



HAL
open science

Incidence de la cystite hémorragique à BK virus et déterminants cliniques et virologiques dans la greffe halo-identique de cellules souches hématopoïétiques: étude observationnelle prospective monocentrique

Lucile Debus

► To cite this version:

Lucile Debus. Incidence de la cystite hémorragique à BK virus et déterminants cliniques et virologiques dans la greffe halo-identique de cellules souches hématopoïétiques: étude observationnelle prospective monocentrique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. dumas-02384536

HAL Id: dumas-02384536

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02384536>

Submitted on 28 Nov 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2018

N°3104

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 2 octobre 2018 par Lucile DEBUS

Née le 31 Janvier 1988 à Mulhouse (68)

Incidence de la cystite hémorragique à BK virus et déterminants cliniques et virologiques dans la greffe haplo-identique de cellules souches hématopoïétiques :

Etude observationnelle prospective monocentrique

Directeur de thèse

Madame le Dr. Gaëlle LABOURE

Rapporteur

Monsieur le Pr. Régis PEFFAULT DE LA TOUR

Jury

Monsieur le Pr. Noël MILPIED	Président
Madame le Pr. Marie-Edith LAFON	Juge
Madame le Pr. Bénédicte ROQUEBERT	Juge
Madame le Dr Patricia ZUNIC	Juge

Université de Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2018

N°3104

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 2 octobre 2018 par Lucile DEBUS

Née le 31 Janvier 1988 à Mulhouse (68)

Incidence de la cystite hémorragique à BK virus et déterminants cliniques et virologiques dans la greffe haplo-identique de cellules souches hématopoïétiques :

Etude observationnelle prospective monocentrique

Directeur de thèse

Madame le Dr. Gaëlle LABOURE

Rapporteur

Monsieur le Pr. Régis PEFFAULT DE LA TOUR

Jury

Monsieur le Pr. Noël MILPIED	Président
Madame le Pr. Marie-Edith LAFON	Juge
Madame le Pr. Bénédicte ROQUEBERT	Juge
Madame le Dr Patricia ZUNIC	Juge

REMERCIEMENTS

Monsieur le Professeur Noël Milpied

Vous me faites l'honneur de présider le jury de ma thèse. Merci pour votre disponibilité et votre écoute au quotidien. Merci pour tout ce que vous m'avez appris pendant mes 2 ans à Bordeaux et pour avoir respecté mes choix tout en étant présent et en me guidant.

Aux membres du jury

Madame le Professeur Marie-Edith LAFON

Vous avez accepté avec bienveillance de faire partie du jury de cette thèse. Merci d'avoir pris le temps de me rencontrer et de m'aider à apprivoiser les techniques virologiques. Soyez assurée de ma sincère reconnaissance.

Madame le Professeur Bénédicte ROQUEBERT

Vous me faites l'honneur de faire partie de ce jury de thèse.

Madame le Docteur Patricia ZUNIC

Je vous remercie d'avoir accepté de vous prononcer sur l'intérêt de ce travail et de faire partie du jury de cette thèse.

A mon rapporteur,

Monsieur le Professeur Régis PEFFAULT DE LA TOUR

Je vous remercie d'avoir accepté d'être le rapporteur de ma thèse. C'est un grand honneur pour moi de pouvoir bénéficier de votre expertise dans ce domaine.

A ma directrice de thèse

Madame le Docteur Gaëlle LABOURE

Je tiens à te remercier d'avoir accepté d'être ma directrice de thèse. Merci pour ta disponibilité, ton énergie, et ton soutien tout au long de cette année. Ta rigueur de raisonnement, ton esprit clinique et scientifique sont des modèles pour moi. C'était un réel plaisir de travailler avec toi.

Monsieur le Professeur Antoine TOUZE

A l'Etablissement français du Sang de Bordeaux

A l'équipe de soutien méthodologique du CHU de la Réunion

A toutes les équipes qui m'ont accueillie

A l'équipe d'hématologie de Haut Lévêque :

Merci à Stéphane pour son encadrement dès mon arrivée au G6 et son aide précieuse. Merci à Laurence, Edouard, Réza, Krime, Marie-Sarah, Thibaut, Axelle, Cyril et Sophie de m'avoir appris tant de choses. Merci à Mathieu et Nadège, ainsi qu'aux autres ARC du service. Merci aux équipes paramédicales du G6, G5, et G1. Merci particulièrement à Guillaume Gargallo et Fabienne Adiko, l'infirmier et la secrétaire de greffe qui ont grandement facilité le recueil des patients.

A l'équipe d'Hématologie du CHU Sud Réunion :

Merci à Quentin, Anne, Catherine et Elisabeth de m'avoir accueillie dans votre service. Merci pour votre encadrement et votre soutien tout au long de cette dernière année d'internat. Merci aux équipes paramédicales.

A l'équipe du laboratoire d'Hématologie du CHU Sud Réunion :

Merci à Alain Clabe, à Bakouli pour votre accompagnement. Merci à Armel, Jean-Paul, Sony, Ludovic et toute l'équipe de techniciens pour votre accueil, votre bonne humeur et nos cafés au soleil.

A l'équipe médicale et paramédicale du service de réanimation du Centre Hospitalier de Mayotte

A l'équipe médicale et paramédicale du service de réanimation du Centre Hospitalier de Libourne

A l'équipe médicale et paramédicale du service de néphrologie du CHU Félix Guyon

A mes co-internes d'hématologie : Nathan, Harmony, Titouan, Clémence, Claire, FX, Baptiste, Simon, Jean, Léa, Romain

A ma famille

Mes parents, mes frère et sœurs, Gautier, Géraldine et Marine ainsi que vos conjoints Claire, Benjamin et Mika

Mes neveux et nièces, Romain, Maëlys, Margaux, Louise, Baptiste, Jules, Louis, Jeanne et Auguste.

A Mathieu, ta présence au quotidien. Toujours là avec des mots justes et des paroles douces. Merci pour ta confiance infaillible et tes encouragements, pour l'équilibre que tu m'apportes.

A bébé choup' qui verra bientôt le jour.

A mes amis

Elsa et Lionel, Julia, Magali et JB, Louise et Mathias, Marion, Agnéta et Thomas, votre amitié m'est précieuse, nos discussions interminables, nos aventures réunionnaises et mahoraises.

Mes amis de longue date : Aude et Baptiste, Simon, Morgane, mes amis de toujours malgré la distance qui nous sépare.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	9
2. CONTEXTE MEDICAL ET SCIENTIFIQUE	11
1. La cystite hémorragique à BK virus.....	11
2. La prise en charge préventive et curative.....	12
Prise en charge préventive.....	12
Prise en charge curative.....	13
Recommandation de l'ECIL.....	13
3. La cystite hémorragique dans l'allogreffe.....	14
Etudes rétrospectives.....	14
Etudes prospectives.....	15
Dans l'allogreffe haploidentique.....	16
4. Intérêt de la problématique.....	16
3. ARTICLE	17
4. RESUME DE L'ARTICLE	39
5. DISCUSSION	40
6. CONCLUSION	41
7. BIBLIOGRAPHIE	44

TABLEAUX ET FIGURES

Table 1 : Patients and disease characteristics of the population study

Table 2 : Characteristics of patients with BKV-HC

Table 3 : Characteristics of patients with or without BKV-HC

Figure 1: Study flowchart

Figure 2: Evolution curve of the weekly urinary BKV-PCR for the 4 patients who presented HC

Figure 3: Median weekly positive BKV-PCR in urine rates for patients with and without HC (patients 2-3-6 et 9 with HC)

Figure 4: Probability of survival at day+100 post allograft according to the presence or absence of BKV-HC

Annexe 1 : Protocole de prise en charge préventive et curative de la cystite hémorragique

Annexe 2 : Feuille de prescription patient

Annexe 3 : Formulaire d'information patient

ABREVIATIONS

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CH : Cystite hémorragique

BKV : BK virus

GVH : Réaction du greffon contre l'hôte

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ATU : Autorisation Temporaire d'Utilisation

ECIL : European Conference on Infections in Leukaemia

MAC : Conditionnement myéloablatif

1. INTRODUCTION

La prise en charge des hémopathies malignes fait appel bien souvent à une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) afin de réduire le risque de rechute et d'optimiser les chances de guérison. La greffe est réalisée à partir de plusieurs sources de greffon possibles : donneur intrafamilial parfaitement identique (génénoïdétique), donneur de ficher parfaitement identique (phénoïdétique) ou comportant un mismatch, sang de cordon. Récemment, l'allogreffe à partir d'un donneur familial haploïdétique a été développée, permettant de s'affranchir de la pénurie de donneurs de CSH parfaitement compatibles (1). Elle implique un conditionnement plus immunosuppresseur et également vésicoirritant utilisant le Cyclophosphamide à forte dose, pouvant faire le lit de la réactivation du BK virus, responsable du tableau de cystite hémorragique. Le taux de greffe de type haploïdétique réalisé est variable selon les centres greffeurs.

L'incidence de la cystite hémorragique (CH) à BK virus (BKV) est de 10 à 70% selon les études chez les patients allogreffés. L'origine est probablement multifactorielle : la toxicité de la chimiothérapie, la réaction du greffon contre l'hôte (GVH), les infections virales, la thrombopénie peuvent être des facteurs de risque potentiels. D'autre part cette incidence semble plus importante chez les patients atteints d'hémopathie maligne traités par allogreffe de CSH de type haploïdétique, de l'ordre de 62% dans une étude récente de l'équipe de l'hôpital Saint-Antoine à Paris (2), avec un délai médian d'apparition de 38 jours post-greffe.

Le tableau de CH à BKV est associé à un excès de morbidité, à une prolongation de la durée d'hospitalisation, et à une augmentation de la dépense de soins (traitement anti-viral au long cours par voie veineuse, irrigation vésicale, transfusions répétées).

Les données de la littérature disponibles sur l'incidence, les facteurs de risque et les conséquences de la CH à BKV chez le patient allogreffé (tout type de donneur) reposent cependant sur des séries limitées rétrospectives et peu homogènes. Seule une étude prospective a recherché une corrélation entre l'apparition de signes cliniques de cystite hémorragique et les analyses virologiques (3). Cependant celle-ci évalue une petite série inhomogène incluant des patients allogreffés et autogreffés rendant les résultats peu extrapolables.

Il n'existe pas de seuil virologique de détection du BKV sanguin ou urinaire permettant une

intervention thérapeutique préemptive dans le contexte de l'allogreffe haploidentique. Il n'existe pas de marqueurs biologiques intrinsèques au couple donneur-receveur prédictifs d'une réactivation à BK-virus. A l'heure actuelle aucune recommandation n'est émise sur les modalités et la fréquence de détection des réactivations BKV dans le sang et dans les urines. De même, il n'y a pas de traitement prophylactique reconnu, ni de consensus sur la stratégie thérapeutique. Le traitement repose sur un traitement anti-viral, le Cidofovir n'ayant plus l'AMM en France (ATU uniquement).

À ce titre nous avons réalisé une étude observationnelle prospective au CHU de Bordeaux sur l'incidence et les facteurs de risques de la CH à BKV chez les patients traités par allogreffe haploidentique de CSH.

2. CONTEXTE MEDICAL ET SCIENTIFIQUE

1. La cystite hémorragique à BK virus

Le BKV appartient à la famille des Polyomaviridae. Il fut isolé pour la première fois en 1971 par Gardner et al (4). Le BKV est un virus ubiquitaire. La primo infection se produit majoritairement durant l'enfance, avec un pic aux alentours de 4-5 ans. La plupart du temps elle est asymptomatique. Jusqu'à 90% des adultes sont séropositifs pour le BKV. La transmission interhumaine aurait lieu par les voies respiratoires (5).

L'histoire naturelle du BK virus se produit en trois phases :

- La primo-infection le plus souvent dans l'enfance
- La phase de latence dans l'organisme
- La réactivation ou réinfection le plus souvent chez les patients immunodéprimés

La CH à BKV est diagnostiquée selon l'ECIL 6 par une triade associant :

- Des signes cliniques urinaires tels que dysurie, brûlures urinaires, pesanteur pelvienne,
- La présence d'une hématurie de grade supérieur ou égal à 2,
- Une PCR BK virus dans les urines $>10^7$ copies/ml et/ou une PCR BK virus dans le sang $>10^3$ copies/ml.

Par ailleurs, quatre stades sont définis selon la classification de Bedi et al (6) :

- 1) hématurie microscopique de 2 jours minimum
- 2) hématurie macroscopique sans caillot
- 3) hématurie macroscopique avec caillot
- 4) hématurie macroscopique avec retentissement rénal et/ou vésical.

Lors de la réactivation du BKV, l'étude cytologique des urines peut mettre en évidence des « decoy cells » après coloration au Papanicolaou.

2. La prise en charge préventive et curative

La prise en charge préventive

La prise en charge préventive de la CH comprend essentiellement une hyperhydratation à 3L/m² pendant le conditionnement à la greffe associée à l'Uromitexan lors de l'utilisation du Cyclophosphamide. L'hyperhydratation débute quelques heures avant le traitement par Cyclophosphamide jusque 24 heures après la fin du traitement. In vitro, Les fluoroquinolones ont montré une activité contre la réplication du BKV par l'inhibition de l'ADN gyrase (7). Certaines études se sont intéressées à la prophylaxie de la CH à BKV.

Miller et al en 2011 (8) ont réalisé une étude rétrospective sur l'utilisation du Ciprofloxacine en prophylaxie de la CH à BKV. Ils utilisaient le Ciprofloxacine à la dose de 500mg 2 fois par jour de J0 à J60. Ils ont montré une diminution significative de l'incidence cumulée de la CH de grade 3-4 dans le groupe avec prophylaxie versus le groupe sans prophylaxie (2,6% versus 20,9%, p = 0,01). D'autre part ils ne semblaient pas mettre en évidence de majoration du risque infectieux sous antibiothérapie au long cours ni de l'incidence des colites à *Clostridium difficile*. Cependant Philips et al (10) dans une étude similaire monocentrique à Singapour, cette fois ci prospective ne retrouvait pas de bénéfice à la prophylaxie par fluoroquinolones dans la CH à BKV.

Dans l'étude observationnelle de Gargiulo en 2014 (9), les auteurs se sont intéressés aux différentes prophylaxies de la CH utilisées en Italie. Soixante-six pourcents des patients recevaient une prophylaxie par fluoroquinolones (Ciprofloxacine 1g par jour, Lévofloxacine 500mg par jour) et 11,8% bénéficiaient d'un sondage vésical préventif de la CH.

Il n'y a pas de recommandation à l'heure actuelle sur la prévention de la CH à BKV ni sur un suivi hebdomadaire des PCR sanguines et urinaires du BKV.

La prise en charge curative

La prise en charge curative de la CH à BKV est uniquement symptomatique. Elle associe une hyperhydratation à un traitement antispasmodique et à l'Oxybutinine. En fonction du grade de la CH, une sonde vésicale avec lavage à double courant est mise en place. Le traitement par acide tranexamique est déconseillé dans la CH à BKV favorisant le caillottage. Le seuil plaquettaire est en général majoré à 50G/l.

Il n'y a pas de consensus actuellement ni de recommandation sur un traitement spécifique de la CH à BKV. Le traitement le plus utilisé en France est le Cidofovir qui n'a pas l'AMM, seulement une ATU, associé ou non au Probenécide.

Philippe et al (11) en 2016 ont publié une étude rétrospective sur l'utilisation du Cidofovir dans la CH à BKV post allogreffe de CSH. Vingt-sept patients sur les 181 inclus ont développé une CH à BKV et bénéficié d'un traitement par Cidofovir à la dose de 5mg/kg associé au Probenécide. La médiane de traitement était de 4 injections. Le schéma d'administration variait selon la sévérité de la CH d'une à 2 fois par semaine, à 1 fois tous les 15 jours. Sur les 27 patients traités, 24 patients (88,9%) avaient reçu des injections intraveineuses, un patient une injection intravésicale et 2 patients ont bénéficié des 2 interventions associées. Les réponses complètes étaient de 81,5% avec une toxicité rénale non négligeable pour 8 patients (29,6%), dont 2 atteintes sévères.

Plusieurs études réalisées sur des cohortes très limitées, ou des cas cliniques ont été rapportées sur l'utilisation de méthodes alternatives :

- Injection intra vésicale de Cidofovir (12, 13)
- Fluoroquinolones (7)
- Hyperbarie (14)
- Cystectomie (15)

Recommandations de l'ECIL

Dans les recommandations de l'ECIL 6 (16), il n'y a actuellement pas de consensus sur une prise en charge spécifique de la CH à BKV préventive ou curative. Il n'y a pas à ce jour

d'efficacité prouvée des fluoroquinolones en prophylaxie ni en thérapeutique. D'autant plus que cela augmente le risque de résistance aux antibiotiques.

L'hyperbarie et la colle de fibrine semblent montrer peu de résultats dans les petites études réalisées. Le Cidofovir, même s'il paraît intéressant en diminuant la virémie et la virurie du BK virus, n'a pas produit de données suffisantes pour être utilisé en routine. Cependant il est certain que l'hyperhydratation et le sondage vésical sont des moyens insuffisants pour prendre en charge de façon optimale la CH à BKV et de nouvelles études randomisées prospectives seraient nécessaires pour une avancée thérapeutique préventive ou curative.

3. La cystite hémorragique dans l'allogreffe

L'association entre le BKV et la survenue de la CH chez les patients greffés de CSH est connue depuis la fin des années 1980 (17).

La CH à BK virus survient le plus souvent tardivement, dans les 2 mois post greffe, après la sortie d'aplasie. Son incidence varie largement selon les études.

Plusieurs facteurs de risque ont été mis en évidence.

Etudes rétrospectives

Bogdanovic et al en 2004 (18) ont testé de façon hebdomadaire les urines de 31 patients allogreffés depuis la greffe jusqu'à 12 mois post greffe. Lorsque la recherche cytologique de BKV était positive, ils réalisaient une PCR. Cinquante-deux pourcents des patients (n=16) avaient des PCR positives dont 6 patients ont développé une CH. Sur ces 6 patients, tous avaient positivé les PCR urinaires avant les symptômes cliniques. Le taux de BKV dans les urines était plus important chez les patients ayant présenté une CH que chez ceux n'ayant pas eu de signes cliniques ($p = 0,01$). Pendant la CH, le taux de BKV était supérieur à 10^9 copies/ml. Les auteurs ont mis en avant une majoration de l'incidence de la CH lors de l'association d'un taux de BKV urinaire supérieur à 10^9 copies/ml avec une GVH aiguë.

Rorije et al en 2014 (19) ont réalisé une étude de cohorte avec 491 patients. Ils ont retrouvé dans l'allogreffe une incidence de CH à BKV de 15,9%. En analyse multivariée, la GVH aiguë grade 2-4, le sang de cordon, l'utilisation post transplantation du Mycophénylate Mofetil et les

fortes doses de Cyclophosphamide dans le conditionnement étaient des facteurs de risque de CH à BKV. La GVH aiguë grade 3-4 et le sang de cordon étaient des facteurs de risque indépendants de sévérité de la CH.

Lunde et al en 2015 (20) ont publié une étude de cohorte monocentrique sur 1321 patients post allogreffe de CSH. Deux-cent dix-neuf patients ont développé une CH avec une médiane de 22 jours post greffe. Le BKV était détecté dans 90% des cas dans les urines sur les 109 patients analysés. En analyse multivariée, le sexe masculin et la greffe de sang de cordon étaient des facteurs de risque de CH. Il n'y avait pas de différence de survie entre les 2 groupes.

Etudes prospectives

Dans une étude prospective observationnelle multicentrique, Gargiulo et al (6) se sont intéressés à l'incidence et à la prise en charge de la CH dans l'allogreffe de CSH. Ils ont suivi les patients jusqu'à J100 post greffe. Ils ont retrouvé une incidence de CH de 12% dont 80% liée au BKV sur les 450 patients inclus (412 adultes et 38 enfants). La médiane de survenue était à J20. Le principal facteur de risque identifié était le conditionnement myéloablatif (MAC).

Leung et al en 2001 (3), dans une étude sur 50 patients ayant bénéficié d'une autogreffe (n = 13) ou d'une allogreffe (n = 36), ainsi qu'une isogreffe de CSH se sont intéressés à la quantification urinaire et sanguine du BKV. Leur objectif principal était de mettre en évidence un lien entre la quantification du BKV et la CH. La PCR Adénovirus était contrôlée dans le sang et les urines de façon similaire à celle du BKV pour ne pas méconnaître un facteur confondant de CH. Les urines de 24h et 1 ml de plasma étaient collectés avant le conditionnement, le jour de la greffe puis une fois par semaine jusqu'à la sortie de l'hôpital. Lors du diagnostic de CH, les prélèvements étaient réalisés 3 jours consécutifs. Une virurie quantifiable était démontrée chez l'ensemble des patients de la cohorte, avec une médiane de J15 post greffe. L'incidence de la CH était de 40%. Le taux de BKV urinaire en PCR était significativement plus important lors de la CH qu'en l'absence de CH (6.10^{12} versus $5,7.10^7$, $p < 0,001$). Il n'y avait pas de différence significative du taux sanguin de BKV entre les 2 groupes. L'étude montrait qu'un taux élevé de BKV urinaire était associé à la survenue de la CH.

Dans l'allogreffe haploidentique

Dans l'étude de Solomon et al (1), validant la pratique de l'allogreffe haplo identique dans les hémopathies malignes à haut risque, il a été retrouvé de façon fortuite une incidence majeure de la CH à BK de l'ordre de 75% dont 35% ayant nécessité une irrigation vésicale, un traitement antalgique et une hospitalisation et survenant en médiane à J38 post greffe, sans pour autant entraîner de surmortalité liée à la CH.

Ruggeri et al (2), dans une étude rétrospective monocentrique en 2015 se sont intéressés à l'incidence et aux facteurs de risque de la CH dans l'allogreffe haploidentique de CSH. Ils ont montré une majoration de l'incidence de la CH à BK dans l'allogreffe haploidentique, de l'ordre de 62%. Comme facteurs de risque ils ont identifié la réactivation à Cytomégalo virus. Ils n'ont pas mis en évidence de majoration de la mortalité mais une augmentation de la morbidité.

4. Intérêt de la problématique

Comme nous avons pu l'observer, la littérature est pauvre dans la CH à BK virus dans le cadre de l'allogreffe haploidentique. Il n'existe pas d'études prospectives actuellement sur ce sujet. Or il a été suggéré récemment une augmentation d'incidence de la CH à BKV dans ce type de greffe. D'autre part peu d'études se sont intéressées de façon prospective au suivi systématique des PCR sanguines et urinaires du BK virus.

Il nous a paru intéressant de réaliser une étude prospective monocentrique de la CH à BK virus dans l'allogreffe haploidentique de CSH. Nous avons instauré un suivi hebdomadaire des PCR afin de mettre en évidence une corrélation clinico-virologique de la CH à BK virus et ses facteurs de risque dans le but ultime d'envisager un traitement préemptif.

3. ARTICLE

BK virus hemorrhagic cystitis in haploidentical stem cell transplant recipients: a prospective observational study

L. Debus¹, G. Laboure¹, S. Vigouroux¹, R. Tabrizi¹, L. Clément¹, E. Forcade^{1,3}, F-X. Gros¹, T. Cazaubiel¹, H. Leroy¹, J. Galtier¹, N. Mottal¹, C. Bréal¹, C. Mediavilla¹, V. Prega-Renaud¹, R. Aubrais¹, X. Lafarge^{4,6}, A. Touze⁵, G. Gargallo¹, F. Adiko¹, I. Garrigue^{2,3}, M-E. Lafon^{2,3}, N. Milpied^{1,3}

¹Service d'Hématologie et de Thérapie Cellulaire, CHU Haut-Lévêque, Bordeaux, France

²Service de Virologie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France

³Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

⁴Etablissement Français du Sang, CHU Pellegrin, Bordeaux, France

⁵Institut Universitaire de Technologie François-Rabelais, Tours, France

⁶Unité INSERM 1035 Equipe Cellules souches hématopoïétiques normales et leucémiques

Conflict of interest

No conflict of interest to disclose for any author.

Corresponding author

Lucile DEBUS

Service d'Hématologie et de Thérapie Cellulaire

Hôpital Haut-Lévêque - CHU Bordeaux

1 avenue de Magellan

33600 PESSAC

FRANCE

Key words

Hemorrhagic cystitis; haploidentical transplantation; BK virus

Short Title

Hemorrhagic cystitis in haploidentical transplantation

ABSTRACT (269 words)

BK virus hemorrhagic cystitis (BKV-HC) is a common complication of the allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Its incidence is increased after haploidentical transplantation (haplo) in retrospective studies but has never been evaluated prospectively. The clinical and biological determinants remain to be defined.

Methods: We included 21 patients at Bordeaux University Hospital between 1st July 2016 and 31st December 2017 in a prospective observational study. The primary endpoint was the occurrence of BKV-HC. We performed weekly BK virus quantitative real-time PCR in blood and urine samples from day-6 to day+100 post-transplant. Patients were followed until day+100 post-transplant.

Results: The incidence of hemorrhagic cystitis (HC) was 19% (4 patients), with 75% grade 3-4 HC. The median occurrence of HC was 45 days. Only one patient had low platelet level at HC onset. The BK virus PCR (BKV-PCR) urinary had 100% sensitivity and 70% specificity. BKV-PCR in urine were positive at least 1 month before appearance of clinical signs. BKV-PCR in blood were positive only at the time of clinical symptomatology. 5 patients had BKV viruria without clinical signs. The main risk factors for HC were corticosteroids ($p = 0.047$) and myeloablative conditioning (MAC) ($p = 0.087$). Survival at day+100 was 81%.

Conclusion: We found a low incidence of BKV-HC in haplo and that BKV-PCR in urine could be positive at least 1 month before HC onset in HSC recipients. In our study HC impact on morbidity but not on overall survival. As we found a lower incidence of BKV-HC than expected, a larger multicenter prospective study is needed to corroborate our findings.

INTRODUCTION

BK virus hemorrhagic cystitis (BKV-HC) is a common complication after allogeneic stem cell transplantation (1), affecting 7 to 70% of patients according to different studies (2,3,4). In the haploidentical setting, Ruggeri et al (5) reported an incidence of 62% in a retrospective study. Because of the retrospective design of these studies and their variability in study populations, it remains difficult to accurately assess the incidence of BKV-HC. This is unfortunate since indications of haploidentical stem cells transplants which are reported to increase the risk of BKV-HC in many recent retrospective studies are increasing. BKV-HC significantly increases morbidity, mortality (6, 7), duration of hospitalization, platelet transfusion needs (8) and costs. Several risk factors have been identified such as cord blood, peripheral stem cells and myeloablative conditioning (MAC) with Busulfan (8, 9). BK virus (BKV) is a polyomavirus. The primary infection occurs in childhood by inter human contact and is asymptomatic. Ninety percent of adults carry latent virus in the urinary tract (10). An immunosuppression is necessary to reactivate the virus and lead to clinical symptoms. The virus is then detected in blood and urine (4) but so far no viral load predictive of symptomatic BKV-HC has been established.

In an effort to better characterize and assess the incidence of BKV-HC in the haploidentical setting, we performed a prospective observational study in our hematology unit at Bordeaux University Hospital. We also sought to correlate virological data with clinical manifestations of BKV-HC.

MATERIALS AND METHODS

Study population and endpoints

This single-center observational prospective study included patients aged 18 to 70 years treated for hematological malignancies with a haploidentical stem cell transplantation at Bordeaux University Hospital between July 1, 2016 and December 31, 2017. Participation to the study was offered to patients during the pre-transplant assessment and consent was mentioned in their file. The primary endpoint was the occurrence of BKV-HC. The secondary endpoints were clinical and laboratory determinants potentially associated with BKV-HC and survival in the first 100 days after transplant.

Transplants characteristics and infectious prophylaxis

Three conditioning protocols were used according to age, co-morbidities and disease: MAC TBF (Thiotepa 5 mg/kg on day-6, Busulfan 100 mg/m² day-5 to day-2 and Fludarabine 40 mg/m² from day-5 to day-2), reduced TBF (Thiotepa 5 mg/kg on day-6, Busulfan 130 mg/m² on day-3 and day-2, Fludarabine 30 mg/m² from day-5 to day-2) and Fludarabine 30 mg/m² from day-6 to day-2, Cyclophosphamide 14.5 mg/kg from day-6 to day-1, ICT 2Gy on day-1. Patients received peripheral stem cells. Prophylaxis of graft-versus-host disease (GVHD) was intravenous cyclophosphamide 50 mg/kg/day on day+3 and day+4, Mycophenolate Mofetil 45 mg/kg/day from day+5 to day+35 and Ciclosporine 3 mg/kg/day from day+5 to day+100. Patients received prophylaxis with valaciclovir 1 g/day starting on day-7 and Fluconazole 200 mg/day from day+0 and up to day+100. Cotrimoxazole 800 mg/day 3 days/week and Penicillin G 2 MU_i/day were introduced from recovery of aplasia.

Hemorrhagic Cystitis

BKV-HC was defined according to the ECIL 6 (European Conference on Infections in Leukaemia) by a diagnostic triad: 1) urinary clinical signs such as dysuria, urinary burns, pelvic gravity, 2) hematuria of grade ≥ 2 , 3) BKV in urine $>10^7$ copies/ml and/or BKV in blood $>10^3$ copies/ml. Four stages were defined according to the classification of Bedi and al (4) 1) microscopic hematuria of 2 days minimum; 2) macroscopic hematuria without clot; 3) macroscopic hematuria with clot, 4) macroscopic hematuria with renal and / or bladder retention. The prevention of HC included hyper hydration (3L / m²) from day-6 to day+7 and Uromitexan 50 mg/kg/day the days of Cyclophosphamide administration. When clinical signs of HC appeared, BKV, CMV, Adenovirus were screened by PCR in urine and BKV in blood. A urine bacterial analysis was also performed. The management of BKV-HC was symptomatic with hyper hydration, analgics and anti-spasmodics, oxybutynin and a platelet objective > 50 G/l. In case of hematuria of grade ≥ 2 , a double-stream bladder catheter with irrigation at 12 L/day was started. Treatment with cidofovir could be used. The decrease in immunosuppressive therapy was at the discretion of the clinician.

BKV-PCR and serologies

A prospective analysis of BKV-PCR in blood and urine with urine bacterial analysis was performed weekly from day-6 to day+100. Total nucleic acid extraction was obtained from blood or urine (Roche Magnapure 96 instrument and reagents, Meylan, France)(11). The PCR mix (Tibmolbiol Lightmix_Polyomaviruses JC BK, Berlin, Germany; Roche LightCycler FastStart DNA Master HybProbe) allowed the amplification of a 175 bp fragment of BKV small t antigen gene, with a Taqman-based real time PCR method (Roche Lightcycler 480). An internal control amplification reaction indicated the absence of PCR inhibitor. BKV serology was performed in donors and recipients at the pre-transplant check-up. The serology were

carried out with VLPs (virus like particles) consisting of the VP1 protein (12). Two serum dilutions were performed at 1/100 and 1/1000. The positivity threshold used was 0.2 (13).

Statistical analysis

Patient- and transplant-related characteristics of both groups (BKV-HC vs no BKV-HC) were compared using either the chi-square test or the Fisher test, as appropriate. OS was calculated from the date of transplantation to either the date of death from any cause or last follow-up. Probability of OS was calculated using the Kaplan-Meier estimate. Statistical analyses were performed with the XLStat software.

RESULTS

Patients and transplants characteristics

Twenty-four patients were screened and 21 were included (study flowchart in Figure 1). The characteristics of included patients are described in Table 1. The median time to neutrophil recovery was 18 days (11-23) and the median time to platelet recovery was 34 days (19-100). The median numbers of red blood cell concentrate (RBC) and apheresis platelet concentrate (APC) transfused were 7 (4-49) and 11 (1-41), respectively. Eighty percent of patients (n=17) were in complete response (CR) after recovery from aplasia, 1 patient was in partial response (PR), 1 in early molecular relapse and 2 in relapse. All evaluable patients (n=20, 1 early death) achieved a full donor chimerism. The median length of hospitalization was 44 days (28-108). The incidence of grade I-IV acute GVHD was 81%. Twelve patients (71%) were treated with corticosteroids. Fourteen patients (67%) developed a viral infection (CMV, n=8, HHV6, n=6) at a median time of 42 days (0-75) after transplant.

Incidence and characteristics of BKV-HC

Four patients (19%) were diagnosed with BKV-HC. The characteristics of these patients are presented in Table 2. CMV and adenovirus were undetectable in urine of these 4 patients at diagnosis. The characteristics of patients with or without BKV-HC are presented in Table 3. Both groups were comparable except for the median duration of hospitalization (71 days (HC) vs 35 days (no HC); p=0.035. There was a trend for more MAC regimens in the HC group (p=0.087).

Patients with BKV-HC had urinary viral load $>10^8$ copies/ml. The virus was detected at a median time of 6.5 weeks (4-7) before clinical signs (Figure 2). The sensitivity of BKV-PCR

urine detection was 100% and the specificity 71%. Five patients presented reactivation of the BKV in urine without clinical symptoms (Figure 3). The negative and positive predictive values of PCR positivity in urine were 100% and 40%, respectively. In blood, the virus was detectable at the time of clinical diagnosis.

BKV serologies

Seventeen donors (89%) had a positive serology at 1/100 dilution and 4 (21%) at 1/1000 dilution. Thirteen patients (68%) had a positive pre-transplant serology at 1/100 and 2 (10%) at 1/1000. In 3 patients with BKV-HC, pre-transplant serologies were positive at 1/100 and negative at 1/1000. In their donors, 2 had serologies positive at 1/100 and 1 at 1/1000. The 2 patients with a positive pre-transplant serology at 1/1000 dilution did not show BKV reactivation. Their donors had negative serologies at 1/1000 dilution.

Patients with BKV reactivation but without HC have an identical pattern between donors and recipients, i.e., positive serologies at 1/100 and negative at 1/1000.

Survival

With a median follow-up of 180 days (range 22-465), 10 patients died. The 100-days OS was 81% (n=4). Causes of deaths were disease progression (n=2), infection (n=1) and suicide (n=1).

DISCUSSION

In the present prospective study, we report an incidence of BKV-HC of 19% in adult patients treated with haploidentical stem cell transplantation for an hematologic malignancy. We found an increase in the number of platelet transfusions and the duration of hospitalization during HC due to the presence of BK virus (71 vs 35 days, $p = 0,035$). Patients with BKV-HC had urinary viral load $>10^8$ copies/ml. The virus was detected at a median time of 6.5 weeks (4-7) before clinical signs. The sensitivity of BKV-PCR urine detection was 100% and the specificity 71%. Five patients presented reactivation of the BKV in urine without clinical symptoms. The negative and positive predictive values of PCR positivity in urine were 100% and 40%, respectively. In blood, the virus was detectable at the time of clinical diagnosis.

Weekly blood and urine PCR testing of the BK virus allowed us to demonstrate viral reactivation of isolated BKV without clinical symptoms. In this context, only urinary BKV-PCR were positive. By the time blood BKV-PCR became positive, all patients had a clinical hematuria. We were able to compare patients with BKV reactivation alone and those with BKV-HC. The results are very interesting, especially because we found a link between corticosteroid therapy and the occurrence of HC in these patients. It should be noted, however, that 2 patients presented with HC before being put on steroids. MAC regimen also has an impact on HC prevalence in our study ($p=0,087$). Immunoglobulin intravenous supplementation was not protective against the BK virus in our study.

Our work did not show any link between the level of BKV in the urine and the grade of HC.

The characteristics of our cohort are similar to previous data, notably Ruggeri's study in 2015 (9). Ruggeri's retrospective, monocentric study was performed on a cohort of 33 patients

including children and adults treated with haplo SCT. Patients received blood stem cell or bone marrow, and in 2 cases had received previous allograft treatment. They found a major incidence of HC around 62%, of which 91% with BKV-HC. However, we note a much higher rate of GVHD in our study (81% versus 56%). We recorded all GVHD while Ruggeri did not take into account grade 1 GVHD. Our viral reactivation rate of EBV and CMV is comparable to what was described in the Ruggeri study (67% vs 74%). Ruggeri's study found a majority of HC before platelet reconstitution. In univariate analysis, viral reactivation CMV was a risk factor for CH in the Ruggeri study. In our study, this factor does not appear but it may be related to the low power of our work. The death rate of 25% at day+100 seems high compared to other studies on the same haplo graft. It should be noted that one of the deaths was secondary to suicide. HC incidence is much lower in our study compared to what is described in literature, especially in Ruggeri's study. Two explanations are possible for our results: the prospective nature of the study and the implementation of a preventive protocol for HC. The preventive protocol of HC is rarely described in studies, especially in retrospective studies. In general, hyperhydration of 3L / m² is associated with Cyclophosphamide chemotherapy a few hours before and up to 24 hours after treatment. Bladder protection by Uromitexan is normally associated. In our study, we maintained hyperhydration at 3L / m² of D-6 at D + 7 of the graft.

By weekly monitoring of BKV-PCR urinary, this work shows a positivity of urinary PCR at least 1 month before clinical symptoms. As for blood PCRs, they only became at the time of clinical symptoms. These data are very important to consider preemptive treatment of BKV-HC. Leung, in 2001(1), in a single-center prospective study on 50 patients, had also shown viral reactivations of BKV without clinical signs of HC. This was a study with very heterogeneous inclusion criteria involving autografts and allografts of which only 2 identical haplo. Their work

found a higher BK viruria rate in HC than in isolated viral reactivations. In our study, BKV-PCR urinary levels were virtually similar in both groups with a greater tendency in the group with HC, $>10^8$ copies/ml. Cesaro in 2008 (6) had conducted a pediatric prospective study similar to ours. Out of 76 patients included, there was an incidence of HC of 22%. The median onset was 35 days. BKV-PCR in urine and blood were positive on average 18 and 17 days before symptoms, respectively. When there was viremia, there was 100% risk of HC.

Our study's weak points are its small size and its monocentric character. We also have some missing data.

We were not interested in the Ciclosporinemia assay and the adaptation of the immunosuppressive treatment especially during viral reactivation and the occurrence of GVHD, even if these data may have played a role in the occurrence of HC. Adaptation of immunosuppressive therapy was left to the discretion of the clinician.

In conclusion, our prospective study found a lower incidence of BKV-HC in patients receiving haplo. We showed a positivity of BKV-PCR urinary at least 1 month before the appearance of clinical signs. BKV-HC increases morbidity but has no impact on mortality in our work. A large multicenter prospective study would be interesting to corroborate our results and highlight risk factors for HC during urinary viral reactivation of the BKV.

REFERENCES

1. Leung AY, Suen CK, Lie AK, Liang RH, Yuen KY, Kwong YL. Quantification of polyoma BK viruria in hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation. *Blood*. 2001 Sep 15;98(6):1971-8.
2. Giraud G, Priftakis P, Bogdanovic G, Remberger M, Dubrulle M, Hau A, Gutmark R, Mattson J, Svahn BM, Ringden O, Winiarski J, Ljungman P, Dalianis T. BK-viruria and haemorrhagic cystitis are more frequent in allogeneic haematopoietic stem cell transplant patients receiving full conditioning and unrelated-HLA-mismatched grafts. *Bone Marrow Transplant*. 2008 Apr;41(8):737-42.
3. Silva Lde P, Patah PA, Saliba RM, Szewczyk NA, Gilman L, Neumann J, Han XY, Tarrand J, Ribeiro R, Gulbis A, Shpall EJ, Jones R, Popat U, Walker JA, Petropoulos D, Chiattonne A, Stewart J, El-Zimaity M, Anderlini P, Giralt S, Champlin RE, de Lima M. Hemorrhagic cystitis after allogeneic hemaopoietic stem cell transplants is the complex result of BK virus infection, preparative regimen intensity and donor type. *Haematologica*. 2010 Jul;95(7):1183-90.
4. Bedi A, Miller CB, Hanson JL, Goodman S, Ambinder RF, Charache P, Arthur RR, Jones RJ. Association of BK virus with failure of prophylaxis against hemorrhagic cystitis following bone marrow transplantation. *J Clin Oncol*. 1995 May;13(5):1103-9.
5. Ruggeri A, Roth-Guepin G, Battipaglia G, Mamez AC, Malard F, Gomez A, Brissot E, Belhocine R, Vekhoff A, Lapusan S, Isnard F, Legrand O, Gozlan J, Boutolleau D, Ledraa T, Labopin M, Rubio MT, Mohty M. Incidence and risk factors for hemorrhagic cystitis in unmanipulated haploidentical transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2015 Dec;17(6):822-30.

6. Arthur RR, Shah KV, Baust SJ, Santos GW, Saral R. Association of BK viruria with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. *N Engl J Med.* 1986 Jul 24;315(4):230-4.
7. Cesaro S, Facchin C, Tridello G, Messina C, Calore E, Biasolo MA, Pillon M, Varotto S, Brugiolo A, Mengoli C, Palù G. A prospective study of BK-virus-associated haemorrhagic cystitis in paediatric patients undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008 Feb;41(4):363-70.
8. Gilis L, Morisset S, Billaud G, Ducastelle-Leprêtre S, Labussière-Wallet H, Nicolini FE, Barraco F, Detrait M, Thomas X, Tedone N, Sobh M, Chidiac C, Ferry T, Salles G, Michallet M, Ader F; Lyon BK virus Study group. High burden of BK virus-associated hemorrhagic cystitis in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014 May;49(5):664-70.
9. Uhm J, Hamad N, Michelis FV, Shanavas M, Kuruvilla J, Gupta V, Lipton JH, Messner HA, Seftel M, Kim DD. The risk of polyomavirus BK-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic SCT is associated with myeloablative conditioning, CMV viremia and severe acute GVHD. *Bone Marrow Transplantation.* 2014 Dec;49(12):1528-34.
10. Knowles WA, Pipkin P, Andrews N, Vyse A, Minor P, Brown DWG and al. Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus SV40. *J Med Virol* 2003 ; 71 : 115-123.
11. Narayanan M, Szymanski J, Slavcheva E, Rao A, Kelly A, Jones K, Jaffers G. BK virus associated renal cell carcinoma : case presentation with optimized PCR and other diagnostic tests. *Am J Transplant. E,* 2007 Jun;7(6):1666-71.
12. Kamminga S, van der Meijden E, Wunderink HF, Touzé A, Zaijjer HL, Feltkamp MCW.(2018) Development and Evaluation of a Broad Bead-Based Multiplex

Immunoassay To Measure IgG Seroreactivity against Human Polyomaviruses. *J Clin Microbiol.* Mar 26;56(4).

13. Touze A, Gaitan J, Arnold F, Cazal R, Fleury MJ, Combelas N, Sizaret PY, Guyetant S, Maruani A, Baay M, Tognon M, Coursaget P. Generation of Merkel Cell Polyomavirus (MCV)-Like Particles and Their Application to Detection of MCV Antibodies. *Journal of Clin Microbiol.* 2010 May ;48(5): 1767-1770.

TABLES

Table 1: Patients and disease characteristics of the population study

Characteristics of patients	n = 21
Median age, y (range)	55 (26-69)
Sex, n (%)	
- Male	14 (67)
- Female	7 (33)
Diagnosis, n (%)	
- Acute leukemia	16 (76)
Acute myeloid leukemia	11
B acute lymphoid leukemia	1
T acute lymphoid leukemia	1
T prolymphocytic leukemia	2
Biphenotypic acute leukemia	1
- Diffuse large B cell lymphoma	2 (10)
- Myelodysplasia	2 (10)
- Granulocytic sarcoma	1 (4)
Disease status at transplant, n (%)	
- CR 1	5 (24)
- CR 2	5 (24)
- PR	1 (5)
- Refractory	4 (19)
- Early molecular relapse	2 (9)
- Relapse	2 (9)
- Treated myelodysplasia/not treated	1/1 (5/5)
Conditioning regimen, n (%)	
- Fludarabine, Endoxan, ICT 2Gy	6 (29)
- MAC	7 (33)
- Reduced intensity TBF	8 (38)
Cumulative dose of Cyclophosphamide during conditioning, milligrams (Median, range)	6900 (4800-9970)
Patients who received Cyclophosphamide before transplant, n (%)	2 (10)
- median dose, milligrams (range)	9200 (6900-11500)
Median CD34+ (range)	6,33 (2,22-14,38)
Median age of the donor, y (range)	41 (23-64)

CR 1: first complete remission, CR 2 : second complete remission, PR : partial remission, ICT : total body irradiation, Gy : Gray

Table 2: Characteristics of patients with BKV-HC

Median time post-transplant, days (range)	45,5 (33-52)
Grade	
• 1-2	1 (25)
• 3-4	3 (75)
Platelet count	
• >74G/l	3 (75)
• 25-74G/l	0
• <25G/l	1 (25)
Corticosteroid, n (%)	4 (100)
BKV-PCR in urine positive at diagnosis, n (%)	4 (100)
Median number of BKV-PCR in urine positive before diagnosis, weeks (range)	6,5 (4-7)
Treatment by Cidofovir, n (%)	4 (100)
Number of days of hospitalization, median (range)	71,5 (59-108)
Double stream bladder catheterization	2 (50)

Table 3: Characteristics of patients with or without BKV-HC

Patients	Absence of HC n = 17	HC n = 4	p
Median age, y (range)	55,5 (26-69)	55 (34-64)	0,58
Sex, n (%)			1
- Male	11 (65)	3 (75)	
- Female	6 (35)	1 (25)	
Disease status at transplant, n (%)			0.202
- CR 1	4 (24)	2 (50)	
- CR 2	4 (24)	0	
- PR	0	1 (25)	
- Refractory	4 (24)	0	
- Early molecular relapse	2 (12)	0	
- Treated myelodysplasia/not treated	1 (6) 1/1 (6/6)	1 (25) 0	
Conditioning regimen, n (%)			0,087
- Fludarabine, Endoxan, ICT 2Gy	6 (35)	0	
- MAC	4 (24)	3 (75)	
- Reduced Intensity TBF	7 (41)	1 (25)	
Type of donor, n (%)			0.63
• parents	3 (18)	1 (25)	
• sisters/brothers	5 (29)	2 (50)	
• children	9 (53)	1 (25)	
Median age of the donor, y (range)	42 (23-64)	38 (33-60)	0,846
Median neutrophil engraftment time, days (range)	18 (11-21)	17 (16-23)	0,62
Median platelet engraftment time, days (range)	34 (19-100)	37 (31-100)	1
Median transfusion of RBC, number (range)	7 (4-20)	10 (6-49)	1
Median transfusion of APC, number (range)	9 (1-41)	12 (3-30)	1
Acute GVHD, n (%)	13 (76)	4 (100)	0.545
Grade			0.1
1	5	0	
2 – 4	8	4	
Steroid, n (%)	8 (62)	4 (100)	0.1
Viral reactivations, n (%)	10 (59)	4 (100)	0,255
• CMV	7 (70)	1 (25)	
• HHV6	3 (30)	3 (75)	
Immunoglobulin intravenous supplementation, n (%)	3 (18)	1 (25)	1
Disease control, n (%) day+30			1
- CR	13 (81)	3 (75)	
- PR	1 (6)	0	
- Relapse	1 (6)	1 (25)	
- Early molecular relapse	1 (6)	0	
- Lack of data	1 (6)	0	
Median of hospitalization, days (range)	37 (28-108)	71,5 (59-108)	0,035

RBC: red blood cell concentrate, APC: apheresis platelet concentrate

FIGURE LEGENDS

Figure 1: Study flowchart

Figure 2: Evolution curve of the weekly urinary BKV-PCR for the 4 patients who presented HC

Figure 3: Median weekly positive BKV-PCR in urine rates for patients with and without HC (patients 2-3-6 et 9 with HC)

Figure 4: Probability of survival at day+100 post allograft according to the presence or absence of BKV-HC

Figure 1

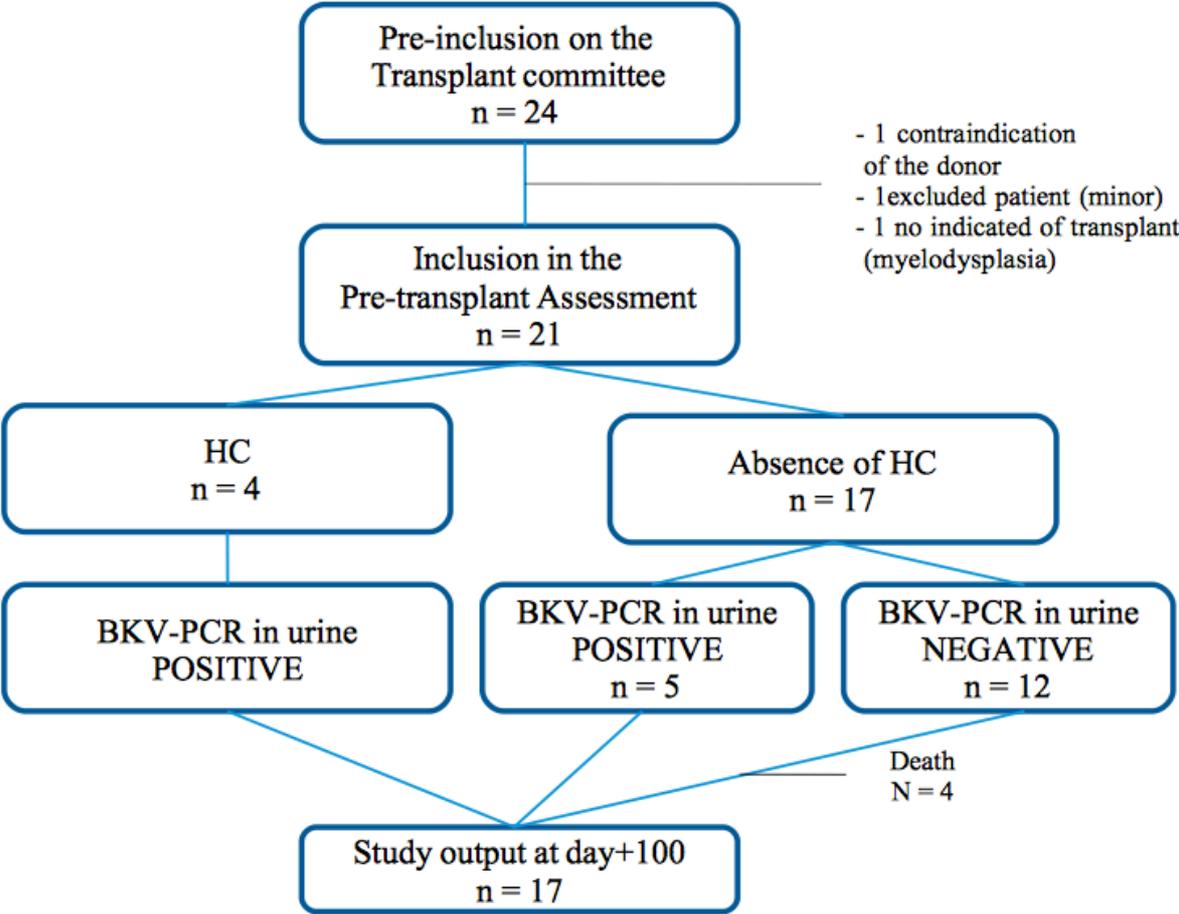
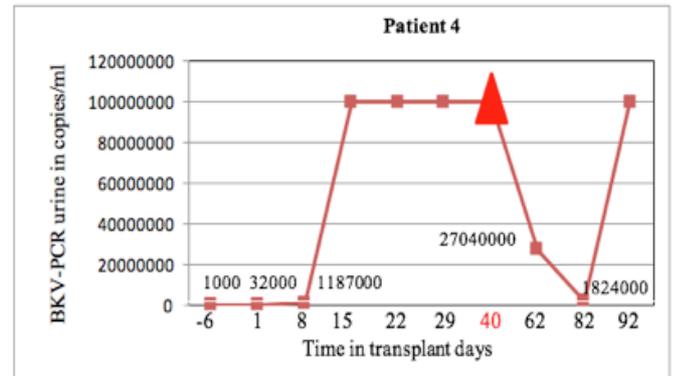
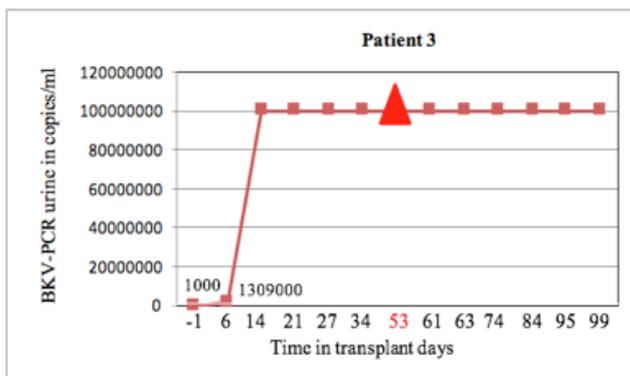
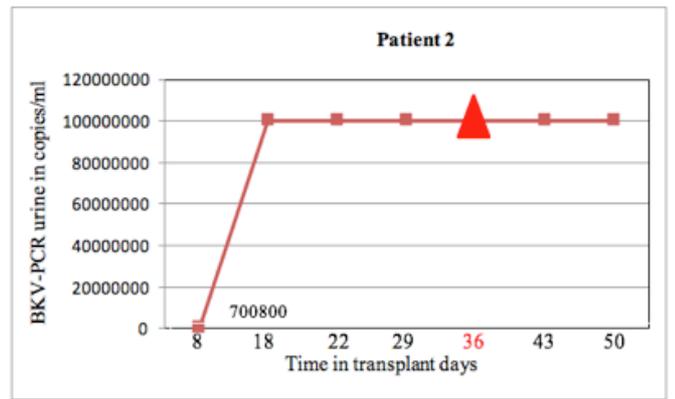
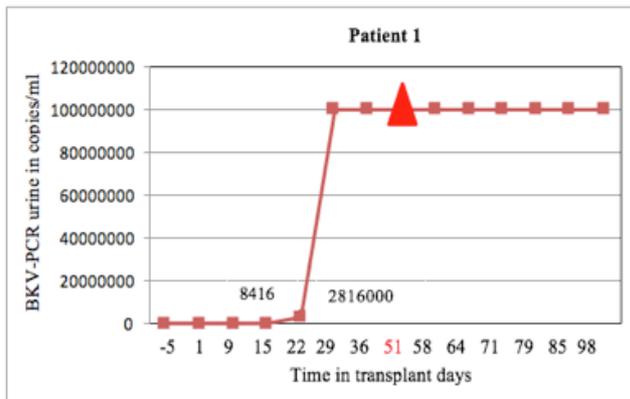


Figure 2



▲ day of onset of HC

Figure 3

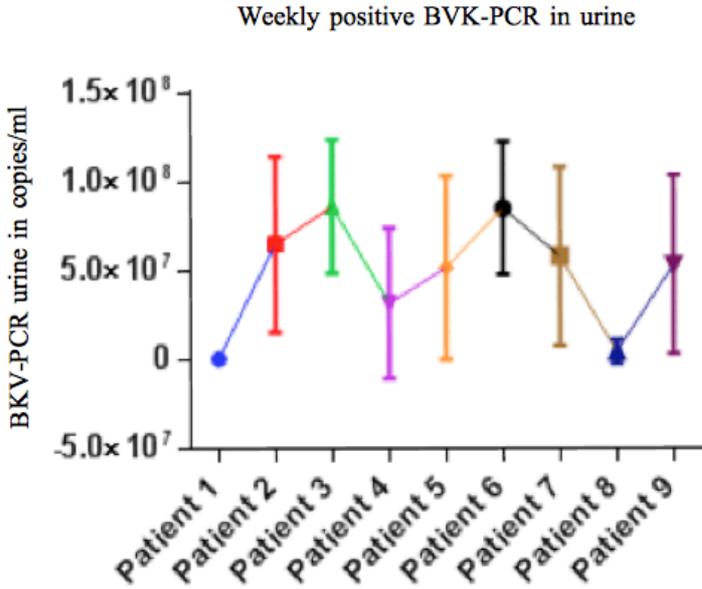
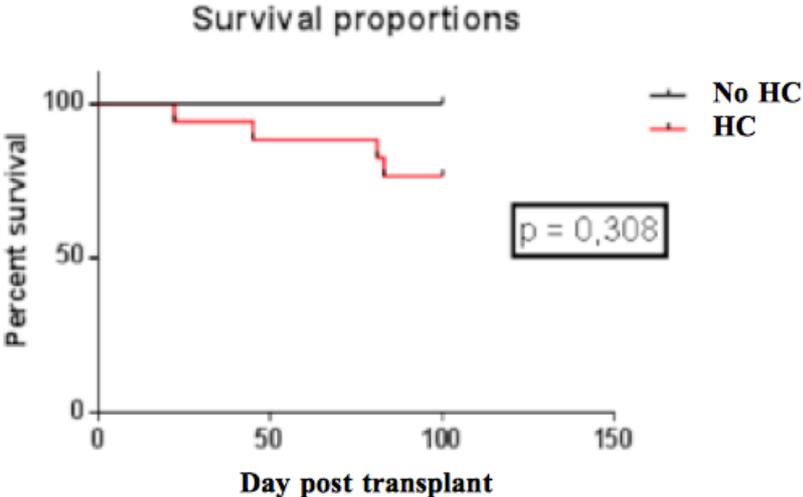


Figure 4



4. RESUME DE L'ARTICLE

Introduction : La cystite hémorragique à BK virus est une complication fréquente de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Son incidence semble augmentée après allogreffe haploidentique dans quelques études rétrospectives mais n'a jamais été évaluée de façon prospective. Les déterminants cliniques et biologiques restent à définir.

Méthodes : Nous avons inclus 21 patients au CHU de Bordeaux entre le 1^{er} juillet 2016 et le 31 décembre 2017 dans une étude observationnelle prospective. Le critère de jugement principal était la survenue du tableau de cystite hémorragique à BK virus. Nous avons réalisé des PCR BK virus sanguines et urinaires hebdomadaires de J-6 à J100 post greffe. Les patients étaient suivis jusqu'à J100 post greffe.

Résultats : L'incidence de la CH à BK virus était de 19% (4 patients). La médiane de survenue de la CH était de 45 jours. Soixante-quinze pourcents des cystites hémorragiques étaient de grade 3-4. Seul un patient n'avait pas reconstitué ses plaquettes au moment de la cystite hémorragique. Les PCR BK virus urinaires avaient une sensibilité de 100% et une spécificité de 70%. Les PCR BK virus urinaires se positivaient au minimum 1 mois avant l'apparition des signes cliniques. Les PCR BK virus sanguines se positivaient uniquement au moment de la symptomatologie clinique. Certains patients ont présenté une réactivation virale urinaire à BK virus sans signes cliniques. Les principaux facteurs de risque de cystite hémorragique étaient la corticothérapie ($p=0,047$) et le conditionnement myéloablatif ($p=0,087$). La survie à J100 était de 81%.

Conclusion : Nous avons retrouvé une faible incidence de la cystite hémorragique à BK virus dans le cadre de l'allogreffe haploidentique de cellules souches hématopoïétiques. La cystite hémorragique avait un impact sur la morbidité mais non sur la mortalité. Nous avons mis en évidence une positivité des PCR BK virus urinaires au minimum 1 mois avant l'apparition des signes cliniques de CH. Une étude prospective multicentrique de plus grande envergure serait nécessaire pour corroborer nos résultats.

5. CONCLUSION

En conclusion, notre étude a des points forts par son caractère prospectif et son protocole de prise en charge préventive de la CH. Cependant nous avons l'inconvénient d'une étude de faible effectif, monocentrique. Nous retrouvons une incidence plus faible de la CH que les études précédentes. Nous avons montré que les PCR urinaires se positivent en moyenne 4 semaines avant la symptomatologie clinique de la CH, et qu'il existe des réactivations urinaires du BK virus sans symptomatologie clinique. La corticothérapie semble jouer un rôle sur l'incidence de la CH de même que le conditionnement myéloablatif. Il serait intéressant de s'intéresser également au traitement immunosuppresseur et son adaptation lors des différentes réactivations virales et de la survenue de GVH. Nécessairement, il faudrait réaliser une étude prospective multicentrique à plus large échelle pour corroborer nos résultats, mettre en évidence des facteurs de risque de survenue de CH lors de la réactivation virale urinaire à BK virus. Il serait intéressant également de s'intéresser aux sérologies pré et post greffe ainsi qu'à la cytologie. Dans l'avenir un traitement préemptif pourrait éventuellement être discuté, mais celui-ci reste encore à définir n'ayant déjà actuellement pas de recommandation sur la prise en charge curative de la CH à BKV.

6. BIBLIOGRAPHIE

14. Solomon SR, Sizemore A, Sanacore M, Zhang X, Brow S, Holland HK, Morris LE, Bashey A. Haploidentical transplantation using T cell replete peripheral blood stem cells and myeloablative conditioning in patients with high-risk hematologic malignancies who lack conventional donors is well tolerated and produces excellent relapse-free survival : results of a prospective phase 2 trial. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012 Dec;18(12):1859-1866.
15. Ruggeri A, Roth-Guepin G, Battipaglia G, Mamez AC, Malard F, Gomez A, Brissot E, Belhocine R, Vekhoff A, Lapusan S, Isnard F, Legrand O, Gozlan J, Boutolleau D, Ledraa T, Labopin M, Rubio MT, Mohty M. Incidence and risk factors for hemorrhagic cystitis in unmanipulated haploidentical transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2015 Dec ;17(6):822-30.
16. Leung AY, Suen CK, Lie AK, Liang RH, Yuen KY, Kwong YL. Quantification of polyoma BK viruria in hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation. *Blood* 2001 Sep 15;98(6):1971-8.
17. Gardner SD, Field AM, Coleman DV, Hume B. New human papovirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1971 Jun 19;1(7712):1253-7.
18. Corneille J, Boutolleau D, Infections à virus BK après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. *Virologie* 2011;15(2):115-25.
19. Bedi A, Miller CB, Hanson JL, Goodman S, Ambinder RF, Charache P, Arthur RR, Jones RJ. Association of BK virus with failure of prophylaxis against hemorrhagic cystitis following bone marrow transplantation. *J Clin Oncol.* 1995 May;13(5):1103-9.
20. Leung AY, Chan MT, Yuen KY, Cheng VC, Chan KH, Wong CL, Liang R, Lie AK, Kwong YL. Ciprofloxacin decreased polyoma BK virus load in patients who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2005 Feb 15;40(4):528-37.
21. Miller AN, Glode A, Hogan KR, Schaub C, Kramer C, Stuart RK, Costa LJ. Efficacy and safety of ciprofloxacin for prophylaxis of polyomavirus BK virus-associated hemorrhagic cystitis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Biol Blood Marrow Transpl* 2011 Aug;17(8):1176-81.
22. Gargiulo G, Orlando L, Alberani F, Crabu G, Di Maio A, Duranti L, Errico A, Liptrott S, Pitrone R, Santarone S, Soliman C, Trunfio A, Bruno B, Mammoliti S, Pane F.

- Haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) : a prospective observational study of incidence and management in HSCT centre within the GITMO network (Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo). *Ecancermedicalsecience*. 2014 Apr 10;8:420.
23. Phipps C, Ng HY, Appan P, Loh Y, Koh M, Ho AY, Lee JJ, Linn YC, Tan BH, Goh YT, Hwang W. BK-virus prophylaxis: still no answer. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Oct;48(10):1362-3.
 24. Philippe M, Ranchon F, Gilis L, Schwiertz V, Vantard N, Ader F, Labussiere-Wallet H, Thomas X, Nicolini FE, Wattel E, Ducastelle-Leprêtre S, Barraco F, Lebras L, Salles G, Michallet M, Rioufol C. Cidofovir in the treatment of BK Virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Apr;22(4):723-730.
 25. Bridges B, Donegan S, Badros A. Cidofovir bladder instillation for the treatment of BK hemorrhagic cystitis after allogeneic stem cell transplantation. *Am J Hematol*. 2006 Jul;81(7):535-7.
 26. Rao KV, Buie LW, Shea T, Gabriel DA, Comeau T, Irons R, Serody J, Eron B, Epstein S. Intravesicular cidofovir for the management of BK virus-associated cystitis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Mar;15(3):391-2.
 27. Savva-Bordalo J, Pinho Vaz C, Sousa M, Branca R, Campilho F, Resende R, Baldaque I, Camacho O, Campos A. Clinical effectiveness of hyperbaric oxygen therapy for BK-virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2012 Aug;47(8):1095-8.
 28. Garderet L, Bittencourt H, Sebe P, Kaliski A, Claisse JP, Espérou H, Ribaud P, Estrade V, Gluckman E, Gattegno B. Cystectomy for severe hemorrhagic cystitis in allogeneic stem cell transplant recipients. *Transplantation*. 2000 Dec 27;70(12):1807-11.
 29. Cesaro S, Dalianis T, Hanssen Rinaldo C, Koskenvuo M, Pegoraro A, Einsele H, Cordonnier C, Hirsch HH; ECIL-6 Group. ECIL guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother*. 2018 Jan 1;73(1):12-21.

30. Arthur R, Shah K, Baust S, Santos G, Saral R. Association of BK viruria with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. *N Eng J Med* 1986 Jul 24;315(4):230–234.
31. Bogdanovic G, Priftakis P, Giraud G, Kuzniar M, Ferraldeschi R, Kokhaei P, Mellstedt H, Remberger M, Ljungman P, Winiarski J, Dalianis T. Association between a high BK virus load in urine samples of patients with graft-versus-host disease and development of hemorrhagic cystitis after hematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Microbiol.* 2004 Nov;42(11):5394-6.
32. Rorije NM, Shea MM, Satyanarayana G, Hammond SP, Ho VT, Baden LR, Antin JH, Soiffer RJ, Marty FM. BK virus disease after allogeneic stem cell transplantation : a cohort analysis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014 Apr;20(4) :564-70.
33. Lunde LE, Dasaraju S, Cao Q, Cohn CS, Reding M, Bejanyan N, Trottier B, Rogosheske J, Brunstein C, Warlick E, Young JA, Weisdorf DJ, Ustun C. Hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation: risk factors, graft source and survival. *Bone Marrow Transplant.* 2015 Nov;50(11):1432-7.

7. ANNEXES

Annexe 1 : protocole de prise en charge préventive et curative de la CH

Bilan prégreffe :

- notifier dans le dossier la non opposition du patient à l'étude après information
- dosage IgG BK virus du donneur et du receveur

Prise en charge préventive :

- hyperhydratation 3L/m² (2/3 PG5 et 1/3 Bicarbonate de Sodium) de J-7 à J+7
- MESNA selon protocole du service en bolus
- surveillance diurèse/8h
- BU 3fois/j sous Ciclophosphamide

Bilan virologique :

J-6	Hebdomadaire jusqu'à J100
ECBU	PCR EBV et CMV le lundi
PCR BK virus urine et sang	PCR BK virus sang le lundi et urine le jeudi
	ECBU le jeudi

Si signes cliniques de cystite ou hématurie macroscopique:

- quelque soit les dosages antérieurs, dosage PCR BK virus sang et urine le jour du diagnostic +PCR adénovirus et CMV dans les urines et poursuivre les dosages hebdomadaires

Triade diagnostique :

- signes cliniques de cystite : dysurie, brûlures mictionnelles, douleurs pelviennes
- hématurie stade > ou égale à 2
- PCR BK virus urines > 10⁷/ml

4 stades de cystite hématurique :

- I hématurie microscopique >100érythrocytes/HPF > ou égale à 2jour consécutifs
- II hématurie macroscopique sans caillot
- III hématurie macroscopique avec caillots
- IV hématurie macroscopique avec caillot et retentissement rénal et/ou urinaire

Prise en charge thérapeutique :

- traitement symptomatique : hyperhydratation, anti-spasmodique, ditropan 5mg 3fois par jour, obj plaquettaire >50G/l, **CI de l'EXACYL**
 - hématurie macroscopique stade > ou égale à 2 : sondage avec irrigation 12L/j sérum salé 0.9% jusqu'à ce que les urines soient claires et diminution progressive de l'irrigation
 - hématurie macroscopique stade > ou égale à 2: Cidofovir selon protocole service, 5mg/kg hebdomadaire avec probénécid, 2 injections puis réévaluation selon signes cliniques
- Pas d'indication du Ciflox,
Diminution du traitement immunosuppresseur à l'appréciation du clinicien

GREFFES HAPLO-IDENTIQUES

Prescriptions des bilans et examens complémentaires semaine du ... / au ... /

Nom : _____

Lundi	M	P	F	Mardi	M	P	F	Mercredi	M	P	F	Jeudi	M	P	F	Vendredi	M	P	F	Samedi	M	P	F	Dimanche	M	P	F	
HEMATOLOGIE																												
NFS plaquettes				NFS plaquettes	X			NFS plaquettes	X																			
TP-TCA-Fg																												
RAI																												
AC anti-HLA																												
BIOCHIMIE																												
Iso-crist				Iso-crist				Iso-crist				Iso-crist				Iso-crist				Iso-crist			Iso-crist					
Bilan lipidique	X				X				X				X				X				X				X			
CRP																												
Mg													X															
EPF													X															
BACTERIOLOGIE																												
Hémoculture																												
Coproculture																												
Gorge																												
ECBU													X															
VIROLOGIE																												
PCR EBV-CMV																												
PCR BK virus sang													X															
PCR BK virus urine																												
PCR Adenovirus													X															
PCR CMV																												
MYCOLOGIE																												
Ag aspergillus													X															
Séris																												
Aspergillus nec																												
PHARMACOLOGIE																												
Ciclosporine	X																											

Annexe 3 : Formulaire d'informations patient

Formulaire d'information de l'étude ALLO-BK

Titre de l'étude :

Etude d'observation d'une corrélation entre les signes biologiques et cliniques de la cystite hémorragique liée à une réactivation du BK virus chez les patients traités par allogreffe haploidentique de cellules souches hématopoïétiques.

Personnes responsables du projet :

L'étude est réalisée dans le cadre du projet de thèse de Lucile DEBUS, interne en médecine de spécialité hématologie du CHU de Bordeaux, dirigée par le Dr G. LABOURE.

Objectif du projet :

L'objectif est de mettre en évidence un lien entre les signes biologiques et les signes cliniques de la cystite hémorragique à BK virus, afin d'envisager dans l'avenir un traitement de la réactivation virale avant l'apparition de la symptomatologie.

Raisons et nature de la participation :

L'étude porte uniquement sur les patients allogreffés avec des cellules souches hématopoïétiques haplo-identiques. Nous savons que dans ce type de greffe, les réactivations du BK virus ont une fréquence plus importante, du fait d'un conditionnement de forte intensité d'immunodépression et d'une chimiothérapie uro-toxique par Cyclophosphamide. L'étude consiste à analyser des données cliniques et biologiques. Dans ce contexte, des analyses de sang et d'urines seront réalisées systématiquement à l'admission dans le service d'allogreffe, puis une fois par semaine les jeudis pour un dosage du virus. Si vous présentez des signes cliniques de cystite hémorragique, à savoir des brûlures urinaires, des douleurs du bas ventre, ou du sang dans les urines, un prélèvement supplémentaire sera réalisé le jour de l'apparition des symptômes.

L'étude inclut des patients pendant 18 mois à compter du 01 juillet 2016. Vous serez inclus dans l'étude à partir du jour d'entrée dans le service d'allogreffe, et jusqu'à J100 post allogreffe. Les bilans seront réalisés initialement durant l'hospitalisation puis en hôpital de jour. Après J100, votre suivi lié à l'étude prend fin.

Votre participation à l'étude contribuera à l'avancement des connaissances en hématologie dans le domaine de la réactivation virale du BK virus chez les patients qui bénéficieront comme vous d'une allogreffe haplo-identique de cellules souches hématopoïétiques.

Il est entendu que votre participation à ce projet de recherche est tout à fait volontaire et que vous restez libre, à tout moment, de mettre fin à votre participation sans avoir à motiver votre décision ni à subir de préjudice de quelque nature que ce soit.

Confidentialité :

Durant votre participation à ce projet de recherche, nous recueillerons et consignerons dans un dossier de recherche les renseignements vous concernant. Seuls les renseignements nécessaires à la bonne conduite du projet de recherche seront recueillis. Les données sont anonymes.

Tous les renseignements recueillis au cours du projet de recherche demeureront strictement confidentiels dans les limites prévues par la loi.

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous, ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

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

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

BK virus hemorrhagic cystitis in haploidentical stem cell transplant recipients: a prospective observational study

ABSTRACT

Introduction: BK virus hemorrhagic cystitis (BKV-HC) is a common complication of the allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Its incidence is increased after haploidentical transplantation (haplo) in retrospective studies but has never been evaluated prospectively. The clinical and biological determinants remain to be defined.

Methods: We included 21 patients at Bordeaux University Hospital between 1st July 2016 and 31st December 2017 in a prospective observational study. The primary endpoint was the occurrence of BKV-HC. We performed weekly BK virus quantitative real-time PCR in blood and urine samples from day-6 to day+100 post-transplant. Patients were followed until day+100 post-transplant.

Results: The incidence of hemorrhagic cystitis (HC) was 19% (4 patients), with 75% grade 3-4 CH. The median occurrence of HC was 45 days. Only one patient had low platelet level at HC onset. The BK virus PCR (BKV-PCR) urinary had 100% sensitivity and 70% specificity. BKV-PCR in urine were positive at least 1 month before appearance of clinical signs. BKV-PCR in blood were positive only at the time of clinical symptomatology. 5 patients had BKV viruria without clinical signs. The main risk factors for HC were corticosteroids ($p = 0.047$) and myeloablative conditioning (MAC) ($p = 0.087$). Survival at day+100 was 81%.

Conclusion: We found a low incidence of BKV-HC in haplo and that BKV-PCR in urine could be positive at least 1 month before HC onset in HSC recipients. In our study HC impact on morbidity but not on overall survival. As we found a lower incidence of BKV-HC than expected, a larger multicenter prospective study is needed to corroborate our findings.

Incidence de la cystite hémorragique à BK virus et déterminants cliniques et virologiques dans la greffe haplo-identique de cellules souches hématopoïétiques : étude observationnelle prospective monocentrique

RESUME

Introduction : La cystite hémorragique (CH) à BK virus est une complication fréquente de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Son incidence semble augmentée après allogreffe haplo-identique dans quelques études rétrospectives mais n'a jamais été évaluée de façon prospective. Les déterminants cliniques et biologiques restent à définir.

Méthode : Nous avons inclus 21 patients au CHU de Bordeaux entre le 1^{er} juillet 2016 et le 31 décembre 2017 dans une étude observationnelle prospective. Le critère de jugement principal était la survenue du tableau de cystite hémorragique à BK virus. Nous avons réalisé des PCR BK virus sanguines et urinaires hebdomadaires de J-6 à J100 post greffe.

Résultats : L'incidence de la CH à BK virus était de 19% (4 patients). La médiane de survenue de la CH était de 45 jours. Soixante-quinze pourcents des CH étaient de grade 3-4. Seul un patient n'avait pas reconstitué ses plaquettes au moment de la CH. Les PCR BK virus urinaires avaient une sensibilité de 100% et une spécificité de 70%. Les PCR BK virus urinaires se positivaient au minimum 1 mois avant l'apparition des signes cliniques. Les PCR BK virus sanguines se positivaient uniquement au moment de la symptomatologie clinique. Certains patients ont présenté une réactivation virale urinaire à BK virus sans signes cliniques. Les principaux facteurs de risque de cystite hémorragique étaient la corticothérapie (p=0,016) et le conditionnement myéloablatif (p=0,056). La survie à J100 était de 81%.

Conclusion : Nous avons retrouvé une faible incidence de la cystite hémorragique à BK virus dans le cadre de l'allogreffe haplo identique de cellules souches hématopoïétiques. La CH avait un impact sur la morbidité mais non sur la mortalité. Nous avons mis en évidence une positivité des PCR BK virus urinaires au minimum 1 mois avant l'apparition des signes cliniques de CH. Une étude prospective multicentrique de plus grande envergure serait nécessaire pour corroborer nos résultats.

DISCIPLINE : Hématologie

MOTS CLES : cystite hémorragique, greffe haplo identique de cellules souches hématopoïétiques, BK virus

UFR des Sciences Médicales, Université de Bordeaux
146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex