclaration d'EIG complétée (et en précisant qu'il s'agit d'un suivi d'EIG déclaré et le numéro de suivi).

Toutes les déclarations faites par les investigateurs devront identifier chaque sujet participant à la recherche par un numéro de code unique attribué à chacun d'entre eux.

**En cas de décès notifié d'un sujet participant à la recherche, l'investigateur communiquera au promoteur tous les renseignements complémentaires demandés** (compte-rendu d'hospitalisation, résultats d'autopsie...).

**Tout fait nouveau** survenu dans la recherche ou dans le contexte de la recherche, provenant de données de la littérature ou de recherches en cours, devra être notifié au promoteur.

**- Déclaration des événements indésirables graves aux Autorités de Santé**

Elle sera assurée par le Pôle de Pharmacovigilance du DRCD, après évaluation de la gravité de l'événement indésirable, du lien de causalité avec chaque produit, médicament expérimental et les autres traitements éventuels ainsi que du caractère inattendu des effets indésirables.

Toutes les suspicions d'effet indésirable grave inattendu seront déclarées par le promoteur aux autorités compétentes dans les délais légaux.

**Toute donnée de sécurité ou tout fait nouveau qui pourrait modifier significativement l'évaluation du rapport des bénéfices et des risques d'un médicament expérimental, ou de la recherche, ou qui pourrait conduire à envisager des modifications concernant l'administration du médicament ou la conduite de la recherche, sera transmise par le promoteur aux autorités compétentes, au Comité de Protection des Personnes et aux investigateurs de la recherche. Par exemple :**

a) toute augmentation cliniquement significative de la fréquence d'apparition d'un effet indésirable grave attendu ;

b) des suspicions d'effet indésirable grave inattendu survenus chez des participants ayant terminé l'essai et qui sont notifiés par l'investigateur au promoteur, ainsi que des rapports de suivi éventuels ;

c) tout fait nouveau concernant le déroulement de l'essai clinique ou le développement du médicament, lorsque ce fait nouveau est susceptible de porter atteinte à la sécurité des participants. A titre d'exemple :

- un événement indésirable grave susceptible d'être lié aux investigations et aux procédures de diagnostic de l'essai et qui pourrait modifier le déroulement de cet essai,

- un risque significatif pour la population de l'essai comme par exemple un manque d'efficacité du médicament utilisé dans le traitement d'une maladie mettant en jeu le pronostic vital,

- des résultats significatifs de sécurité issus d'une étude menée chez l'animal récemment terminée (telle qu'une étude de carcinogénicité),

- un arrêt anticipé ou une interruption temporaire pour des raisons de sécurité d'un essai conduit avec le même médicament dans un autre pays,

- un effet indésirable grave inattendu lié à un médicament non expérimental nécessaire à la réalisation de l'essai (ex : « challenge agents », traitement de secours)

d) les recommandations du comité de surveillance indépendant [Data Monitoring Committee (DMC) ou Data Safety Monitoring Board (DSMB)], le cas échéant, si elles sont pertinentes pour la sécurité des personnes,

e) tout effet indésirable grave inattendu transmis au promoteur par un autre promoteur d'un essai clinique mené dans un pays tiers portant sur le même médicament.

### **Modalités et durée du suivi des personnes suite à la survenue d'événements indésirables**

Tout patient présentant un événement indésirable doit être suivi jusqu'à la résolution ou la stabilisation de celui-ci.

- Si l'événement n'est pas grave, l'évolution en sera notée sur la page correspondante du cahier d'observation à la section prévue à cet effet.
- Si l'événement est grave, **un suivi d'EIG sera envoyé au DRCD.**

*(Voir formulaire de déclaration et de suivi des EIGs en annexe 15 et Grille de Classification des EIGS en annexe 16.)*

## **8. Analyse statistique**

### **A. Recueil, validation et archivage des données**

Pour chaque sujet inclus dans l'étude les données initiales et le suivi seront colligés de façon standardisée sur un cahier d'observation. Chaque patient sera identifié par un numéro d'anonymat, identique pour tout son suivi.

Le DBIM, s'assurera d'un recueil conformément aux recommandations des bonnes pratiques cliniques (BPC) et aux procédures opératoires du promoteur. Il procédera notamment aux validations cliniques et biologiques (avant saisie).

Une base de données sera constituée pour l'archivage (après double saisie) informatique des données cliniques et biologiques de chaque patient inclus. Cette base sera localisée au DBIM (Hôpital Saint Louis). Les documents seront conservés avant et après la greffe. Les cahiers d'observation seront maintenus dans une pièce fermant à clé. Ils sont conservés par le DBIM L'accès à ces données est réservé au personnel autorisé.

### **B. Nombre de patients**

L'essai est planifié selon un schéma en une étape(46). Le nombre de sujets a été calculé en utilisant la distribution binomiale (test exact), selon la méthode présentée par A'Hern (47). Il a été considéré qu'un taux de survie à un an inférieur ou égal à 20% définit l'hypothèse nulle de non efficacité de l'allogreffe et qu'un taux de survie à un an supérieur ou égal à 50% devrait être détecté avec une puissance supérieure ou égale à 90%. Avec un risque d'erreur de type I de 2,5% (formulation unilatérale), le nombre de patients à inclure est de 26 sujets. Si neuf réponses ou moins sont observées à la fin de l'essai, il sera conclu au non rejet de l'hypothèse nulle.

Dans le cas contraire, l'hypothèse nulle sera rejetée. Cet essai a un risque d'erreur de type I de 2,3% (du fait du petit nombre de sujets inclus, il est impossible d'obtenir exactement un risque d'erreur de type I égal à 2,5%).

### **C. Analyses statistiques**

L'analyse de l'essai non contrôlé reposera sur l'estimation de la mortalité liée à la greffe dans l'année suivant la procédure. Le test du critère de jugement principal sera un test binomial comparant le taux de réponse observé au taux de réponse sous l'hypothèse nulle. Ce test sera unilatéral, au risque d'erreur de type I de 2,5%.

Une estimation ponctuelle et par intervalle de confiance à 95% (bilatéral) sera donnée pour le critère de jugement principal et les critères secondaires.

Les courbes d'incidence cumulée de GVHD aiguë et chronique seront estimées dans un cadre de risques compétitifs, le décès et la rechute étant considérés comme des événements en compétition. Les courbes d'incidence cumulée d'infection seront estimées de façon similaire, le décès seul étant considéré comme événement en compétition. La courbe de survie globale sera estimée par la méthode de Kaplan et Meier.

## 9. Droit d'accès aux données et documents source

Les personnes ayant un accès direct conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur, notamment les articles L.1121-3 et R.5121-13 du code de la santé publique (par exemple, les investigateurs, les personnes chargées du contrôle de qualité, les moniteurs, les assistants de recherche clinique, les auditeurs et toutes personnes appelées à collaborer aux essais) prennent toutes les précautions nécessaires en vue d'assurer la confidentialité des informations relatives aux médicaments expérimentaux, aux essais, aux personnes qui s'y prêtent et notamment en ce qui concerne leur identité ainsi qu'aux résultats obtenus. Les données collectées par ces personnes au cours des contrôles de qualité ou des audits sont alors rendues anonymes.

## 10. Contrôle et assurance de la qualité

**La recherche sera encadrée selon les procédures opératoires standard du promoteur.**

Le déroulement de la recherche dans les centres investigateurs et la prise en charge des sujets sera faite conformément à la déclaration d'Helsinki et les Bonnes Pratiques en vigueur.

### A. Procédures de monitoring

*La recherche est une étude de thérapie cellulaire et donc est classée risque D. Le monitoring sera par conséquent de 100%.*

Les ARC représentants du promoteur effectueront des visites des centres investigateurs au rythme correspondant au schéma de suivi des patients dans le protocole, aux inclusions dans les différents centres et au niveau de risque qui a été attribué à la recherche.

- Visite d'ouverture de chaque centre : avant inclusion, pour une mise en place du protocole et prise de connaissance avec les différents intervenants de la recherche biomédicale.

- Lors des visites suivantes, les cahiers d'observation seront revus au fur et à mesure de l'état d'avancement de la recherche par les ARC. L'investigateur principal de chaque centre ainsi que les autres investigateurs qui incluent ou assurent le suivi des personnes participant à la recherche s'engagent à recevoir les ARC à intervalles réguliers.

Lors de ces visites sur site et en accord avec les Bonnes Pratiques Cliniques, les éléments suivants seront revus :

- Respect du protocole et des procédures définies pour la recherche,
- Vérification des consentements éclairés des patients

- Examen des documents source et confrontation avec les données reportées dans le cahier d'observation quant à l'exactitude, les données manquantes, la cohérence des données selon les règles édictées par les procédures du DRCD.

- Visite de fermeture : récupération des cahiers d'observation, bilan à la pharmacie, documents de la recherche biomédicale, archivage.

## **B. Transcription des données dans le cahier d'observation**

Toutes les informations requises par le protocole doivent être fournies dans le cahier d'observation et une explication donnée par l'investigateur pour chaque donnée manquante.

Les données devront être transférées dans les cahiers d'observation au fur et à mesure qu'elles sont obtenues qu'il s'agisse de données cliniques ou para-cliniques. Les données devront être copiées de façon nette et lisible à l'encre noire dans ces cahiers (ceci afin de faciliter la duplication et la saisie informatique).

Les données erronées dépistées sur les cahiers d'observation seront clairement barrées et les nouvelles données seront copiées sur le cahier avec les initiales et la date par le membre de l'équipe de l'investigateur qui aura fait la correction.

L'anonymat des sujets sera assuré par un numéro de code et les initiales de la personne qui se prête à la recherche sur tous les documents nécessaires à la recherche, ou par effacement par les moyens appropriés des données nominatives sur les copies des documents source, destinés à la documentation de la recherche.

Les données informatisées sur un fichier seront déclarées à la CNIL selon la procédure adaptée au cas.

## **11. Considérations légale et éthique**

Le promoteur est défini par la loi 2004-806 du 9 août 2004. Dans cette recherche, l'AP-HP est le promoteur et le Département de la Recherche Clinique et du Développement (DRCD) en assure les missions réglementaires.

Avant de démarrer la recherche, chaque investigateur fournira au représentant du promoteur de la recherche une copie de son **curriculum vitae personnel daté et signé et comportant son numéro d'inscription à l'Ordre des Médecins.**

### **A. Demande d'autorisation auprès de l'AFSSAPS**

Pour pouvoir démarrer la recherche, l'AP-HP en tant que promoteur doit soumettre un dossier de demande d'autorisation auprès de l'autorité compétente, l'Afssaps. L'autorité compétente, définie à l'article L. 1123-12, se prononce au regard de la sécurité des personnes qui se prêtent à une recherche biomédicale, en considérant notamment la sécurité et la qualité des produits utilisés au cours de la recherche conformément, le cas échéant, aux référentiels en vigueur, leur condition d'utilisation et la sécurité des personnes au regard des actes pratiqués et des méthodes utilisées ainsi que les modalités prévues pour le suivi des personnes.

### **B. Demande d'avis au Comité de Protection des Personnes**

En accord avec l'article L.1123-6 du Code de Santé Publique, le protocole de recherche doit être soumis par le promoteur à un Comité de Protection des Personnes L'avis de ce comité est notifié à l'autorité compétente par le promoteur avant le démarrage de la recherche.

### **C. Modifications**

Le DRCD doit être informé de tout projet de modification du protocole par l'investigateur coordonnateur. Les modifications devront être qualifiées en substantielles ou non.

Une modification substantielle est une modification susceptible, d'une manière ou d'une autre, de modifier les garanties apportées aux personnes qui se prêtent à la recherche biomédicale (modification d'un critère d'inclusion, prolongation d'une durée d'inclusion, participation de nouveaux centres,...).

Après le commencement de la recherche, toute modification substantielle de celle-ci à l'initiative du promoteur doit obtenir, préalablement à sa mise en œuvre, un avis favorable du comité et une autorisation de l'autorité compétente. Dans ce cas, si cela est nécessaire, le comité s'assure qu'un nouveau consentement des personnes participant à la recherche est bien recueilli.

Par ailleurs, toute extension de la recherche (modification profonde du schéma thérapeutique ou des populations incluses, prolongation des traitements et ou des actes thérapeutiques non prévus initialement dans le protocole) devra être considérée comme une nouvelle recherche.

## **D. Déclaration CNIL**

La loi prévoit que la déclaration du fichier informatisé des données personnelles collectées pour la recherche doit être faite avant le début effectif de la recherche.

Une **méthodologie de référence spécifique au traitement de données personnelles opérée dans le cadre des recherches biomédicales définies par la loi 2004-806 du 9 août 2004** car entrant dans le champ des articles L.1121-1 et suivants du Code de Santé Publique a été établie par la CNIL en janvier 2006.

Cette méthodologie permet une **procédure de déclaration simplifiée** lorsque la nature des données recueillies dans la recherche est compatible avec la liste prévue par la CNIL dans son document de référence.

Lorsque le protocole bénéficie d'un contrôle qualité des données par un ARC représentant le promoteur et qu'il entre dans le champ d'application de la procédure simplifiée CNIL, le DRCD en qualité de promoteur demandera au responsable du fichier informatique de s'engager par écrit sur le respect de la méthodologie de référence MR06001 simplifiée.

## **E. Note d'information et Consentement éclairé**

Le consentement écrit doit être recueilli auprès de toute personne se prêtant à la recherche avant la réalisation de tout acte nécessité par la recherche biomédicale.

L'information sur cette étude et le recueil du consentement seront effectués lors des consultations pré-greffe (annexe 16). Un délai de réflexion de 2 semaines sera laissé au patient avant de donner son consentement écrit de participation à la recherche.

## **F. Rapport final de la recherche**

Le rapport final de la recherche sera écrit en collaboration par le coordonnateur et le biostatisticien de cette recherche. Ce rapport sera soumis à chacun des investigateurs pour avis. Une fois qu'un consensus aura été obtenu, la version finale devra être avalisée par la signature de chacun des investigateurs et adressée au promoteur dans les meilleurs délais après la fin effective de la recherche. Un rapport rédigé selon le plan de référence de l'autorité compétente doit être transmis à l'autorité compétente ainsi qu'au CPP dans un délai d'un an, après la fin de la recherche, s'entendant comme la dernière visite de suivi du dernier sujet inclus. Ce délai est rapporté à 90 jours en cas d'arrêt prématuré de la recherche.

## **12. Assurance et engagement scientifique**

### **A. Assurance**

L'Assistance Publique- Hôpitaux de Paris est le promoteur de cette recherche. En accord avec la loi sur les recherches biomédicales, elle a pris une assurance auprès de la compagnie HGI-GERLING par l'intermédiaire de BIOMEDICINSURE (Parc d'Innovation Bretagne Sud C.P. 142.56038 Vannes Cedex) pour toute la durée de la recherche, garantissant sa propre responsabilité civile ainsi que celle de tout intervenant (médecin ou personnel impliqués dans la réalisation de la recherche) (loi n°2004-806, Art L.1121-10 du CSP). L'Assistance Publique - Hôpitaux de Paris se réserve le droit d'interrompre la recherche à tout moment pour des raisons médicales ou administratives; dans cette éventualité, une notification sera fournie à l'investigateur.

## **B. Engagement scientifique**

Chaque investigateur s'engagera à respecter les obligations de la loi et à mener la recherche selon les B.P.C., en respectant les termes de la déclaration d'Helsinki en vigueur. Pour ce faire, un exemplaire de l'engagement scientifique daté et signé par chaque investigateur de chaque service clinique d'un centre participant sera remis au représentant du promoteur.

### **13. Règles relatives à la publication**

L'AP-HP est propriétaire des données et aucune utilisation ou transmission à un tiers ne peut être effectuée sans son accord préalable. Seront premiers signataires des publications, les personnes ayant réellement participé à l'élaboration du protocole et son déroulement ainsi qu'à la rédaction des résultats. L'Assistance Publique- Hôpitaux de Paris doit être mentionnée comme étant le promoteur de la recherche biomédicale. Les termes « Assistance Publique- Hôpitaux de Paris » doivent apparaître dans l'adresse des auteurs.

### **14. Liste des annexes**

## A. Références

1. Passweg JR, Socie G, Hinterberger W, Bacigalupo A, Biggs JC, Camitta BM, et al. Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: has outcome improved? *Blood*. 1997 Jul 15;90(2):858-64.
2. Bacigalupo A, Locatelli F, Lanino E, Marsh J, Socie G, Maury S, et al. Fludarabine, cyclophosphamide and anti-thymocyte globulin for alternative donor transplants in acquired severe aplastic anemia: a report from the EBMT-SAA Working Party. *Bone Marrow Transplant*. 2005 Dec;36(11):947-50.
3. Locasciulli A, Oneto R, Bacigalupo A, Socie G, Korthof E, Bekassy A, et al. Outcome of patients with acquired aplastic anemia given first line bone marrow transplantation or immunosuppressive treatment in the last decade: a report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Haematologica*. 2007 Jan;92(1):11-8.
4. Marsh JC, Ball SE, Darbyshire P, Gordon-Smith EC, Keidan AJ, Martin A, et al. Guidelines for the diagnosis and management of acquired aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2003 Dec;123(5):782-801.
5. Frickhofen N, Kaltwasser JP, Schrezenmeier H, Raghavachar A, Vogt HG, Herrmann F, et al. Treatment of aplastic anemia with antilymphocyte globulin and methylprednisolone with or without cyclosporine. The German Aplastic Anemia Study Group. *N Engl J Med*. 1991 May 9;324(19):1297-304.
6. Frickhofen N, Heimpel H, Kaltwasser JP, Schrezenmeier H. Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia. *Blood*. 2003 Feb 15;101(4):1236-42.
7. Bacigalupo A. Aplastic anemia: pathogenesis and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007;2007:23-8.
8. Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, Bacigalupo A, Bredeson CN, Bullorsky E, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood*. 2007 Aug 15;110(4):1397-400.
9. Storb RF, Lucarelli G, McSweeney PA, Childs RW. Hematopoietic cell transplantation for benign hematological disorders and solid tumors. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2003:372-97.
10. Locatelli F, Bruno B, Zecca M, Van-Lint MT, McCann S, Arcese W, et al. Cyclosporin A and short-term methotrexate versus cyclosporin A as graft versus host disease prophylaxis in patients with severe aplastic anemia given allogeneic bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling: results of a GITMO/EBMT randomized trial. *Blood*. 2000 Sep 1;96(5):1690-7.
11. Deeg HJ, O'Donnell M, Tolar J, Agarwal R, Harris RE, Feig SA, et al. Optimization of conditioning for marrow transplantation from unrelated donors for patients with aplastic anemia after failure of immunosuppressive therapy. *Blood*. 2006 Sep 1;108(5):1485-91.
12. Armand P, Antin JH. Allogeneic stem cell transplantation for aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007 May;13(5):505-16.
13. Maury S, Balere-Appert ML, Chir Z, Boiron JM, Galambrun C, Yakouben K, et al. Unrelated stem cell transplantation for severe acquired aplastic anemia: improved outcome in the era of high-resolution HLA matching between donor and recipient. *Haematologica*. 2007 May;92(5):589-96.
14. Viollier R, Socie G, Tichelli A, Bacigalupo A, Korthof ET, Marsh J, et al. Recent improvement in outcome of unrelated donor transplantation for aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant*. 2008 Jan;41(1):45-50.
15. Calado RT, Young NS. Telomere maintenance and human bone marrow failure. *Blood*. 2008 May 1;111(9):4446-55.

16. Dokal I, Vulliamy T. Inherited aplastic anaemias/bone marrow failure syndromes. *Blood Rev.* 2008 May;22(3):141-53.
17. Shimamura A. Inherited bone marrow failure syndromes: molecular features. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006:63-71.
18. Dokal I. Fanconi's anaemia and related bone marrow failure syndromes. *Br Med Bull.* 2006;77-78:37-53.
19. de la Fuente J, Reiss S, McCloy M, Vulliamy T, Roberts IA, Rahemtulla A, et al. Non-TBI stem cell transplantation protocol for Fanconi anaemia using HLA-compatible sibling and unrelated donors. *Bone Marrow Transplant.* 2003 Oct;32(7):653-6.
20. Guardiola P, Socie G, Pasquini R, Dokal I, Ortega JJ, van Weel-Sipman M, et al. Allogeneic stem cell transplantation for Fanconi Anaemia. Severe Aplastic Anaemia Working Party of the EBMT and EUFAR. European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1998 Apr;21 Suppl 2:S24-7.
21. Socie G, Devergie A, Girinski T, Piel G, Ribaud P, Esperou H, et al. Transplantation for Fanconi's anaemia: long-term follow-up of fifty patients transplanted from a sibling donor after low-dose cyclophosphamide and thoraco-abdominal irradiation for conditioning. *Br J Haematol.* 1998 Oct;103(1):249-55.
22. Guardiola P, Pasquini R, Dokal I, Ortega JJ, van Weel-Sipman M, Marsh JC, et al. Outcome of 69 allogeneic stem cell transplantations for Fanconi anemia using HLA-matched unrelated donors: a study on behalf of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood.* 2000 Jan 15;95(2):422-9.
23. Wagner JE, Eapen M, MacMillan ML, Harris RE, Pasquini R, Boulad F, et al. Unrelated donor bone marrow transplantation for the treatment of Fanconi anemia. *Blood.* 2007 Mar 1;109(5):2256-62.
24. Rocha V, Devergie A, Socie G, Ribaud P, Esperou H, Parquet N, et al. Unusual complications after bone marrow transplantation for dyskeratosis congenita. *Br J Haematol.* 1998 Oct;103(1):243-8.
25. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* 1989 Oct 26;321(17):1174-8.
26. Michel G, Rocha V, Chevret S, Arcese W, Chan KW, Filipovich A, et al. Unrelated cord blood transplantation for childhood acute myeloid leukemia: a Eurocord Group analysis. *Blood.* 2003 Dec 15;102(13):4290-7.
27. Gluckman E, Rocha V, Arcese W, Michel G, Sanz G, Chan KW, et al. Factors associated with outcomes of unrelated cord blood transplant: guidelines for donor choice. *Exp Hematol.* 2004 Apr;32(4):397-407.
28. Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, et al. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med.* 2004 Nov 25;351(22):2276-85.
29. Arcese W, Rocha V, Labopin M, Sanz G, Iori AP, de Lima M, et al. Unrelated cord blood transplants in adults with hematologic malignancies. *Haematologica.* 2006 Feb;91(2):223-30.
30. Beatty PG, Dahlberg S, Mickelson EM, Nisperos B, Opelz G, Martin PJ, et al. Probability of finding HLA-matched unrelated marrow donors. *Transplantation.* 1988 Apr;45(4):714-8.
31. Sonnenberg FA, Eckman MH, Pauker SG. Bone marrow donor registries: the relation between registry size and probability of finding complete and partial matches. *Blood.* 1989 Nov 15;74(7):2569-78.
32. Brunstein CG, Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, Miller JS, Blazar BR, et al. Umbilical cord blood transplantation after nonmyeloablative conditioning: impact on transplantation outcomes in 110 adults with hematologic disease. *Blood.* 2007 Oct 15;110(8):3064-70.

33. Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, Baker KS, Blazar BR, Eide C, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood*. 2002 Sep 1;100(5):1611-8.
34. Harris DT, Schumacher MJ, Locascio J, Besencon FJ, Olson GB, DeLuca D, et al. Phenotypic and functional immaturity of human umbilical cord blood T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Nov 1;89(21):10006-10.
35. McDouall RM, Sutters AJ, Smith H, Yacoub MH, Rose ML. Increased cyclosporine sensitivity of T cells from cord blood compared with those from the adult. *Clin Exp Immunol*. 1994 Mar;95(3):519-24.
36. Barker JN, Scaradavou A, Stevens CE, rubinstein P. The dose-match interaction in umbilical cord blood (UCB) transplantation: an analysis of the impact of cell dose and HLA-match on the disease-free survival (DFS) of 989 patients transplanted with single units for hematological malignancy. *American Society of Hematology*; 2007; Atlanta: Oral session; 2007.
37. Mao P, Wang S, Wang S, Zhu Z, Liv Q, Xuv Y, et al. Umbilical cord blood transplant for adult patients with severe aplastic anemia using anti-lymphocyte globulin and cyclophosphamide as conditioning therapy. *Bone Marrow Transplant*. 2004 Jan;33(1):33-8.
38. Mao P, Zhu Z, Wang H, Wang S, Mo W, Ying Y, et al. Sustained and stable hematopoietic donor-recipient mixed chimerism after unrelated cord blood transplantation for adult patients with severe aplastic anemia. *Eur J Haematol*. 2005 Nov;75(5):430-5.
39. Chan KW, McDonald L, Lim D, Grimley MS, Grayson G, Wall DA. Unrelated cord blood transplantation in children with idiopathic severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant*. 2008 Aug 11.
40. Yoshimi A, Kojima S, Taniguchi S, Hara J, Matsui T, Takahashi Y, et al. Unrelated cord blood transplantation for severe aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Sep;14(9):1057-63.
41. Gluckman E, Rocha V, Ionescu I, Bierings M, Harris RE, Wagner J, et al. Results of unrelated cord blood transplant in fanconi anemia patients: risk factor analysis for engraftment and survival. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007 Sep;13(9):1073-82.
42. Ruggeri A, Peffault de Latour R, Rocha V, Larghero J, Robin M, Rodrigues CA, et al. Double cord blood transplantation in patients with high risk bone marrow failure syndromes. *Br J Haematol*. 2008 Aug 10.
43. Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crockaert F, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis*. 2002 Jan 1;34(1):7-14.
44. Cordonnier C, Engelhard D, Ljungman P. Definitions of infectious diseases and complications after stem cell transplant. A proposal of the infectious working party of the EBMT. *EBMT*; 2003; 2003.
45. Sullivan KM, Witherspoon RP, Storb R, Deeg HJ, Dahlberg S, Sanders JE, et al. Alternating-day cyclosporine and prednisone for treatment of high-risk chronic graft-v-host disease. *Blood*. 1988 Aug;72(2):555-61.
46. Fleming TR. One-sample multiple testing procedure for phase II clinical trials. *Biometrics*. 1982 Mar;38(1):143-51.
47. A'Hern RP. Sample size tables for exact single-stage phase II designs. *Stat Med*. 2001 Mar 30;20(6):859-66.
48. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*. 1974 Oct;18(4):295-304.

49. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med.* 1980 Aug;69(2):204-17.

**B. Annexe 1 : reaction AIGUe DU GREFFON CONTRE L'HOTE****CODE DE SEVERITE DE L'ATTEINTE DES ORGANES CIBLES  
(Classification de Glucksberg 1974)(48)**

Stade	PEAU	FOIE	INTESTIN
<b>1</b>	Eruption maculopapuleuse Touchant moins de 25% de la surface corporelle	Bilirubine 2-3 mg/dl (34-50 µm/l)	Diarrhées ≤ 1000 ml / j En l'absence de causes infectieuses (≤15 ml / kg/ j)* ou Nausées, vomissements ou anorexie avec confirmation histologique
<b>2</b>	Eruption maculopapuleuse touchant de 25 à 50% de la surface corporelle	Bilirubine 3,1-5,9 mg/dl (51-102 µm/l)	Diarrhées > 1000 ml / j (>15 ml / kg/ j)*
<b>3</b>	Eruption maculopapuleuse touchant plus de 50% de la surface corporelle	Bilirubine 6-14,9 mg/dl (103-255 µm/l)	Diarrhées > 1500 ml / j (>20 ml / kg/ j)*
<b>4</b>	Erythrodermie généralisée avec formation de bulles et desquamation	Bilirubine >15 mg/dl > 255 µm/l	Diarrhées ≥ 2000 ml / j (≥25 ml / kg/ j)* ou ileus

\*Evaluation pédiatrique des diarrhées pour les enfants jusqu'à l'âge de 12 ans

NB : La sévérité est jugée au moment des manifestations les plus graves de la maladie du greffon contre l'hôte.

**GRADES DE SEVERITE DE LA GVHD AIGUE**

GRADES	STADE PEAU	STADE DIGESTIF	STADE FOIE
<b>I</b>	1 à 2	0	0
<b>II</b>	0 à 3	0-1	0-1
<b>III*</b>	0 à 3	2-4	0-4
<b>IV</b>	0 à 3*	2-4*	0-4*

\*Toute atteinte de grade III avec atteinte marquée de l'état général correspondant à un Score de Karnovsky inférieur à 30%

### **C. Annexe 2 : reaction chronique DU GREFFON CONTRE L'HOTE (Shulman 1980)(49)**

#### Manifestation de GVHD chronique

Dans le cas de manifestations cliniques parallèles comme un épisode infectieux ou une réaction médicamenteuse, cette évaluation ne sera pas prise en compte.

Un Karnofsky < 60% avec une perte de poids > 15% et des infections récurrentes sont en général des signes de GVHD chronique extensive.

Les anomalies cliniques selon les organes touchés permettant d'évaluer la GVHD chronique sont les suivantes :

- |                         |  |
|-------------------------|--|
| <b>Peau</b>             | Erythème, sécheresse, prurit, changement de pigmentation (vitiligo, hyperpigmentation) plaques papulosquameuses, nodules, exfoliation, rash maculo-papulaire ou urticaire, sclérodermie, morphee (une ou plusieurs lésions lisses indurées et circonscrites) |
| <b>Ongles</b>           | Onychodystrophie, onycholyse, striés, fendus.  |
| <b>Cheveux</b>          | Canitie prématurée (cuir chevelu, cils, sourcils), alopecie, amincissement du cuir chevelu, raréfaction de la pilosité corporelle.   |
| <b>Bouche</b>           | Sécheresse, brûlures, gingivite, mucite, atrophie gingivale, érythème, lichen, ulcères, atrophie labiale, changement de pigmentation, contracture de la bouche, caries dentaires.  |
| <b>Yeux</b>             | Sécheresse, brûlures, photophobie, douleur, larmoiement, sensation de grain de sable   |
| <b>Organes génitaux</b> | Sécheresse, sténose vaginale, dyspareunie, érythème vulvaire, atrophie génitale, lichen  |
| <b>Foie</b>             | Élévation du bilan hépatique sanguin sans autre cause connue. En l'absence d'une autre atteinte organique, une biopsie est nécessaire pour confirmer le diagnostic.  |
| <b>Poumons</b>          | Bronchiolite oblitérante, toux, sifflements, dyspnée d'effort, bronchites chroniques ou sinusites.   |
| <b>Tube digestif</b>    | Anorexie, nausées, vomissements, perte de poids, diarrhées, dysphagie, malabsorption.  |
| <b>Fasciite</b>         | Ankylose et réduction des mouvements, avec occasionnellement gonflement, douleurs, crampes, érythème et induration, atteignant le plus fréquemment les avant- bras les   |

poignets et les mains, les chevilles, les jambes et les pieds, incapacité d'étendre les poignets sans fléchir les doigts ou les coudes, contractures.

**Muscles** Faiblesse proximale, crampes.

**Squelette** Arthralgies proximales des articulations des os du bassin, et parfois d'articulation moins importantes

**Séreuses** Douleurs pulmonaires ou cardiaques secondaires à une pleurésie ou une péricardite.

#### Gradation de GVHD chronique :

##### Limitée :

1. Anomalies de la cavité buccale compatibles avec une GVHD chronique, une biopsie cutanée ou labiale positive sans autre manifestation clinique de GVHD chronique.
2. Perturbation modérée du bilan hépatique sanguin avec une biopsie cutanée ou labiale positive sans autre manifestation clinique de GVHD chronique.
3. Moins de 6 plaques papulo-squameuses ou un rash cutané limité ou une dépigmentation < 20% de la surface corporelle, une biopsie cutanée positive sans autre manifestation clinique de GVHD.
4. Sécheresse oculaire (test de Schirmer  $\leq 5$  mn), une biopsie cutanée ou labiale positive sans autre manifestation clinique de GVHD chronique.
5. Anomalies vulvaires ou vaginales avec une biopsie cutanée positive sans autre manifestation clinique de GVHD chronique.

##### Extensive :

1. Atteinte de deux organes ou plus avec des symptômes ou signes de GVHD chronique avec une biopsie contributive documentant une GVHD chronique quel que soit l'organe.
2. Perte de poids < 15 % non liée à d'autres causes, avec une biopsie contributive documentant une GVHD chronique quel que soit l'organe.
3. Atteinte cutanée plus importante que celle définie dans les GVHD chroniques limitées, confirmée par une biopsie.
4. Sclérodermie ou morphée.
5. Onycholyse ou onychodystrophie avec une biopsie contributive documentant une GVHD chronique quel que soit l'organe.
6. Diminution de l'amplitude articulaire des poignets ou des chevilles due à une fasciite causée par la GVHD chronique.
7. Contractures imputables à la GVHD chronique.

8. Bronchiolite oblitérante non liée à d'autres causes.

9. Biopsie hépatique positive. Anomalies de la fonction hépatique non liées à d'autres causes ((PA L > 2X LNS, ASAT ou ALAT > 3x LNS et bilirubine totale  $\leq$  1,6 mg/dl )

10. Biopsie digestive haute ou basse contributive.

## D. Annexe 3 : Définition des infections fongiques

**Table 1. Definitions of invasive fungal infections in patients with cancer and recipients of hematopoietic stem cell transplants.**

Category, type of infection	Description
Proven invasive fungal infections	
Deep tissue infections	
Molds <sup>a</sup>	Histopathologic or cytopathologic examination showing hyphae from needle aspiration or biopsy specimen with evidence of associated tissue damage (either microscopically or unequivocally by imaging); or positive culture result for a sample obtained by sterile procedure from normally sterile and clinically or radiologically abnormal site consistent with infection, excluding urine and mucous membranes
Yeasts <sup>a</sup>	Histopathologic or cytopathologic examination showing yeast cells ( <i>Candida</i> species may also show pseudohyphae or true hyphae) from specimens of needle aspiration or biopsy excluding mucous membranes; or positive culture result on sample obtained by sterile procedure from normally sterile and clinically or radiologically abnormal site consistent with infection, excluding urine, sinuses, and mucous membranes; or microscopy (India ink, mucicarmine stain) or antigen positivity <sup>b</sup> for <i>Cryptococcus</i> species in CSF
Fungemia	
Molds <sup>a</sup>	Blood culture that yields fungi, excluding <i>Aspergillus</i> species and <i>Penicillium</i> species other than <i>Penicillium marneffei</i> , accompanied by temporally related clinical signs and symptoms compatible with relevant organism
Yeasts <sup>a</sup>	Blood culture that yields <i>Candida</i> species and other yeasts in patients with temporally related clinical signs and symptoms compatible with relevant organism
Endemic fungal infections <sup>c</sup>	
Systemic or confined to lungs	Must be proven by culture from site affected, in host with symptoms attributed to fungal infection; if culture results are negative or unattainable, histopathologic or direct microscopic demonstration of appropriate morphological forms is considered adequate for dimorphic fungi ( <i>Blastomyces</i> , <i>Coccidioides</i> and <i>Paracoccidioides</i> species) having truly distinctive appearance; <i>Histoplasma capsulatum</i> variant <i>capsulatum</i> may resemble <i>Candida glabrata</i>
Disseminated	May be established by positive blood culture result or positive result for urine or serum antigen by means of RIA [17]
Probable invasive fungal infections	
At least 1 host factor criterion (see table 2); and 1 microbiological criterion; and 1 major (or 2 minor) clinical criteria from abnormal site consistent with infection	
Possible <sup>d</sup> invasive fungal infections	
At least 1 host factor criterion; and 1 microbiological or 1 major (or 2 minor) clinical criteria from abnormal site consistent with infection	

<sup>a</sup> Append identification at genus or species level from culture, if available.

<sup>b</sup> False-positive cryptococcal antigen reactions due to infection with *Trichosporon beigelii* [1], infection with *Stomatococcus mucilaginosus* [2], circulating rheumatoid factor [3], and concomitant malignancy [4] may occur and should be eliminated if positive antigen test is only positive result in this category.

<sup>c</sup> Histoplasmosis, blastomycosis, coccidioidomycosis, and paracoccidioidomycosis.

<sup>d</sup> This category is not recommended for use in clinical trials of antifungal agents but might be considered for studies of empirical treatment, epidemiological studies, and studies of health economics.

### E. Annexe 4 : Score GREFIG : score de sévérité des infections

Pour chaque événement infectieux : reporter l'événement dans le tableau « infection related complications » des Med B du PROMISE à partir de J100 inclus, et reporter le grade de chaque infection dans la colonne de droite de ce tableau

<b>EVENEMENTS</b>	<b>GRADE I</b>	<b>GRADE II</b>	<b>GRADE III</b>
<b>BACTERIEN</b>	-Foyer bactérien traité en externe (à l'exception des broncho-pneumopathies)	-Bactériémie sans signe de gravité -Foyer ne mettant pas en jeu le pronostic vital et traité en hospitalisation	-Septicémie avec signes de gravité* -Foyer mettant en jeu le pronostic vital et traité en hospitalisation
<b>FONGIQUES</b>	-Candidose superficielle	-Foyer profond à Candida sans hémoculture -Hémocultures sans signe de gravité et sans foyer -Aspergillose sinusienne simple (sans atteinte osseuse) et isolée (pas d'autres localisations)	-Septicémie à Candida ( $\geq$ 1 hémoculture) avec signes de gravité* et/ou foyers profonds -Toutes autres situations (aspergillose pulmonaire prouvée ou probable, aspergillose disséminée)
<b>VIRAL</b>  <b>CMV</b>  <b>VZV</b>	-Virémie ou antigénémie ou 2 PCR sans symptômes ni fièvre -Zona ou varicelle non compliqués, traités en externe	-Idem + fièvre isolée ou syndrome mononucléosique -Zona ou varicelle non compliqués traités à l'hôpital	-Maladie à CMV -Infection à VZV avec CIVD et/ou atteinte viscérale
<b>Toute autre infection documentée</b> (autres virus, Pneumocystis, Toxoplasma...)  <b>ou</b> <b>Episode probablement infectieux non documenté</b>	-Infection ne justifiant pas d'hospitalisation (à l'exclusion des pneumopathies)  -Fièvre non documentée en aplasie	-Infections bronchiques et/ou pulmonaires sans hypoxémie  <b>ou</b> -Infection justifiant une hospitalisation sans nécessité de soins intensifs	-Infection avec pneumopathie hypoxémiante ( $PaO_2 \leq 65$ mmHg)  <b>ou</b> -Infection nécessitant des soins intensifs  <b>ou</b> -Toutes infections mettant en jeu le pronostic vital

**\*SIGNES DE GRAVITE D'UNE SEPTICEMIE BACTERIENNE OU FONGIQUE : AU MOINS 2 CRITERES A ET 1 CRITERE B**

<b>Critères A</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Tachycardie &gt; 90/mn</li><li>-Tachypnée &gt; 20/mn</li><li>-Ventilation mécanique</li><li>-Température &gt; 38 C ou hypothermie &lt; 36 C</li></ul>
<b>Critères B</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>-HypoTA systolique &lt; 90 mmHg</li><li>-Oligurie &lt; 30ml/h ou &lt; 700 ml/24h</li><li>-PaO<sub>2</sub> &lt; 75 mmHg ou PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> &lt; 250</li><li>-Encéphalopathie (Score de Glasgow &lt; 14)</li><li>Acidose métabolique (PH &lt; 7,36 ou élévation des lactates)</li><li>-Coagulopathie (diminution de 50% du TQ ou diminution de plaquettes &lt; 100 x 10<sup>9</sup>/mm<sup>3</sup>)</li></ul>

**F. Annexe 5: Echelle de Karnovsky**

<b>100</b>	Normal et asymptomatique
<b>90</b>	Activité normale et symptômes minimes
<b>80</b>	Activité normale mais avec effort
<b>70</b>	Capable de se prendre en charge mais incapable d'avoir une activité normale ou de travailler
<b>60</b>	Nécessite occasionnellement de l'aide mais capable de survenir à la plupart des besoins
<b>50</b>	Nécessite aide et besoins médicaux fréquents
<b>40</b>	Assistance presque constante et soins médicaux spéciaux
<b>30</b>	Hospitalisation fréquente
<b>20</b>	Hospitalisation nécessaire. Assistance continue.
<b>10</b>	Malade grabataire
<b>0</b>	Décès

**G. ANNEXE 6: CHIMERISME**

Le chimérisme sera effectué selon les pratiques en cours dans le centre pratiquant l'allogreffe.

Le cas échéant, les recommandations sont celles du Groupe d'Etude du Chimérisme :

-Recommandations techniques :

Technique de PCR quantitative en temps réel, sensible et réellement quantitative pour les faibles pourcentages (Alizadeh 2002).

Sur sang total, sur la population lymphocytaire CD3+ circulante et sur les populations granuleuses définies par CD14/CD15.

-Calendrier des prélèvements:

Les dates recommandées sont lors de la sortie d'aplasie (J30-J45), J100, 6 mois, 12 mois et 2 ans et en cas de cytopénies secondaires

## H. ANNEXE 7: RECONSITUTION IMMUNITAIRE

Il s'agit d'immuno-monitoring des populations lymphocytaires circulantes par phénotypes lymphocytaires itératifs selon les pratiques en cours dans le centre pratiquant l'allogreffe.

### -Recommandations techniques

Populations lymphocytaires T : marqueurs CD3, CD4, CD8, CD45RA, CCR7

Populations lymphocytaires B : marqueurs CD19, CD27, IgD. Electrophorèse des protides.

Populations lymphocytaires NK : marqueurs CD3neg, CD56+.

### -Calendrier des prélèvements

Les dates recommandées sont 3, 6, 12 et 24 mois.

I. ANNEXE 8: SCHEMA GENERAL DE L'ETUDE

Aplasie médullaire sévère constitutionnelle ou acquise  
en échec de traitement immunosuppresseur\*

*\*2 cures de SAL CSA*

Absence de donneur familial ou  
non apparenté 10/10

INFORMATION PATIENT

CONSULTATION PREGREFFE  
Consentement patient

INCLUSION

1<sup>er</sup> FAX au DBIM

01 42 49 97 45

Myélogramme dans les 6  
semaines qui précèdent la greffe

GREFFE

2<sup>eme</sup> FAX au DBIM

confirmation du début du  
conditionnement

SUIVI: 12 et 24 mois (Infections, GVHD, chimérisme,  
reconstitution)

## J. ANNEXE 9: LISTE DES CENTRES PARTICIPANTS

Centres	Investigateurs	Téléphone investigateur principal	Services	Adresses
<b>Saint Louis (Paris)</b>	<b>Coordonnateur</b> R. Peffault de Latour (PH)  <b>Co-investigateurs</b> M. Robin (PH) V. Rocha (PH) A. Devergie (PH) P. Ribaud (MCU PH) G.Socie (PU PH)	01 42 49 96 60	Service d'Hématologie-Grefe	Hôpital Saint Louis 1, avenue Claude Vellefaux 75010 Paris
<b>Angers</b>	<b>Principal</b> F. Sylvie (PU PH)  <b>Co-investigateur</b> N. Ifrah (PU PH)	02 41 35 44 75	Médecine D Maladies du Sang	CHU d'Angers 49033 Angers Cedex
<b>Besançon</b>	<b>Principal</b> F. Legrand (PH)	03 81 66 82 32	Service d'Hématologie	CHU de Besançon Boulevard Fleming 25030 Besançon cedex
<b>Bordeaux</b>	<b>Principal</b> N. Milpied (PU PH)  <b>Co-investigateur</b> R. Tabrizi (PH) A. Pigneux (PH) S. Vigouroux (PH)	05 57 65 65 11	Service des Maladies du Sang	CHU Haut Lévêque Centre Francois Magendie 33600 Pessac
<b>Caen</b>	<b>Principal</b> R. Oumedaly (PH)	02 31 27 25 39	Service d'Hématologie Clinique	CHU de Caen Bld Georges Clemenceau 14033 Caen Cedex
<b>Clermont Ferrand (service enfant)</b>	<b>Principal</b> C. Paillard (PH)  <b>Co-investigateur</b> F. Demeocq (PU PH) J. Kanold (PH) E. Dore (PH)	04 73 27 81 12	Unité de Transplantation médullaire	Hôpital Hôtel Dieu Pavillon Villemin Pasteur 11 Bld Léon Malfreyt 63058 Clermont Ferrand
<b>Clermont Ferrand (service adulte)</b>	<b>Principal</b> J. O. Bay (PU PH)  <b>Co-investigateur</b> O. Tournilhac (PU PH) E. Hermet (PH) C. Chalteil (PH) B. de Renzis (PH)	04 73 76 10 95	Service d'Hématologie clinique et de Therapie Cellulaire Adulte	Hôpital Hôtel Dieu Pavillon Villemin Pasteur 11 Bld Leon Malfreyt 63058 Clermont Ferrand
<b>Grenoble</b>	<b>Principal</b> J. Y. Cahn (PU PH)  <b>Co-investigateur</b> C. E. Buladois (PH) F. Garban (PH)	04 76 76 57 55	Département de Cancérologie et d'Hématologie	Hôpital Albert Michallon CHU de Grenoble BP 217 38243 Grenoble Cedex
<b>Hôtel Dieu (Paris)</b>	<b>Principal</b> B. Rio (PH)  <b>Co-investigateur</b> S. Lapusan (ATT) A. Vekoff (ATT)	04 76 76 57 55	Département de Cancérologie et d'Hématologie	Hôpital Albert Michallon CHU de Grenoble BP 217 38243 Grenoble Cedex

<b>Lille</b>	<b>Principal</b> L. Terriou (CCA)	03 20 54 29 97	Service des maladies du sang	C.H.R. de Lille Hôpital Huriez Rue Michel Polonovski 59037 Lille Cedex
<b>Lyon</b>	<b>Principal</b> M. Michallet (PU PH)  <b>Co-investigateur</b> F. Nicolini (PH) J. Troncy (PH) S. Ducastelle (PH) E. Nicolas-Virelizier (CCA) G. Cannas (CCA) F. Baracco (attachée) X. Thomas (PH) C. Plesa (PH)	04 72 11 74 02	Service d'Hématologie	Hôpital Edouard Herriot 5, place d'Arsonval 69437 Lyon Cedex 03
<b>Marseille (service adulte)</b>	<b>Principal</b> D. Blaise (PU PH)  <b>Co-investigateur</b> C. Faucher (PH)	04 91 22 37 54	Service d'Hématologie	Institut Paoli-Calmette 232 Bld sainte Marguerite 12273 Marseille Cedex 05
<b>Marseille (service enfant)</b>	<b>Principal</b> C. Galambrun (PH)  <b>Co-investigateur</b> G. Michel (PU PH) C. Curtillet (PH) I. Thuret (PH)	04 91 38 60 00	Pédiatrie et Hématologie Pédiatrique	Hôpital de la Timone 264,Rue Saint-Pierre 13385 Marseille Cedex 5
<b>Nancy</b>	<b>Principal</b> A. Salmon (PH)  <b>Co-investigateur</b> P. Bordigoni (PU PH) C. Laurence (PH)	03 83 65 63 72	Département d'Hématologie- Oncologie Pédiatrique	CHU de Nancy 36, Quai de la Bataille, 54
<b>Nantes</b>	<b>Principal</b> M. Mohty (PU PH)  <b>Co-investigateur</b> P. Chevalier (PH) Dr Jacques Delaunay(PH)- Dr Guillaume Thierry(PH) Dr Sameh Ayari(Assistante) Dr Françoise Mechinaud(PH)	02 40 08 92 71	Service d'Hématologie Clinique	CHU Hôtel Dieu Place Alexis Ricordeau 44093 Nantes Cedex 01
<b>Necker (service adulte)</b>	<b>Principal</b> O. Hermine (PU PH)  <b>Co-investigateur</b>	01 44 49 52 86	Service d'Hématologie Adultes	Hôpital Necker Enfants Malades 149, rue de Sèvres 75743 Paris Cedex 15
<b>Necker (service enfant)</b>	<b>Principal</b> M. Cavazzana-Calvo (PU PH)  <b>Co-investigateur</b> A. Fischer (PU PH)	01 44 49 48 22	Service d'Immunologie & Hématologie Pédiatrique	Hôpital Necker Enfants Malades 149, rue de Sèvres 75743 Paris Cedex 15
<b>Pitié Salpêtrière (Paris)</b>	<b>Principal</b> S. Nguyen (PH)	01 42 16 28 23 22	Service d'Hématologie Clinique	Hôpital La Pitié Salpêtrière 47 83, bld de l'Hôpital

	<b>Co-investigateur</b>			75651 Paris Cedex 13
<b>Rennes</b>	<b>Principal</b> M. Bernard (PH) <b>Co-investigateur</b> T. Lamy (PU PH)	02 99 28 42 91	Service d'Hématologie Clinique	Hôpital Pontchaillou 2, rue Henri Le Guilloux 35033 Rennes Cedex
<b>Robert Debré</b>	<b>Principal</b> J.H. Dalle (PU PH) <b>Co-investigateur</b> A. Baruchel (PU PH) Karima Yacouben (PH)	01 40 03 47 40	Unité d'Hemato- Immunologie	Hôpital Robert Debré 48, Bld Sérurier 75019 Paris
<b>Rouen</b>	<b>Principal</b> J.P. Vannier (PU PH) <b>Co-investigateur</b> P. Schneider (PH) P. Schneider (PH) A.M. Cardine (PH) C. Dumesnil de Maricourt (PH) N. Buchbinder (PH)	02 32 88 89 90	Département d'Hématologie oncologie pediatrique	Hôpital Charles Nicolle 1, rue Germont 76000 Rouen
<b>Saint Antoine</b>	<b>Principal</b> M.T. Rubio	01 49 28 26 21	Département d'Hématologie Clinique	Service d'Hématologie et Thérapie cellulaire, Hôpital Saint Antoine, 184, rue du Faubourg Saint Antoine, 75012 Paris.
<b>Saint Priest en Jarez</b>	<b>Coordonnateur</b> J. Cornillon (PH) <b>Co-investigateurs</b> D. Guyotat (PU PH) E. Tavernier (PH)		Service d'Hématologie	Institut de Cancérologie de la Loire 108 bis avenue Albert Raimond 42270 Saint Priest en Jarez
<b>Strasbourg</b>	<b>Principal</b> P. Lutz (PU PH) <b>Co-investigateur</b> N. Entz-Werle (PH) N. Cojean (PH)	03 88 12 76 75	Service d'Onco- Hématologie pediatrique	CHU Hautepierre 1, avenue Molière 67098 Srasbourg Cedex

## K. ANNEXE 10: CHOIX DU GREFFON

<b>Choix</b>	<b>Nombre d'unités</b>	<b>Nombre de cellules /Kg</b>	<b>Compatibilité</b>
<b>1</b>	1 unité	$\geq 4 \times 10^7$ /USP	6/6, 5/6 et 4/6 dans la même classe HLA
<i>A défaut d'une unité <math>\geq 4 \times 10^7</math> et de l'une des compatibilités précédentes, prendre :</i>			
<b>2</b>	2 unités	$< 4 \times 10^7$ /USP	Compatibilité entre chaque greffon et entre les greffons et le receveur : 6/6, 5/6 et 4/6 dans la même classe HLA
<i>En l'absence des choix 1 et 2:</i>			
<b>3</b>	1 unité	$\geq 4 \times 10^7$ /USP	4/6 dans les 2 classes HLA
<i>En l'absence des choix 1, 2 et 3:</i>			
<b>4</b>	2 unités	$< 4 \times 10^7$ /USP	Compatibilité entre chaque greffon et entre les greffons et le receveur 4/6 avec différence d'un antigène dans les 2 classes HLA

**Remarque :** Un patient présentant une aplasie médullaire constitutionnelle ne peut recevoir qu'une seule unité de sang placentaire, 6/6 ou à défaut 5/6 contenant plus de  $4 \times 10^7$  cellules nucléées totales par Kg.

## L. ANNEXE 11: SUIVI POST-GREFFE

	Dans les 6 semaines avant la greffe	J-6 > J-2	J0	J45	J60	J100	J180	12 mois	18 mois	24 mois
<b>Information et recueil du consentement éclairé, signé Fax 1 =INCLUSION</b>	X									
<b>Bilan clinique</b>	X	<i>HOSPITALISATION</i>			X	X	X	X	X	X
<b>Bilan pré-greffe selon les centres (Biologie et Imagerie)</b>	X									
<b>Myélogramme</b>	X									
<b>Fax 2 : DEBUT DU CONDITIONNEMENT</b>		X								
<b>Biologie standard*</b>				X	X	X	X	X	X	X
<b>Chimérisme</b>	X			X**		X		X		X
<b>Phénotypage lymphocytaire et EDP***</b>				X		X	X	X		X

\*Numération formule sanguine, ionogramme sanguin, urée créatininémie, bilan hépatique complet.

\*\*Le premier chimérisme a lieu dès J30 (lors de la sortie d'aplasie et avant J60).

\*\*\*Electrophorèse des protides

## M. ANNEXE 12: CONDITIONNEMENTS

Jour	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	+45	+150	+270
<b>Endoxan 30mg/Kg</b>	X	X	X	X						
<b>Fludarabine</b>	X	X	X	X						
<b>SAL</b>				X	X					
<b>ICT 2 Gy</b>						X				
<b>Grefe</b>							X			
<b>Ciclosporine (&gt;200µg/l)</b>				X	X	X	X	X	diminution	STOP
<b>MMF 15 mg/Kg x 2/J</b>				X	X	X	X	STOP		

- Cyclophosphamide\* : 30 mg/Kg de J-6 à J-3 (dans 250 ml de sérum glucosé sur 3 heures). On maintiendra une hydratation d'au moins 4 l/m<sup>2</sup> de sérum glucosé avec 6g de NaCl/l et on réalisera une protection vésicale par uromitexan (dose quotidienne double de la dose de cyclophosphamide à répartir en 4 prises).

- Fludarabine\* 30 mg/m<sup>2</sup> de J-6 à J-3 (dans 100 ml de sérum physiologique en 30 minutes).

- Sérum Antilymphocytaire (Thymoglobuline, Genzyme) 3,75mg/Kg de J-3 à J-2 (dans 50 ml de sérum physiologique en 12 heures). La prémédication est celle utilisée habituellement dans les centres.

- Irradiation corporelle totale de 2 Grays à J-1 (délivrée à 6-7 cGy/mn depuis 2 sources de Co 60 ou une dose équivalente délivrée par un accélérateur linéaire).

- Prévention des réactivations EVB et lymphomes EBV : une injection d'anti CD20 Rituximab (Mabthera®) 150 mg/m<sup>2</sup> est réalisée à J5

**\*La dose de cyclophosphamide sera diminuée à 10mg/Kg de J-6 à J-3 en cas d'aplasie médullaire constitutionnelle.**

N. ANNEXE 13: PREVENTION ET TRAITEMENT DES  
INFECTIONS

<b>Pneumocoque</b>	Clamoxyl : 500 mg matin Si allergie, Rulid : 2/j
<b>BGN</b>	- Secteur stérile, alimentation stérile, décontamination digestive totale - Hémoculture quotidienne si corticoïdes
<b>HSV/VZV</b>	- PCR herpes virus hebdomadaire jusqu'à J100 - Prophylaxie par Zelitrex 500 mg x 2/j - Traitement par Zovirax 30 mg/Kg/j
<b>CMV (pré-emptif)</b>	- PCR hebdomadaire - Si > 1000 copies/ml, traitement par Foscarnet 180 mg/Kg ou Cymevan 5 mg/Kg/12h x 2/j 14 jours
<b>EBV (pré-emptif)</b>	- PCR hebdomadaire - Si > 10 000 copies/ml, Mabthera 375 mg/m <sup>2</sup> à renouveler si PCR reste > 10 000 copies/ml
<b>Infection fongique</b>	- Secteur stérile, alimentation stérile, décontamination digestive totale - Triflucan 400 mg/j à partir de J+1 - Traitement pré-emptif par Cancidas si fièvre sous triflucan
<b>Toxoplasma gondii</b>	- PCR hebdomadaire - Bactrim forte : 1 cp x 3/sem avec rescue acide folinique 25 mg par semaine
<b>Pneumocystis jiroveci</b>	- Bactrim forte : 1 cp x 3/sem avec rescue acide folinique 25 mg par semaine





Récidive après ré-administration : non  oui  non applicable  date : |\_\_| |\_\_| |\_\_| |\_\_|  
|\_\_| |\_\_| |\_\_|

**12) Selon l'investigateur, l'événement indésirable grave semble plutôt lié :**

- au(x) médicament(s) de la recherche : le(s)quel(s) : \_\_\_\_\_  à une maladie intercurrente  
 au(x) médicament(s) concomitant(s) : le(s)quel(s) : \_\_\_\_\_  à la progression de la maladie  
 aux procédures de la recherche biomédicale  autre : \_\_\_\_\_

Date : |\_\_| |\_\_| |\_\_| |\_\_| Tampon du service : \_\_\_\_\_ Nom de l'Investigateur: \_\_\_\_\_  
Signature :

Nom et fonction du Notificateur: \_\_\_\_\_ Téléphone \_\_\_\_\_ Signature :

**PARTIE RESERVEE AU PROMOTEUR : NE PAS REMPLIR**

*Numéro d'identification de l'événement : EV |\_\_| |\_\_| |\_\_| |\_\_|*

Date de réception par le promoteur : |\_\_| |\_\_| |\_\_| |\_\_| |\_\_|

Date de ce rapport : |\_\_| |\_\_| |\_\_| |\_\_| |\_\_|  initial  suivi n°  
|\_\_|

**Selon le promoteur, l'événement indésirable semble plutôt lié :**

- au(x) médicament(s) de la recherche : le(s)quel(s) : \_\_\_\_\_  à une maladie intercurrente  
 au(x) médicament(s) concomitant(s) : le(s)quel(s) : \_\_\_\_\_  à la progression de la maladie  
 aux procédures de la recherche biomédicale  autre : \_\_\_\_\_

**Si selon le promoteur, l'événement semble plutôt lié au médicament :**

- L'événement indésirable grave est attendu  L'événement indésirable grave est inattendu

**Commentaires du promoteur :**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Nom et qualité du représentant du promoteur**

:..... Signature :.....

## P. ANNEXE 15 : GRILLE DE CLASSIFICATION DES EIG

## Grille de Classification des Evénements Indésirables pour une Recherche Biomédicale portant sur un médicament ou un produit assimilé

Risque de la Recherche : I\_D\_\_I

Comité de Surveillance Indépendant : Oui  Non 

Grille d'EIG pour la Recherche Biomédicale (Art. R. 1123-54 du Code de la Santé publique)

Evaluation de la réduction de la toxicité des greffes de sang placentaire par l'utilisation d'un conditionnement atténué chez des patients atteints de leucémie aiguë myéloblastique - &lt;CODE PROJET&gt;

<b>NE PAS NOTIFIER PAR FAX au promoteur</b> (pas de remplissage du formulaire de déclaration d'EIG) <b>mais à reporter sur les pages événements indésirables du CRF</b>		<b>A NOTIFIER SANS DELAI par l'investigateur au promoteur</b> (envoi du formulaire de déclaration d'EIG par fax au 01 44 84 17 99) et à reporter sur les pages événements indésirables du CRF		
Evénements autres	Effets Indésirables Non Graves attendus	Effets Indésirables Graves attendus	Effets Indésirables Graves inattendus	
Liés à l'évolution de la maladie	Connus pour être liés : au(x) médicament(s) expérimental (aux) ou aux procédures de la recherche.	Connus pour être liés : au(x) médicament(s) expérimental (aux) ou aux procédures de la recherche.		
Décès liés à l'évolution de la maladie	<ul style="list-style-type: none"> <li>- fièvre</li> <li>- nausée, vomissements, diarrhée,</li> <li>- asthénie</li> <li>- stomatite.</li>   <li>- GVH de grades 1 ou 2</li> <li>- infection de grades 1 ou 2</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Décès ou hospitalisation en réanimation</li> <li>- GVH de grades 3 et 4</li> <li>- Infection bactérienne, parasitaire, virale ou fongique de grade égal ou supérieur à 3.</li> <li>- Non prise ou rejet de la greffe</li> <li>- Anémie ou thrombopénie auto-immune survenant dans les 3 premiers mois.</li> <li>- Troubles neurologiques sévères</li> <li>* troubles visuels</li> <li>* coma</li> <li>* convulsions</li> <li>* encéphalopathie au cours du premier mois de la greffe</li> </ul>	<p>Cette colonne se remplira au fur et à mesure des notifications par les investigateurs.</p> <p>Notifier tous les événements présentant l'un des critères de gravité* noté ci-dessous, à l'exception de ceux identifiés dans les autres colonnes</p> <p>*Critères de gravité:  1- Décès  2- Mise en jeu du pronostic vital  3- Nécessite ou prolonge l'hospitalisation  4- Séquelles durables  5- Anomalie ou malformation congénitale  6- Evénement jugé grave par l'investigateur (raison à préciser)</p> <p>ATTENTION : toute découverte d'une GROSSESSE au décours d'une recherche biomédicale doit être immédiatement déclarée au promoteur et fera l'objet d'un suivi jusqu'à l'accouchement.</p>	
Nom, prénom et signature de l'investigateur coordonnateur :	Nom, prénom et signature du responsable de l'URC:	Nom, prénom et signature du chef de projet :	Nom, prénom et signature du responsable pharmacovigilance:	Nom, prénom et signature du coordonnateur médical: