

ETUDE PROSPECTIVE RANDOMISEE MULTICENTRIQUE COMPARANT LES RESULTATS DE LA GREFFE D'UNE VERSUS DEUX UNITES DE SANG PLACENTAIRE CHEZ DES PATIENTS AGES DE MOINS DE 35 ANS ATTEINTS DE LEUCEMIE AIGUE EN REMISSION

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

PHRC national, appel d'offre 2009

PROMOTEUR : Assistance Publique Hôpitaux de Marseille

Investigateur coordonnateur : Gérard MICHEL

Méthodologistes : Karine BARRAU, Pascal AUQUIER

COMITE DE REDACTION :

Didier BLAISE	Hématologie, Institut Paoli-Calmettes, Marseille
Pierre BORDIGONI	Hématologie pédiatrique, Hôpitaux de Brabois, Nancy
Karine BARRAU	Unité d'aide méthodologique à la recherche clinique et épidémiologique, AP-HM, Marseille
Agnès BUZYN	Hématologie, Hôpital Necker Adultes, Paris
Anne-Gaelle LE COROLLER	Unité INSERM 379, Institut Paoli-Calmettes, Marseille
Claire GALAMBRUN	Hématologie pédiatrique, AP-HM, Marseille
Jean-Hugues DALLE	Hématologie pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, Paris
Benjamin ESTERNI	Statisticien, Institut Paoli-Calmettes, Marseille
Sabine FURST	Hématologie, Institut Paoli-Calmettes, Marseille
Lilian LABORDE	Data manager, plateforme de recherche du cancérôpôle PACA
Gérard MICHEL	Hématologie pédiatrique, AP-HM, Marseille
Mohamad MOTHY	Hématologie, Hôpital de l'Hôtel Dieu, Nantes
Bernard RIO	Hématologie, Hôpital de l'Hôtel Dieu, Paris

ORGANISMES DE RECHERCHE ASSOCIES

- **Eurocord** (Vanderson ROCHA)
- **Unité INSERM 379** (Etude médico-économique, Anne-Gaelle LE COROLLER)
- **Plateforme de recherche clinique du cancérôpôle PACA** (data management, Lilian LABORDE)

TABLE DES MATIERES

1	RESUME	4
2	ETAT ACTUEL DU PROBLEME ET JUSTIFICATIONS DE L'ETUDE	6
2.1	PLACE DE LA GREFFE DE SANG PLACENTAIRE DANS LE TRAITEMENT DES LEUCEMIES AIGUES DE L'ENFANT ET DE L'ADULTE JEUNE	6
2.2	EFFET DE LA RICHESSE CELLULAIRE DES GREFFONS DE SANG PLACENTAIRE SUR LE PRONOSTIC	7
2.3	CRITERES D'HISTOCOMPATIBILITE POUR LE CHOIX D'UN GREFFON UNIQUE	9
2.4	EXPERIENCE ACTUELLE DES DOUBLES GREFFES DE SANG PLACENTAIRE	10
2.5	JUSTIFICATION D'UNE ETUDE RANDOMISEE DANS CE CONTEXTE.....	12
3	OBJECTIFS DE L'ETUDE	14
3.1	OBJECTIF PRINCIPAL :	14
3.2	OBJECTIFS SECONDAIRES :	15
3.2.1	Objectif médico-économique :	15
3.2.2	Objectifs cliniques et biologiques secondaires :	15
4	METHODOLOGIE	17
4.1	TYPE DE L'ETUDE.....	17
4.2	EQUIPES IMPLIQUEES :	17
4.2.1	Centres de greffes :	17
4.2.2	Structures de recherche associées.....	20
4.3	POPULATION DE L'ETUDE.....	21
4.3.1	Critères d'inclusion.....	21
4.3.2	Critères de non inclusion.....	23
4.4	MODALITES DE SELECTION DES GREFFONS.....	23
4.4.1	Evaluation de la compatibilité et de la richesse des greffons :	23
4.4.2	Etapas de sélection des greffons :	24
4.4.3	Choix d'un greffon après randomisation « greffon unique »	24
4.4.4	Choix d'un double greffon après randomisation « greffon double »	24
4.5	MODALITES DE TRAITEMENT :	26
4.5.1	Préparation à la greffe	26
4.5.1.1	Patients d'âge < 4 ans	26
4.5.1.2	Patients âgés de 4 ans ou plus	26
4.5.1.3	Remarque	26
4.5.2	Prévention de la maladie du greffon contre l'hôte	27
4.5.2.1	Patients d'âge inférieur à 4 ans	27
4.5.2.2	Patients d'âge supérieur ou égal à 4 ans et inférieur à 18 ans	27
4.5.2.3	Patients âgés de 18 ans ou plus	28
4.5.3	Transfusion des unités de sang placentaire :	28
4.6	DEFINITIONS DES CRITERES DE JUGEMENT	30
4.6.1	Critère de jugement principal :	30
4.6.2	Critères secondaires cliniques	30
4.6.3	Critères secondaires biologiques	31
4.7	NOMBRE DE SUJETS NECESSAIRES, FAISABILITE DE L'ETUDE EN FRANCE ET DUREE DE L'ETUDE :	31
4.7.1	Calcul du nombre de sujets nécessaires.....	31
4.7.2	Faisabilité de l'étude en France.....	32
4.7.3	Durée de l'étude :	33
5	METHODOLOGIE DE L'ETUDE ECONOMIQUE	34
5.1	INTRODUCTION :	34
5.2	ANALYSE COUT-EFFICACITE	34
5.3	POINT DE VUE DE L'ANALYSE.....	35
5.4	MESURE DES COUTS	35
5.5	ANALYSE DE SENSIBILITE	36
5.6	GESTION ET ANALYSE DES DONNEES	36
6	ORGANISATION PRATIQUE DES DIFFERENTES PHASES DE L'ETUDE	37
6.1	ENCADREMENT DE L'ETUDE.....	37
6.2	RECRUTEMENT, INCLUSION ET RANDOMISATION.....	37
6.3	PHASE DE CHOIX DES GREFFONS, PHASE THERAPEUTIQUE	37
6.4	RECUEIL DES DONNEES.....	38

6.4.1	Types de données recueillies	38
6.4.2	Organisation du recueil des données	38
6.5	GESTION DES DONNEES.....	38
6.6	ANALYSES STATISTIQUES	39
7	REGLEMENTATION ET ETHIQUE :	41
7.1	ASPECTS LEGAUX	41
7.2	CONFIDENTIALITE	42
8	BIBLIOGRAPHIE :	43
9	ANNEXE 1 : SYNTHESE DES DONNEES RECUEILLIES AUX DIFFERENTS TEMPS D'EVALUATION	45
10	ANNEXE 2 : RECOMMANDATIONS SUR LES SOINS DE SUPPORT :	46
10.1	ANTIBIOPROPHYLAXIE :	46
10.2	PROPHYLAXIE ANTI-VIRALE :	46
10.3	IMMUNOGLOBULINES INTRAVEINEUSES :	46
10.4	MONITORAGE DES REACTIVATIONS VIRALES ET THERAPEUTIQUES ANTI-VIRALES 46	
10.5	PROPHYLAXIE ANTIFUNGIQUE :	47
11	ANNEXE 3 : GRILLE EVENEMENTS INDESIRABLES GRAVE/NON GRAVE, ATTENDU/NON ATTENDU :	47

1 RESUME

Justification de l'étude : La greffe de sang placentaire (GSP) non apparenté est utilisée depuis plusieurs années en l'absence de donneur HLA identique intrafamilial ou non apparenté. Au cours de l'année 2007, 218 des 783 greffes de cellules souches hématopoïétiques non apparentées (28%) effectuées en France étaient des GSP. Cette proportion est de 37% chez l'enfant (58/157). Les résultats cliniques de la GSP dépendent fortement de la quantité de cellules souches du greffon. Depuis la publication récente des résultats encourageants de greffes utilisant deux greffons de sang placentaire, le nombre de ces double-greffes augmente de manière très significative. Ainsi 121/218 GSP effectuées en France en 2007 étaient des double-greffes (55%) alors que cette proportion était de 81/180(45%) en 2006, 30/144(21%) en 2005, 5/77(6%) en 2004 et 0/44 en 2003. Pourtant, aucune étude ne permet actuellement de comparer de manière fiable les résultats des double-greffes aux résultats des greffes utilisant un greffon unique.

Type de l'étude : Nous proposons une étude prospective et randomisée comparant les résultats de la greffe d'une unité versus deux unités de sang placentaire pour des patients âgés de moins de 35 ans et atteints de leucémie aiguë en rémission. Il s'agit d'une étude de supériorité, ouverte, multicentrique menée dans les différents centres d'allogreffe de la Société Française de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC).

Objectifs :

L'objectif principal est de comparer l'incidence de l'échec de greffe dans les deux bras de traitement. L'échec de greffe, critère de jugement principal de l'étude, est défini par la survenue d'un des évènements suivants : décès lié aux complications de greffe, seconde greffe allogénique ou re-injection d'un greffon autologue pour non-prise du greffon, reconstitution autologue. L'impact financier de ces doubles greffes étant à ce jour inconnu, l'étude comporte également une évaluation économique comparative des deux bras de l'étude, de type analyse coût-efficacité, le critère d'efficacité étant la diminution d'incidence de l'échec de greffe. Les critères cliniques secondaires sont : la survie globale et la survie sans rechute, l'incidence de rechute, de mortalité iatrogène, l'incidence d'infections sévères et de la maladie du greffon contre l'hôte. Les critères biologiques secondaires sont : la rapidité de reconstitution hématologique et immunitaire et le chimérisme post-greffe.

Plan expérimental :

Patients de l'étude : Un patient est éligible pour l'étude si tous les critères suivants sont remplis : 1/ âge < 35 ans 2/ leucémie aiguë en rémission avec indication de greffe non apparentée, 3/ absence de donneur volontaire HLA compatible 4/ existence d'au moins 2 unités de sang placentaire 4/6, 5.6 ou 6/6 HLA identiques au patient et entre elles, qui contiennent plus de 3×10^7 cellules nucléées par kg de receveur pour la première unité et plus de $1,5 \times 10^7$ cellules nucléées par kg de receveur pour la seconde, 5/ état général compatible avec une préparation myéloablative, 6/ consentement éclairé signé.

Méthodes de greffe : La préparation à la greffe est de type myéloablatif et comporte, en fonction de l'âge du patient, soit l'association irradiation corporelle totale, fludarabine et cyclophosphamide avec prévention de la maladie du greffon contre l'hôte par cyclosporine A et mycophenolate, soit l'association busulfan, cyclophosphamide et sérum antilymphocytaire avec prévention de la maladie du greffon contre l'hôte par cyclosporine A et corticoïdes.

Méthodes statistiques : Le schéma expérimental retenu est celui d'un essai séquentiel planifié (méthode d'O'Brien et Fleming). Le principe repose sur la possibilité d'interrompre l'essai de façon précoce, avant la fin des inclusions, en cas d'apparition d'une différence significative entre les deux bras. Dans cet essai, l'analyse intermédiaire est planifiée à 18 mois. Les différentes probabilités de survie sans événement sont estimées selon la méthode de Kaplan-Meier. En présence d'un ou plusieurs risques compétitifs, les incidences cumulées de survenue d'évènement sont estimées selon la méthode de Gray. De cette façon la rechute est considérée comme risque compétitif de l'échec de greffe pour l'évaluation de l'objectif principal de l'étude. La comparaison des deux bras de traitement est réalisée par le test du Log Rank pour les estimations de Kaplan-Meier, et par le test de Gray pour les incidences cumulées. L'analyse en intention de traitement (en fonction de la randomisation) prévaudra sur l'analyse per-protocole qui sera complémentaire. Un comité de surveillance indépendant sera constitué afin de contrôler les décisions de poursuite ou d'arrêt de l'étude au moment de l'analyse intermédiaire.

Nombre de sujets nécessaires, faisabilité de l'étude :

Dans le cadre d'un essai séquentiel incluant une analyse intermédiaire à 18 mois, avec comme hypothèses initiales une incidence cumulée d'échec de greffe de 40% dans le bras greffon unique, de 20% dans le bras double-greffe (risque α de 5%, puissance de 80%, 5% perdus de vue), il est nécessaire d'inclure 99 patients par bras, soit 198 patients au total. L'analyse de l'activité de greffe de sang placentaire en France telle qu'elle est rapportée par l'agence de biomédecine montre que l'étude est faisable sur une durée de recrutement de 30 mois. La durée de suivi minimum étant de 6 mois, nous prévoyons une durée totale d'étude de 3 ans.

2 ETAT ACTUEL DU PROBLEME ET JUSTIFICATIONS DE L'ETUDE

2.1 PLACE DE LA GREFFE DE SANG PLACENTAIRE DANS LE TRAITEMENT DES LEUCEMIES AIGUES DE L'ENFANT ET DE L'ADULTE JEUNE

La greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques a un rôle majeur dans la stratégie thérapeutique des leucémies aigues de l'enfant comme de l'adulte jeune. Lorsqu'il n'y a pas de donneur apparenté HLA identique au malade, un donneur potentiel non apparenté peut être recherché dans les différents registres de volontaires pour le don de moelle osseuse. Cependant, il est fréquent qu'aucun donneur non apparenté HLA identique ne soit identifié ou que le délai nécessaire à l'identification du donneur et à la réalisation de ce type de greffe soit incompatible avec l'urgence du traitement. En 1989, Eliane Gluckman démontrait pour la première fois que le sang placentaire pouvait être utilisé comme greffon de cellules souches hématopoïétiques chez l'homme [1]. Ceci a conduit à la création de nombreuses banques de sang placentaire dans différents pays. Sous certaines conditions de richesse cellulaire et de compatibilité HLA, il est désormais possible d'utiliser ces greffons de sang placentaire congelés lorsqu'on ne trouve pas de donneur volontaire HLA identique pour un patient. Plusieurs études rétrospectives, menées chez l'enfant puis chez l'adulte, ont comparé les greffes de sang placentaire aux greffes effectuées à partir d'un donneur volontaire non apparenté [2-8]. L'étude la plus récente comparait, chez l'enfant atteint de leucémie aiguë, les résultats de 503 greffes de sang placentaire non apparentées à ceux de 282 greffes réalisées à partir d'un donneur volontaire non apparenté [8]. Les greffons de sang placentaire étaient soit 6/6 HLA identiques au patient (n=35), soit différents pour 1 (5/6 HLA id, n=201) ou 2 (4/6 HLA id, n=267) antigènes HLA (typage générique pour HLA-A et HLA-B et allélique haute résolution pour DRB1). Les greffons médullaires étaient soit 8/8 HLA identiques (n=116) au patient soit différents pour 1 ou 2 antigènes HLA (n=166) (typage allélique haute résolution pour HLA-A, HLA-B, HLA-C et HLADRB1). Les auteurs comparent les résultats des différents types de greffons à la greffe de moelle 8/8 HLA identique, considérée comme la technique de référence. En termes de survie sans rechute à 5 ans, les résultats après greffe de sang placentaire 4 ou 5/6 HLA id sont similaires à ceux des greffes de moelle 8/8 HLA id, tandis que les résultats après greffe de sang placentaire 6/6 HLA id paraissent meilleurs. La mortalité liée à la greffe est plus importante après greffe de sang placentaire 4/6 qu'après

greffe de moelle 8/8 mais le taux de rechute est moindre après greffe de sang placentaire 4/6. La mortalité liée à la greffe semble également augmentée lorsque les greffons 5/6 HLA identiques contiennent moins de 3×10^7 cellules nucléées par kg de receveur.

2.2 EFFET DE LA RICHESSE CELLULAIRE DES GREFFONS DE SANG PLACENTAIRE SUR LE PRONOSTIC

Dès 1997, Eliane Gluckman avait montré que la richesse du greffon, estimée en quantité de cellules nucléées par kg de receveur avait une influence considérable sur le pronostic des greffes. Les patients qui avaient reçu plus de $3,7 \times 10^7$ cellules nucléées par kg (la médiane de richesse cellulaire des greffons dans cette série), avaient une reconstitution hématologique plus rapide que les receveurs de greffons plus pauvres [9].

Cet effet majeur de la richesse cellulaire du greffon a par la suite été confirmé dans un grand nombre d'études de registre, chez l'enfant comme chez l'adulte, dans des analyses globales comme dans des analyses « maladie-spécifiques » [10-13]. Ainsi, l'analyse multivariée des facteurs pronostiques de 550 greffes placentaires du registre Eurocord montre que la sortie d'aplasie granuleuse et plaquettaire dépend de la quantité de cellules nucléées rapportée au poids du receveur [11]. Dans une étude portant sur 562 greffes effectuées à partir d'un greffon de la banque de sang placentaire de New York, l'effet de la dose cellulaire est également manifeste, les auteurs définissant un seuil à $2,5 \times 10^7$ cellules nucléées par kg de receveur, en dessous duquel le risque d'échec de greffe augmente [12].

Le nombre de cellules CD34+ du greffon a également été proposé comme critère majeur de richesse des greffons, bien que ce critère soit moins universellement accepté que la quantité de cellules nucléées. Une étude monocentrique rétrospective de Wagner sur 102 patients souligne l'importance du nombre de cellules CD34+ par kg de poids du receveur sur la prise de greffe et la survie [14]. Dans cette étude, la survie est meilleure lorsque le greffon contient plus de $1,7 \times 10^5$ CD34/kg (figure 1). Par ailleurs, l'augmentation du nombre de cellules CD34+ administrées atténue l'impact négatif des disparités HLA entre donneur et receveur.

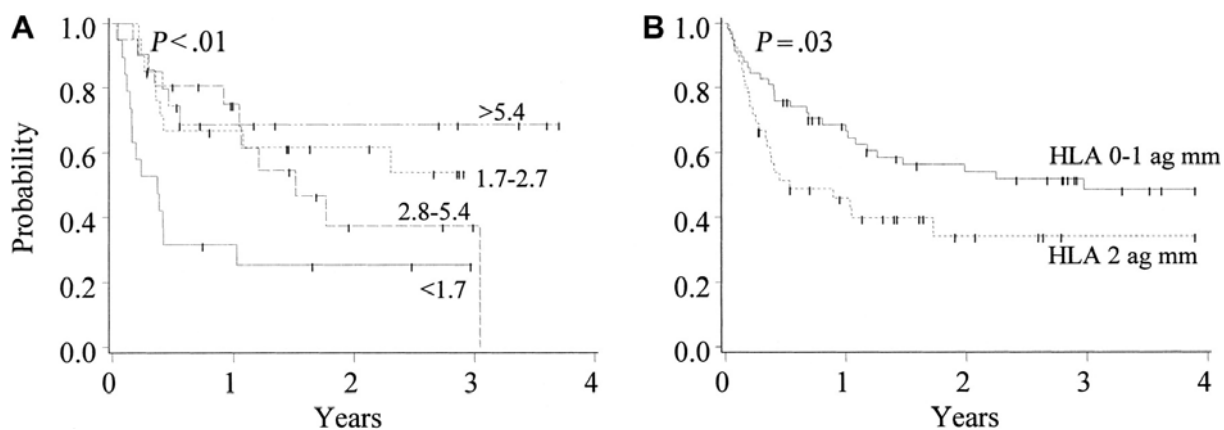


Figure 1 : Effet de la quantité cellulaire ($CD34 \times 10^5/kg$ poids du receveur) (A) et de la disparité HLA (B) sur la survie selon Wagner J [14].

La seule étude prospective multicentrique porte sur 193 enfants atteints d'hémopathies malignes. Les auteurs préconisent un seuil minimum $2,5 \times 10^7$ CNT/kg. La quantité de CD34 dans cette étude n'a pas d'impact significatif sur la prise et la reconstitution plaquettaire [15]. A l'inverse, on pourrait théoriquement craindre un effet défavorable de trop fortes doses de cellules nucléées ou de cellules CD34+, comme cela a pu être décrit avec les greffes allogéniques de cellules souches périphériques obtenues à partir de donneurs volontaires [16]. Cela ne paraît pas être le cas dans le contexte des greffes de sang placentaire. Plusieurs publications font état de greffes placentaires réalisées chez de tout petits enfants ou nouveau-nés atteints de déficits immunitaires, maladies métaboliques ou même leucémies aiguës lymphoblastiques avec t (4 ; 11). Les quantités cellulaires administrées dans ces études ont pu aller jusqu'à des valeurs médianes à $10,4 \times 10^7$ CNT/kg et 6×10^5 CD34/kg et des valeurs maximum à 33×10^7 CNT/kg et 104×10^5 CD34/kg sans qu'un excès de GVH ou de mortalité iatrogène n'ait été rapporté [17-19].

Finalement, les quantités cellulaires minimales requises pour la sélection d'un sang placentaire varient entre $2,5$ et $3,7 \times 10^7$ cellules nucléées totales/kg suivant les auteurs, ces seuils pouvant être pondérés par le nombre de disparités HLA entre donneur et receveur [13]. Une unité de sang placentaire contient un nombre médian de 1.10^9 CNT [20,21]. L'influence majeure de la quantité cellulaire injectée au moment de la greffe a naturellement conduit à l'idée d'utiliser 2 greffons plutôt qu'un seul pour augmenter la quantité totale de cellules injectées.

2.3 CRITERES D'HISTOCOMPATIBILITE POUR LE CHOIX D'UN GREFFON UNIQUE

L'évaluation de la compatibilité HLA entre greffon et receveur repose classiquement sur le groupage classe I (A et B) « générique » et le groupage classe II (DRB1) en biologie moléculaire haute résolution (dit « allélique »). Les compatibilités sont exprimées en nombre de loci identiques sur 6. De manière consensuelle, on considère qu'un greffon de sang placentaire doit être 4/6, 5/6 ou 6/6 HLA identique au receveur. Le typage haute résolution A, B, C, DRB1 et DQB1 n'a pas démontré son intérêt dans le contexte des greffes de sang placentaire mais nos connaissances sur le sujet sont encore trop parcellaires pour qu'une conclusion définitive soit faite.

Dans la série « Eurocord » de 550 patients rapportée par Eliane Gluckman, une disparité HLA plus importante est associée à une moins bonne prise granuleuse, une plus grande incidence de GvH aiguë sévère et une diminution du risque de rechute (figure 2) [11].

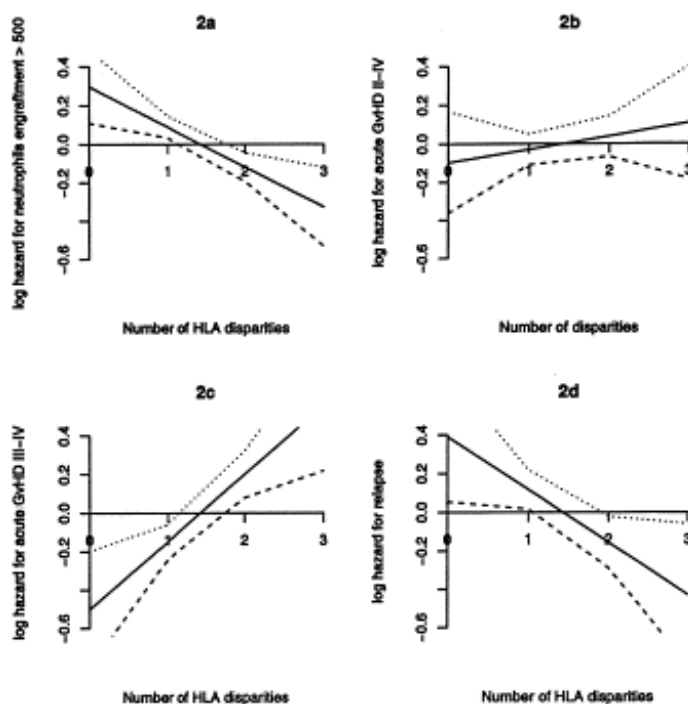


Figure 2 : Effet de la disparité HLA sur la sortie d'aplasie, l'incidence de GVH II-IV et III-IV et sur la rechute Selon Gluckman E. [11]

L'influence de la disparité HLA sur la prise de greffe est confirmée sur une autre grande série de 861 greffes placentaires avec une médiane de sortie d'aplasie de 23 jours pour les greffes 6/6 compatibles contre 28 jours pour les greffes avec une ou plus d'une disparité HLA [22].

Dans l'étude de Kurtzberg sur 193 enfants [15], la disparité HLA n'a pas d'impact sur la GVH aiguë modérée ou sévère selon les critères habituels d'évaluation (basse résolution classe I et haute résolution classe II) En analysant rétrospectivement les HLA en biologie moléculaire classe I et II, les auteurs notent de manière significative une augmentation de la GVH sévère lorsqu'il y a au moins deux disparités HLA sur 6. Une disparité supérieure à 2 retentit également sur la sortie d'aplasie.

2.4 EXPERIENCE ACTUELLE DES DOUBLES GREFFES DE SANG PLACENTAIRE

L'étude princeps, publiée par le groupe de Minneapolis en 2005 portait sur 23 adolescents et adultes âgés de 13 à 53 ans, atteints d'hémopathies malignes en phase avancée. Tous avaient reçu une préparation myéloablative par fludarabine, cyclophosphamide et irradiation corporelle totale et l'association cyclosporine A, mycophénolate et G-CSF en post-greffe. Les deux greffons administrés devaient être au moins 4/6 HLA identiques au patient et au moins 4/6 HLA identique entre eux [23]. Dans cette étude, le délai médian de sortie d'aplasie granuleuse était à 23 jours avec un chimérisme total donneur pour tous les patients. L'incidence de maladie du greffon contre l'hôte ne semblait pas supérieure à celle publiée avec une seule unité de sang placentaire (GvH aiguë de grade III-IV : 13%, GvH chronique : 23%). L'étude du chimérisme post greffe et de son évolution au cours du temps furent particulièrement démonstratives. Au J21, on détectait la présence des deux greffons dans le sang du receveur dans 24% des cas, tandis que pour 76% des patients, un seul greffon était décelable. Au J100, chez les 17 patients évaluable, un seul des deux greffons était décelable dans le sang et on n'observait plus de double chimérisme. Ceci suggère une interaction immunologique complexe entre les 2 unités de sang placentaires transplantées. Cette interaction, nommée réaction du greffon contre le greffon, aboutit à la survie d'un seul greffon et pourrait faciliter la prise du greffon survivant.

Dans un tel contexte, on pourrait craindre que l'incidence de GVH augmente après double-greffe. Dans une étude rétrospective très récemment publiée par le groupe de Minneapolis, la GvH aiguë est effectivement plus fréquente après double-greffe qu'après simple-greffe. L'incidence de la GvH aigue de grade II-IV est de 58% dans le groupe double-greffe (n=185 patients) versus 39% dans le groupe simple greffe (n=80). Cependant, l'excès de GvH paraît être limité aux GvH de grade II, sans augmentation des GvH de grade III-IV et sans

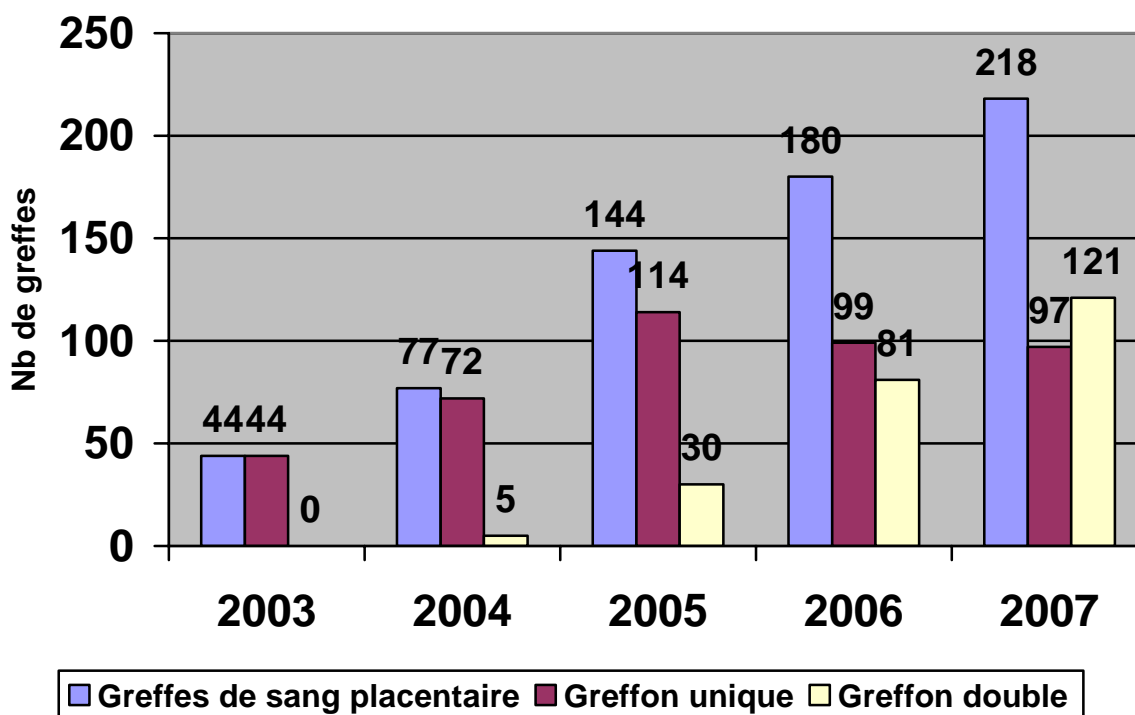
augmentation des GvH chroniques. D'autre part, il semble que la mortalité des patients souffrant de GvH soit moindre dans le groupe double-greffe que dans le groupe simple-greffe. Ainsi, la mortalité iatrogène de l'ensemble des patients est finalement plus faible dans le groupe double-greffe (24% versus 39%), malgré un excès de GvH aiguë [24].

Pour complexifier encore l'évaluation du rapport bénéfice/risque des double-greffes, il est possible que l'augmentation d'incidence de la GvH après double-greffe puisse aboutir à diminuer l'incidence des rechutes. Ainsi, dans une analyse multivariée du risque de rechute observé chez 96 patients atteints de leucémie aiguë et transplantés avec 1 ou 2 greffons de sang placentaire, le groupe de Minneapolis décrit un taux de rechute inférieur dans le groupe des double-greffes [25].

2.5 JUSTIFICATION D'UNE ETUDE RANDOMISEE DANS CE CONTEXTE

L'utilisation d'un double greffon de sang placentaire était initialement destinée à des patients qui n'avaient aucun greffon de sang placentaire suffisamment riche pour être utilisé seul. Au delà de la démonstration de la faisabilité de cette stratégie, le bilan de l'expérience actuelle suggère que l'utilisation d'un double greffon puisse modifier le pronostic en améliorant, par rapport aux greffes simples, la prise du greffon et le risque de décès iatrogène. Ainsi, le nombre de doubles greffes de sang placentaire augmente-t-il en France de manière très significative. En témoignent les chiffres de l'agence de Biomédecine (données consultables sur le site www.agence-biomedecine.fr) : 121/218 greffes de sang placentaire effectuées en France en 2007 étaient des double-greffes (55%) alors que cette proportion était de 81/180(45%) en 2006, 30/144(21%) en 2005, 5/77(6%) en 2004 et 0/44 en 2003 (cf. fig 3).

Figure 3 : Evolution du nombre de greffes non apparentées de sang placentaire en France, fréquence d'utilisation d'un double greffon.



Pourtant, de nombreuses incertitudes persistent sur les bénéfices et risques éventuels de ces doubles greffons, incertitudes que seule une étude randomisée prospective est susceptible de lever. Jusqu'à présent, les quelques comparaisons rapportées sont rétrospectives et entachées de biais manifestes. Les conclusions sont loin d'être toujours concordantes. Ainsi, il n'est pas

démontré que l'utilisation de deux greffons puisse diminuer le risque d'échec de greffe. D'autre part le risque potentiel d'une augmentation du risque de GvH et ses interactions avec la mortalité iatrogène, le taux de rechute et la survie globale doivent être évalués de manière adéquate. Enfin, on ignore quel pourrait être l'impact de l'utilisation d'un double greffon sur le coût financier de la transplantation. Compte-tenu du coût élevé des greffes de cellules souches hématopoïétiques et compte-tenu de l'engouement actuel pour les double-greffes, ce point mérite certainement d'être éclairci. L'étude randomisée que nous proposons donne l'opportunité d'une étude coût-efficacité parallèle, qui évalue l'efficacité selon les mêmes critères que l'étude clinique.

Le choix des maladies ciblées dans l'étude, leucémies aiguës en rémission, est justifié d'abord par la place importante qu'occupent les leucémies aiguës parmi les maladies malignes de l'enfant, de l'adolescent et de l'adulte jeune, mais aussi par le fait que l'efficacité des greffes allogéniques de cellules souches hématopoïétiques est depuis longtemps bien décrite. Le choix de la tranche d'âge 0-35 ans permet d'avoir un recrutement annuel compatible avec une durée d'étude raisonnable (cf. calcul du nombre de sujets nécessaires, paragraphe 4.7.1.) tout en restant homogène. Le fait qu'il s'agisse uniquement de sujets jeunes permet notamment l'utilisation de préparations myéloablatives. Les préparations myéloablatives restent les techniques de référence dans les leucémies aiguës de cette tranche d'âge, même si des résultats récemment publiés démontrent l'intérêt de l'approche « non myéloablative » chez les patients âgés, notamment dans le contexte de double-greffes de sang placentaire [27]. En France, l'étude MINIMAX actuellement en cours dans plusieurs centres de greffe, compare les préparations myéloablatives aux préparations non myéloablatives, mais l'étude porte sur les patients de plus de 35 ans. Pour toutes ces raisons, il apparaît logique de choisir une préparation de référence myéloablative dont le but est de comparer deux types de greffon et qui propose d'inclure des patients âgés de moins de 35 ans.

Enfin, le fait que l'étude soit effectuée sous l'égide de la SFGM-TC (Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire) est important pour la faisabilité de ce projet particulièrement fédérateur des équipes de greffe pédiatriques et adultes.

3 OBJECTIFS DE L'ETUDE

3.1 OBJECTIF PRINCIPAL :

- ✓ L'objectif principal de cette recherche est de comparer en termes d' « efficacité » deux stratégies de greffe de sang placentaire dans une population de sujets âgés de moins de 35 ans, atteints de leucémie aiguë en rémission : une unité de sang placentaire (« simple greffe ») versus deux unités de sang placentaire (« double greffe »).
- ✓ Le critère principal de jugement est l'incidence cumulée des échecs de greffe. L'échec de greffe est défini soit par un décès lié aux complications de la greffe (TRM) soit par l'absence de prise du greffon qui n'entraîne pas le décès du fait d'une seconde greffe ou d'une reconstitution autologue. Ainsi défini, l'échec de greffe correspond au premier des 4 évènements suivants :
 1. Décès lié à la greffe : décès post-greffe survenant en l'absence de rechute de la maladie.
 2. Reconstitution autologue : définie par une reconstitution hématopoïétique ($> 0,5$ giga/l polynucléaires neutrophiles > 20 giga/l plaquettes) associée à un chimérisme receveur sur sang total $> 80\%$. La date de survenue de l'évènement est la date du premier chimérisme $> 80\%$.
 3. Seconde greffe allogénique pour non prise de greffe.
 4. Ré-injection d'un greffon autologue pour non prise de greffe.
- ✓ Le choix du critère composite « échec de greffe » comme critère de jugement principal plutôt que le seul critère « décès lié à la greffe », nous paraît pertinent dans le contexte d'une étude d'efficacité de deux types de greffon. Il permet de ne pas considérer comme « efficace » un greffon qui n'a pas pris, même si le patient est vivant en reconstitution autologue ou après une nouvelle greffe. Dans les situations 3 et 4, la date de survenue de l'évènement est par convention la date de la seconde injection de cellules souches hématopoïétiques, ce qui permet d'éviter l'attribution forcément aléatoire d'une date de non prise de la première greffe.
- ✓ L'hypothèse principale est que la stratégie double greffe permet de diminuer l'incidence des échecs de greffe par rapport à la stratégie simple greffe.

3.2 OBJECTIFS SECONDAIRES :

3.2.1 Objectif médico-économique :

Il s'agit de comparer les coûts monétaires des deux stratégies de greffe, dans une étude de type coût-efficacité, le critère d'efficacité étant le critère de jugement clinique principal de l'étude clinique, c'est-à-dire l'incidence de l'échec de greffe (cf. paragraphe 5).

3.2.2 Objectifs cliniques et biologiques secondaires :

Il s'agit de comparer les deux stratégies de greffe selon les critères d'analyse habituels des transplantations de cellules souches hématopoïétiques : probabilité de survie globale, incidence cumulée de rechute de la maladie, incidence de la mortalité liée au traitement (TRM), probabilité de survie sans rechute, incidence de survenue d'épisodes infectieux sévères, incidence de survenue de la maladie du greffon contre l'hôte, délai de reconstitution hématologique et immunitaire, chimérisme post-greffe.

3.3 OBJECTIF PRINCIPAL :

- ✓ L'objectif principal de cette recherche est de comparer en termes d' « efficacité » deux stratégies de greffe de sang placentaire dans une population de sujets âgés de moins de 35 ans, atteints de leucémie aiguë en rémission : une unité de sang placentaire (« simple greffe ») versus deux unités de sang placentaire (« double greffe »).
- ✓ Le critère principal de jugement est l'incidence cumulée des échecs de greffe. L'échec de greffe est défini soit par un décès lié aux complications de la greffe (TRM) soit par l'absence de prise du greffon qui n'entraîne pas le décès du fait d'une seconde greffe ou d'une reconstitution autologue. Ainsi défini, l'échec de greffe correspond au premier des 4 évènements suivants :
 5. Décès lié à la greffe : décès post-greffe survenant en l'absence de rechute de la maladie.
 6. Reconstitution autologue : définie par une reconstitution hématopoïétique (> 0,5 giga/l polynucléaires neutrophiles > 20 giga/l plaquettes) associée à un chimérisme receveur sur sang total > 80%. La date de survenue de l'évènement est la date du premier chimérisme > 80%.
 7. Seconde greffe allogénique pour non prise de greffe.
 8. Ré-injection d'un greffon autologue pour non prise de greffe.

- ✓ Le choix du critère composite « échec de greffe » comme critère de jugement principal plutôt que le seul critère « décès lié à la greffe », nous paraît pertinent dans le contexte d'une étude d'efficacité de deux types de greffon. Il permet de ne pas considérer comme « efficace » un greffon qui n'a pas pris, même si le patient est vivant en reconstitution autologue ou après une nouvelle greffe. Dans les situations 3 et 4, la date de survenue de l'évènement est par convention la date de la seconde injection de cellules souches hématopoïétiques, ce qui permet d'éviter l'attribution forcément aléatoire d'une date de non prise de la première greffe.
- ✓ L'hypothèse principale est que la stratégie double greffe permet de diminuer l'incidence des échecs de greffe par rapport à la stratégie simple greffe.

3.4 OBJECTIFS SECONDAIRES :

3.4.1 Objectif médico-économique :

Il s'agit de comparer les coûts monétaires des deux stratégies de greffe, dans une étude de type coût-efficacité, le critère d'efficacité étant le critère de jugement clinique principal de l'étude clinique, c'est-à-dire l'incidence de l'échec de greffe (cf. paragraphe 5).

3.4.2 Objectifs cliniques et biologiques secondaires :

Il s'agit de comparer les deux stratégies de greffe selon les critères d'analyse habituels des transplantations de cellules souches hématopoïétiques : probabilité de survie globale, incidence cumulée de rechute de la maladie, incidence de la mortalité liée au traitement (TRM), probabilité de survie sans rechute, incidence de survenue d'épisodes infectieux sévères, incidence de survenue de la maladie du greffon contre l'hôte, délai de reconstitution hématologique et immunitaire, chimérisme post-greffe.

4 METHODOLOGIE

4.1 TYPE DE L'ETUDE

Il s'agit d'une étude multicentrique conduite de façon prospective. Elle est comparative et randomisée, ouverte, avec deux groupes parallèles. Le schéma expérimental retenu est celui d'un essai séquentiel planifié par groupes utilisant les critères d'arrêt de O'Brien et Fleming (27). Le principe repose sur la possibilité d'interrompre l'essai de façon précoce avant la fin des inclusions, en cas d'apparition d'une différence significative entre les deux bras. Dans cet essai, 2 analyses sont planifiées. A chaque analyse, le seuil alpha est fixé selon un plan séquentiel de O'Brien-Fleming, de la façon suivante :

- Analyse intermédiaire à 18 mois : degré de significativité fixé à 0.003,
- Analyse finale à 36 mois : degré de significativité à 0.047.

Il est prévu de ne pas interrompre les inclusions pendant la réalisation de l'analyse intermédiaire. Si l'analyse intermédiaire conclut à la supériorité d'un groupe par rapport à l'autre selon les critères de O'Brien-Fleming, l'essai sera interrompu. Une analyse complémentaire sera réalisée avec les sujets ayant été inclus dans l'intervalle. En cas de conclusion similaire, l'essai ne reprend pas ; en cas de conclusion discordante, l'essai sera repris. Un comité de surveillance indépendant sera constitué afin de contrôler les décisions de poursuite ou d'arrêt de l'étude au moment de l'analyse intermédiaire (ICH-E9. Statistical principles for clinical trials. CPMP/ICH/363/96. 1998). Ce comité sera constitué d'un médecin méthodologiste, d'un médecin référent en hématologie et d'un représentant désigné par l'AFSAPS.

4.2 EQUIPES IMPLIQUEES :

Cette étude est multicentrique et associe les différents centres d'allogreffe de la Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM-TC). Le centre investigateur principal est le centre de greffe pédiatrique de l'hôpital d'enfants La Timone à Marseille (Assistance Publique, Hôpitaux de Marseille). L'investigateur principal est le Professeur Gérard MICHEL.

4.2.1 Centres de greffes :

Les centres de greffes associées et les investigateurs désignés par les responsables médicaux des centres pour être investigateur référent de l'étude sont listés ci-dessous.

CENTRE DE GREFFE	INVESTIGATEUR REFERENT	COORDONNEES	COORDONNEES E-MAIL
ANGERS	Sylvie FRANCOIS	Centre Hospitalier Universitaire Service des Maladies du Sang 49033 Angers Cedex 01	SyFrancois@chu-angers.fr Norbert.lfrah@univ-angers.fr
BESANÇON	Pierre ROHRLICH	Hôpital Saint-Jacques Service Hématologie Pédiatrique Place St Jacques 25030 Besançon Cedex	prohrllich@chu-besancon.fr
	Faezeh LEGRAND	Hôpital Jean Minjoz Service Hématologie Adultes Bd Fleming 25030 Besançon	flegrand@chu-besancon.fr
BORDEAUX	Noël MILPIED	Groupe Hospitalier du Haut LEVEQUE Service des maladies du sang Av de Magelan 33604 PESSAC Cedex	noel.milpied@chu-bordeaux.fr
	Charlotte JUBERT	Centre Hospitalier PELLEGRIN Service d'onco-hématologie pédiatrique Place Amélie RABAT 33076 BORDEAUX	charlotte.jubert@chu-bordeaux.fr
CLERMONT-FERRAND	Catherine PAILLARD	F. G. M. T. C. A. Hôtel Dieu CHU Villemin-Pasteur Service Pédiatrie B et Unité Bioclinique - B.P. 69 11, Bd Léon Malfreyt 63003 Clermont-Ferrand Cedex 1	cpaillard@chu-clermontferrand.fr
	Jacques-Olivier BAY	Site Centre Jean Perrin Unité de Transplantation Médullaire 58, rue Montalembert B.P. 392 63011 Clermont-Ferrand Cedex 1	olivier.bay@cjp.fr
GRENOBLE	Claude Eric BULABOIS	Hôpital Albert Michallon - CHU Dépt. Cancérologie Hématologie Unité Greffe moelle & Thérapie Cellulaire B.P. 217 38043 Grenoble Cedex 09	JYCahn@chu-grenoble.fr
	Dominique PLANTAZ	Hôpital Albert Michallon - CHU Dépt. Pédiatrie Onco-Hématologie Pédiatrique B.P. 217 38043 Grenoble Cedex 09	dplantaz@chu-grenoble.fr
LILLE	Valérie COITEUX	Hôpital HURIEZ Rue Polonosvski 59037 Lille	v-coiteux@chru-lille.fr
LYON	Mauricette MICHALLET	Hôpital Edouard Herriot - CHU Service Hématologie Pavillon E Place d'Arsonval 69437 Lyon Cedex 03	mauricette.michallet@chu-lyon.fr
	Valérie MIALLOU	Hôpital Debrousse - CHU Service Immuno-hématologie Pédiatrique et greffe de moelle 29, rue Sœur Bouvier 69322 Lyon Cedex 08	valerie.miallou@chu-lyon.fr

MARSEILLE	Didier BLAISE	Institut Paoli Calmette Unité de Transplantation et de Thérapie Cellulaire 232, Bd Sainte-Marguerite BP 156 13273 Marseille Cedex 09	sfgmtc_president@marseille.fnclcc.fr
	Sabine FURST	Institut Paoli Calmette Unité de Transplantation et de Thérapie Cellulaire 232, Bd Sainte-Marguerite BP 156 13273 Marseille Cedex 09	furst@marseille.fnclcc.fr
	Claire GALAMBRUN	CHU Timone Enfants 264, rue Saint-Pierre 13005 Marseille	claire.galambrun@ap-hm.fr
MONTPELLIER	Nathalie FEGUEUX	CHU Hôpital Lapeyronie Service Hémato Onco Médicale Unité Greffe Hématologique 371 av. Doyen Giraud 34295 Montpellier Cedex 05	n-fegueux@chu-montpellier.fr
	Geneviève MARGUERITTE	CHU Hôpit. Arnaud de Villeneuve Service Hémato Pédiatrique 3 Unité Soins Protégés Pédiatrie 371 av. Doyen Giraud 34295 Montpellier Cedex 05	g-margueritte@chu-montpellier.fr
NANCY	Pierre BORDIGONI Alexandra SALMON	Hôpitaux de Brabois CHU Hôpital d'Enfants Rue du Morvan 54511 Vandœuvre Les Nancy	p.bordigoni@chu-nancy.fr a.salmon@chu-nancy.fr
NANTES	Françoise MECHINAUD	Hôpital de l'Hôtel Dieu CHU Service Oncologie Pédiatrique Place Alexis Ricordeau 44035 Nantes Cedex 01	francoise.mechinaud@chu-nantes.fr
	Mohamad MOTHY	Hôpital de l'Hôtel Dieu CHU Service Hématologie Place Alexis Ricordeau 44035 Nantes Cedex 01	mohamad.mohty@chu-Nantes.fr
NICE	Anne SIRVENT	Hôpital de l'Archet 1 CHU Service Hématologie Clinique 151, route St Antoine Ginestière BP 3079 06202 Nice Cedex 03	sirvent.a@chu-nice.fr
PARIS, HOTEL-DIEU	Bernard RIO	Hôtel Dieu Service Hématologie 1, place du Parvis Notre Dame 75181 Paris Cedex 04	bernard.rio@htd.aphp.fr
PARIS, NECKER- ADULTES	Agnès BUZYN	Hôpital Necker Adultes Service Hématologie 149-161, rue de Sèvres 75743 Paris Cedex 15	agnes.buzyn@nck.ap-hop-paris.fr
PARIS, PITIE SALPETRIERE	Nathalie DHEDIN	Hôpital de la Pitié Salpêtrière Service Hématologie 47, Bd de l'Hôpital 75651 Paris Cedex 13	nathalie.dhedin@psl.aphp.fr
PARIS, ST LOUIS	Gérard SOCIE	Hôpital Saint-Louis Service Hématologie 1, avenue Claude Vellefaux 75475 Paris Cedex 10	gerard.socie@univ-paris-diderot.fr

PARIS, ROBERT DEBRE	Jean-Hugues DALLE	Hôpital Robert-Debré Unité Hémato-immunologie 48, Bd Sérurier 75019 Paris	jean-hugues.dalle@rdb.aphp.fr
RENNES	Virginie GANDEMER	Hôpital Sud CHU Service Hémato-Oncologie Pédiatrique 16, Bd de Bulgarie BP 56129 35056 Rennes Cedex	virginie.gandemer@chu-rennes.fr
ROUEN	Jean-Pierre VANNIER	Hôpital Charles Nicolle CHU Service Hémato-Oncologie Pédiatrique 1 rue Germont 76031 Rouen Cedex	jean-pierre.vannier@chu-rouen.fr
ST ETIENNE	Jérôme CORNILLON	Institut de Cancérologie de la Loire CHU Service Hématologie Adultes 108 bis avenue Albert Raimond 42271 Saint-Priest-en-Jarez	Jerome.CORNILLON@icloire.fr
STRASBOURG	Patrick LUTZ	Hôpital de Hautepierre CHU Unité Greffe - Pédiatrie Sce Onco-Hémato Pédiatrique 1, avenue Molière 67098 Strasbourg Cedex	patrick.lutz@chru-strasbourg.fr

4.2.2 Structures de recherche associées

- ✓ Eurocord (structure de recherche européenne sur la greffe de cellules souches de sang placentaire, Vanderson ROCHA)
- ✓ Unité INSERM UMR912 (Etude médico-économique, Anne-Gaelle LE CORROLLER)
- ✓ Plateforme de recherche clinique du cancérpôle PACA (data management, Lilian LABORDE)
- ✓ Unité d'aide méthodologique à la recherche clinique et épidémiologique (Karine BARRAU, Pascal AUQUIER)

4.3 POPULATION DE L'ETUDE

Les sujets participant à la recherche doivent répondre aux critères de sélection suivants.

4.3.1 Critères d'inclusion

1. Patients des deux sexes, âgés de moins de 35 ans, atteints de leucémie aiguë en rémission.
2. Sujet pour lequel une indication d'allogreffe non apparentée de cellules souches hématopoïétiques a été posée. Cette indication est conforme au protocole thérapeutique employé pour le traitement de l'hémopathie maligne ou a été arrêtée par le centre greffeur. Sont susceptibles d'être inclus les patients atteints des hémopathies malignes suivantes :

a. Leucémies aiguës myéloïdes de l'enfant :

i. RC1 à haut risque de rechute :

- ✓ Cytogénétique défavorable : monosomie 7, monosomie 5, 5q-, t(9 ;22), t(6 ;9), t(10 ;11).
- ✓ LAM secondaire à une chimiothérapie préalable
- ✓ LAM secondaire à une myélodysplasie (évolution leucémique d'une myélodysplasie préalablement diagnostiquée). Les myélodysplasies de l'enfant non acutisées (blastose médullaire < 20%), y compris la leucémie myélomonocytaire juvénile peuvent également être incluses.
- ✓ Nécessité de plus de deux cycles de chimiothérapie pour l'obtention de la RC1

ii. RC \geq 2

b. Leucémies aiguës myéloïdes de l'adulte :

i. RC1 à haut risque de rechute

- ✓ Cytogénétique défavorable : monosomie 7 monosomie 5, 5q-, abn(3q), t(6 ;9), caryotype complexe.
- ✓ LAM secondaire à une chimiothérapie préalable
- ✓ LAM secondaire à une myélodysplasie (évolution leucémique d'une myélodysplasie préalablement diagnostiquée). Les myélodysplasies non acutisées (blastose médullaire < 20%) peuvent également être incluses.

- ✓ Echec d'induction si une rémission complète est obtenue par une chimiothérapie ultérieure.

ii. $RC \geq 2$

c. *Leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant :*

i. RC1 à très haut risque de rechute :

- ✓ Cytogénétique défavorable : t(9;22) ou t(4;11)
- ✓ RC1 obtenue malgré une chimiorésistance constatée en fin de traitement d'induction (sur critère cytologique et/ou maladie résiduelle $> 10^{-2}$)
- ✓ Age < 6 mois au diagnostic avec leucocytose > 300 giga/l et réarrangement *MLL*.
- ✓ Age < 12 mois au diagnostic avec corticorésistance à J8.

ii. RC2 de type S3, S4 ou S2 avec réponse lente à la chimiothérapie (maladie résiduelle $> 10^{-4}$ après le traitement d'induction de la rechute)

iii. $RC > 2$

d. *Leucémies aiguës lymphoblastiques de l'adulte :*

i. RC1 à très haut risque de rechute :

- ✓ Cytogénétique défavorable : t(9;22), t(4;11), t(1;19), réarrangement *MLL*, hypodiploïdie.
- ✓ Echec d'induction si une remission peut être obtenue par la suite.

ii. $RC > 1$

e. *Leucémie aiguë biphénotypique ou biclonale*

3. Absence de donneur non apparenté dont le degré de compatibilité HLA et le délai de recrutement est jugé acceptable par le centre greffeur.

4. Sujet pour lequel on dispose d'au moins deux unités de sang placentaire présentant les caractéristiques suivantes :

- a. 4/6, 5/6 ou 6/6 HLA identiques au receveur et 4/6, 5/6 ou 6/6 HLA identiques entre elles
- b. Contenant plus de 3×10^7 cellules nucléées par Kg de receveur pour la première unité
- c. Et plus de $1,5 \times 10^7$ cellules nucléées par Kg de receveur pour la seconde

5. Sujet ayant signé un consentement éclairé si patient de plus de 18 ans ou sujet dont les parents et/ou représentants légaux auront signé un consentement éclairé.

4.3.2 Critères de non inclusion

1. Disponibilité d'un donneur génoidentique
2. Disponibilité d'un donneur non apparenté dont le degré de compatibilité HLA et le délai de recrutement sont jugés acceptables par le centre greffeur.
3. Antécédents de greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques
4. Antécédent d'irradiation corporelle totale
5. Présence d'une défaillance d'organe ou état général jugé incompatible avec une préparation myéloablative
6. Maladie psychiatrique évolutive
7. Infection bactérienne, virale ou fongique non contrôlée
8. Sérologie VIH positive
9. Femme enceinte ou allaitante
10. Absence de consentement éclairé signé

4.4 MODALITES DE SELECTION DES GREFFONS

Ce chapitre définit les critères de choix des greffons (compatibilité HLA et richesse cellulaire) et décrit l'algorithme qui conduit à la sélection finale du greffon en 3 étapes : vérification des conditions d'éligibilité pour la randomisation, randomisation simple versus double greffon et choix du greffon simple ou double en fonction de la randomisation.

4.4.1 Evaluation de la compatibilité et de la richesse des greffons :

- Compatibilité HLA : La compatibilité HLA est exprimée en nombre de loci identiques sur 6. Les loci d'intérêt sont A et B pour les antigènes de classe 1 et DRB1 pour les antigènes de classe 2. Seul le niveau d'identité générique (2 digits) est pris en compte pour A et B. Pour DRB1, c'est par contre le niveau d'identité allélique (4 digits) défini par technique de biologie moléculaire haute définition qui est pris en compte.
- Richesse des greffons : La richesse est exprimée en nombre de cellules nucléées totales du greffon, avant congélation.

4.4.2 Etapes de sélection des greffons :

- Etape 1 : Identifier les situations d'éligibilité pour la randomisation de l'étude. Un patient peut être randomisé si toutes les conditions suivantes sont réunies :
 - Disponibilité d'au moins deux unités de sang placentaire 4/6, 5/6 ou 6/6 HLA identiques au receveur et 4/6, 5/6 ou 6/6 HLA identiques entre elles
 - contenant plus de 3×10^7 cellules nucléées par Kg de receveur pour la première unité
 - et plus de $1,5 \times 10^7$ cellules nucléées par Kg de receveur pour la seconde.
- Etape 2 : Randomisation « greffon unique » ou « double greffon »
- Etape 3 : Choix du ou des greffons après randomisation

4.4.3 Choix d'un greffon après randomisation « greffon unique »

Le greffon choisi est appelé « greffon simple greffe ». On rappelle que ce greffon doit impérativement être 4/6, 5/6 ou 6/6 HLA identique au receveur et contenir plus de 3×10^7 cellules nucléées par Kg de receveur. Si plusieurs greffons sont possibles, choisir le meilleur « greffon simple greffe » selon les critères ci-dessous

- Un greffon 6/6 HLA identique est préféré à un 5/6 HLA identique et un greffon 5/6 à un 4/6.
- A nombre de compatibilités égal, une différence A ou B sera préférée à une différence DRB1
- A compatibilité égale, le greffon le plus riche sera choisi

4.4.4 Choix d'un double greffon après randomisation « greffon double »

Par définition, le greffon le plus riche est appelé greffon 1 et l'autre greffon 2.

❖ Choix de première intention :

- Le greffon 1 correspond au « greffon simple greffe », c'est à dire celui qui aurait été choisi en cas de randomisation « greffon unique »
- Le greffon 2 doit être 4/6, 5/6 ou 6/6 HLA identique au receveur et au greffon 1 et doit contenir plus de $1,5 \times 10^7$ cellules nucléées par Kg de receveur.
- Si plusieurs greffons 2 sont possibles, choisir le meilleur greffon 2 selon les critères ci-dessous :
 - ◆ La compatibilité greffon 2 / patient sera privilégiée par rapport à la compatibilité greffon 2/ greffon 1

- ◆ Un greffon 6/6 HLA identique est préféré à un 5/6 HLA identique et un greffon 5/6 à un 4/6.
- ◆ A nombre de compatibilités égal, une différence A ou B sera préférée à une différence DRB1
- ◆ A compatibilité égale, le greffon le plus riche sera choisi

❖ Choix alternatifs :

- Le greffon 1 utilisé dans une double greffe peut cependant ne pas être celui qui aurait été utilisé en cas de randomisation greffe unique « greffon simple greffe ».
- Il est possible qu'aucun des greffons 2 potentiels ne puisse être associé au « greffon simple greffe » du fait d'une compatibilité HLA inter-greffon insuffisante. Dans ce cas, il faut choisir le meilleur greffon 1 parmi ceux qui peuvent être associés à au moins un des greffons 2 potentiels.
- Dans le cas où le « greffon simple greffe » est 4/6 HLA identique au receveur et où existent au moins deux autres greffons 5/6 ou 6/6 HLA identiques avec une richesse comprise entre 1,5 et 3×10^7 cellules nucléées par kg de receveur, on peut choisir d'associer les greffons 5/6 ou 6/6 HLA identiques entre eux si leur association conduit à une richesse cellulaire totale supérieure à $4,5 \times 10^7$ cellules nucléées par kg de receveur. Ces cas nécessitent d'être soumis au centre coordinateur de l'étude.

4.5 MODALITES DE TRAITEMENT :

Tous les patients reçoivent un conditionnement myéloablatif et une prophylaxie de la GVH à base de ciclosporine A, néanmoins les modalités varient en fonction de l'âge.

4.5.1 Préparation à la greffe

4.5.1.1 Patients d'âge < 4 ans

- Busulfan intraveineux en perfusion de 2 heures, 16 doses au total, de J-9 à J-6
 - a. < 9 kg : 1 mg/kg x 4/j
 - b. de 9 à moins de 16 kg : 1,2 mg/kg x 4/j
 - c. de 16 à 23 kg : 1,1 mg/kg x 4/j
- Cyclophosphamide : 50 mg/kg/j en IV sur 2 heures de J-5 à J-2 soit une dose totale de 200mg/kg
- SAL (Thymoglobine®) 2,5 mg/kg/j en IV sur 6 à 12 heures en fonction de la tolérance de J-3 à J-1 soit une dose totale de 7,5mg/kg.

4.5.1.2 Patients âgés de 4 ans ou plus

- Fludarabine 25mg/m²/j en IV sur 1 heure de J-9 à J-7 soit une dose totale de 75mg/m²
- Irradiation corporelle totale de 12 grays en 6 fractions de 2 Gy de J-6 à J-4, avec protection pulmonaire à 8-10 grays selon les protocoles existant dans les différents centres.
- Cyclophosphamide : 60 mg/kg/j en IV de 2 heures de J-3 à J-2 soit une dose totale de 120 mg/kg

4.5.1.3 Remarque

Un patient âgé de 4 ans ou plus peut également recevoir la préparation sans ICT des patients âgés de moins de 4 ans, selon le choix du centre de greffe (problèmes de disponibilité de l'ICT, antécédents d'irradiation cérébrale...). La prévention de la maladie du greffon contre l'hôte comporte alors l'association ciclosporine A et prednisolone (cf. chapitre 4.5.2.1)

4.5.2 Prévention de la maladie du greffon contre l'hôte

4.5.2.1 Patients d'âge inférieur à 4 ans

❖ Ciclosporine A : 3mg/kg/j en IV continu sur 24 heures à partir de J-3, relais *per os* quand l'état du patient le permet et au plus tôt à J14 par Néoral® 3mg/kg x 2/j. La durée de traitement par ciclosporine sera conforme au protocole pédiatrique SFGM-TC de modulation de l'immunosuppression en fonction du chimérisme et de la maladie résiduelle c'est à dire :

▪ *Pour les LAL :*

- Si MRD $\geq 1 \times 10^{-3}$ pré-greffe (J-30)
 - Si J+30 $\geq 1 \times 10^{-3}$: Arrêt CSA entre J45-60
 - Si J+30 $< 1 \times 10^{-3}$: Arrêt CSA entre J60-90
- Si MRD $< 1 \times 10^{-3}$ pré-greffe (J-30): diminution de la CSA de J100 à J180

▪ *Pour les LAM :*

- Si chimère partielle croissante sur deux points à partir de J30 : diminution de la ciclosporine à compter de J60 pour arrêt à J90
- Si chimère 100% donneur stable : diminution protocolaire de la ciclosporine à compter de J100 avec arrêt à J180

❖ Prednisolone :

- ◆ J-3 à J5 : 1 mg/kg/j en 2 fois
- ◆ J5 à J18 : 1,5 mg/kg/j en 3 fois
- ◆ J19 à J25 : 1 mg/kg/j en 2 fois
- ◆ J26 à J32 : 0,75 mg/kg/j en 2 fois
- ◆ J33 à J39 : 0,5 mg/kg/j en 2 fois
- ◆ J40 à J46 : 0,25 mg/kg/j en 2 fois

4.5.2.2 Patients d'âge supérieur ou égal à 4 ans et inférieur à 18 ans

❖ Ciclosporine A : 3mg/kg/j en IV continu sur 24 heures à partir de J-3, relais *per os* quand l'état du patient le permet et au plus tôt à J14 par Néoral® 3mg/kg x 2/j. La diminution de la ciclosporine se fera conformément au protocole pédiatrique SFGM-

TC de modulation de l'immunosuppression en fonction du chimérisme et de la maladie résiduelle c'est à dire :

- *Pour les LAL :*
 - Si $MRD \geq 1 \times 10^{-3}$ pré-greffe (J-30)
 - Si $J+30 \geq 1 \times 10^{-3}$: Arrêt CSA entre J45-60
 - Si $J+30 < 1 \times 10^{-3}$: Arrêt CSA entre J60-90
 - Si $MRD < 1 \times 10^{-3}$ pré-greffe (J-30): diminution de la CSA de J100 à J180
- *Pour les LAM :*
 - Si chimère partielle croissante sur deux points à partir de J30 : diminution de la ciclosporine à compter de J60 pour arrêt à J90
 - Si chimère 100% donneur stable : diminution protocolaire de la ciclosporine à compter de J100 avec arrêt à J180
- ❖ Mycophénolate mofétil (Cellcept®) 15 mg/kg x 3/j de J-3 à J30, sans dépasser 1g x 3/j par voie intraveineuse jusqu'à J14 minimum puis relais *per os* à la même dose si l'état du patient le permet. En cas de survenue d'une maladie du greffon contre l'hôte précoce, la poursuite du mycophénolate mofétil est possible.

4.5.2.3 Patients âgés de 18 ans ou plus

- ❖ Ciclosporine A : 3mg/kg/j en IV continu sur 24 heures à partir de J-3, relais *per os* quand l'état du patient le permet et au plus tôt à J14 par Néoral® 3mg/kg x 2/j. Diminution à compter de J90 pour arrêt à J180, à moduler éventuellement en fonction du chimérisme et de la survenue d'une maladie du greffon contre l'hôte.
- ❖ Mycophénolate mofétil (Cellcept®): 15 mg/kg x 3/j de J-3 à J30, sans dépasser 1g x 3/j par voie intraveineuse jusqu'à J14 minimum puis relais *per os* à la même dose si l'état du patient le permet. En cas de survenue d'une maladie du greffon contre l'hôte précoce, la poursuite du mycophénolate mofétil est possible.

4.5.3 Transfusion des unités de sang placentaire :

La greffe a lieu après une fenêtre d'au moins 24 heures après la dernière chimiothérapie (J0). Pour les patients randomisés dans le bras " double greffe de sang placentaire ", la transfusion des deux unités sera réalisée le même jour. L'unité présentant le degré de compatibilité HLA le plus élevé avec le patient sera transfusée en premier. En

cas de compatibilité identique des deux unités de sang placentaire avec le patient, l'unité la plus riche sera transfusée en premier. Un délai de 2 heures entre les deux transfusions sera respecté. Les horaires de transfusion de chacune des deux poches dûment identifiées seront consignés.

4.6 DEFINITIONS DES CRITERES DE JUGEMENT

La comparaison des deux stratégies thérapeutiques (greffon simple versus double) repose sur l'analyse d'un critère de jugement majeur, l'échec de greffe tel qu'il est défini ci-dessous. La comparaison portera également sur des critères secondaires cliniques et biologiques habituellement utilisé pour l'évaluation des résultats des greffes de cellules souches hématopoïétiques. Enfin la méthodologie de l'analyse coût-efficacité est décrite dans un chapitre spécifiquement dédié (cf. chapitre suivant « Méthodologie de l'étude économique »)

4.6.1 Critère de jugement principal :

Le critère principal de jugement est l'incidence cumulée des échecs de greffe. L'échec de greffe est défini soit par un décès lié aux complications de la greffe (TRM) soit par l'absence de prise du greffon qui n'entraîne pas le décès du fait d'une seconde greffe ou d'une reconstitution autologue (cf. chapitre 3.1 pour la discussion du choix du critère composite). Ainsi défini, l'échec de greffe correspond au premier des 4 événements suivants :

- Décès lié à la greffe : décès post-greffe survenant en l'absence de rechute de la maladie.
- Reconstitution autologue : définie par une reconstitution hématopoïétique ($> 0,5$ giga/l polynucléaires neutrophiles > 20 giga/l plaquettes) associée à un chimérisme receveur sur sang total $> 80\%$. La date de survenue de l'événement est la date du premier chimérisme receveur $> 80\%$.
- Seconde greffe allogénique pour non prise de greffe. La date de survenue est la date de la seconde greffe.
- Ré-injection d'un greffon autologue pour non prise de greffe. La date de survenue est la date de ré-injection.

4.6.2 Critères secondaires cliniques

- Probabilité de survie globale
- Incidence cumulée de rechute : La rechute est définie comme la réapparition de cellules malignes en un site quelconque de l'organisme. La date considérée de la rechute sera le premier jour où les cellules malades auront été mises en évidence.
- Incidence de la mortalité liée au traitement (TRM). La TRM est définie par tout décès survenant après la greffe en rémission complète persistante, quelle qu'en soit la cause. La rechute est un événement compétitif.

- Probabilité de survie sans maladie : prenant en compte le premier des deux événements suivants : rechute de la maladie ou décès.
- Incidence de survenue d'épisodes infectieux sévères : infection bactérienne grade 3 et 4 de la classification OMS, infections fongiques et virales documentées
- Incidence de survenue de la maladie du greffon contre l'hôte
Aiguë (aGVHD, grades 0-1, 2 à 4 et 3-4, selon la classification BMT CTN MOP)
Chronique (cGVHD, limitée et extensive selon la classification BMT CTN MOP)

4.6.3 Critères secondaires biologiques

- Délai de reconstitution hématologique :
 - a. Prise de greffe granuleuse: premier de 3 jours consécutifs avec plus de 0,5 giga/l polynucléaires neutrophiles.
 - b. Prise de greffe plaquettaire : premier de 3 jours consécutifs avec une numération plaquettaire supérieure à 20 giga/l en l'absence de transfusion de concentré plaquettaire depuis au moins 7 jours.
- Chimérisme post-greffe :
Évalué sur sang à J15, J30, J60, J90, et 6 mois et 1 an après greffe.
- Reconstitution immunitaire :
Évaluée à J30, J90, 6 mois, 9 mois et 1 an après greffe par la numération des sous populations lymphocytaires.

4.7 NOMBRE DE SUJETS NECESSAIRES, FAISABILITE DE L'ETUDE EN FRANCE ET DUREE DE L'ETUDE :

4.7.1 Calcul du nombre de sujets nécessaires

L'objectif principal est de comparer l'incidence cumulée de l'échec de greffe entre les deux bras de traitement. Le calcul du nombre de sujets nécessaires a été réalisé à partir de ce critère de jugement principal selon la méthode des analyses par groupes séquentiels de O'Brien et Fleming. Dans le cadre d'un essai séquentiel incluant 2 analyses (1 intermédiaire et 1 finale), avec comme hypothèses initiales de travail, une incidence cumulée d'échec de greffe de 40% dans le bras greffon unique, de 20% dans le bras double greffe (risque alpha de 5%, puissance de 80%), l'estimation du nombre de sujets nécessaire est de 94 par groupe, soit 188 au total [Power Analysis and Sample Size Software, version 2008, Utah, USA]. Dans l'éventualité

qu'au maximum 5% des patients seraient non évaluables pour l'objectif principal, il est prévu d'inclure 99 patients dans chaque bras, soit un total de 198 patients dans l'étude.

4.7.2 Faisabilité de l'étude en France

L'analyse de la base de données de l'agence de Biomédecine montre que, parmi les patients receveurs d'une greffe de cellules souches de sang placentaire en 2006, 104 étaient âgés de moins de 35 ans, répondaient aux critères d'éligibilité de l'étude en terme de maladie initiale et de compatibilité HLA du greffon et ont reçu au moins un greffon contenant plus de $3,5 \times 10^7$ cellules nucléées par kg.

Par ailleurs, parmi 70 recherches de greffon placentaire réalisées à Marseille durant l'année 2006 (32 adultes / 38 enfants) 62 ont aboutit à l'identification d'au moins un greffon répondant aux critères de richesse et de compatibilité de notre étude pour une stratégie de greffe placentaire unique. Un deuxième greffon autorisant une stratégie de double greffon était identifiable pour l'ensemble de ces 62 malades. Même si cette simulation demande à être affinée par une évaluation multicentrique, on peut admettre que la plupart des patients qui ont un premier greffon répondant aux critères de l'étude ont également un second greffon potentiel comportant plus de $1,5 \times 10^7$ CNT/kg et sont ainsi susceptibles d'être randomisés dans une étude simple versus double greffe.

La majorité des centres de greffe allogénique SFGM-TC ayant exprimé leur engagement à participer à ce protocole randomisé, l'étude telle qu'elle est conçu paraît parfaitement faisable en France. Il n'y a pas à notre connaissance de protocole multicentrique SFGM susceptible d'entrer en compétition et d'en diminuer ainsi le recrutement. Au contraire, cette étude est tout à fait complémentaire de l'étude MINICORD, étude multicentrique SFGM-TC en cours sur la greffe de sang placentaire pour plusieurs type de raisons :

- Les inclusions de l'étude MINICORD seront achevées au moment où l'étude « simple versus double » pourrait commencer.
- Le même groupe de réflexion qui a conduit à MINICORD considère que la prochaine question à poser dans le domaine est la randomisation greffon simple versus greffon double.
- L'excellent recrutement actuel du protocole MINICORD démontre que la mobilisation des équipes de greffe françaises autour de la greffe de sang placentaire peut être très forte.

4.7.3 Durée de l'étude :

Ainsi, une durée d'inclusion de 30 mois devrait être suffisante pour recruter 90 patients dans chaque bras de l'étude et répondre ainsi à l'objectif principal de l'étude. La durée minimum de suivi étant de 6 mois après greffe, la durée totale de l'étude est de 3 ans.

5 METHODOLOGIE DE L'ETUDE ECONOMIQUE

5.1 INTRODUCTION :

L'impact économique des stratégies thérapeutiques innovantes apparaît central dans nos systèmes de santé à financement socialisé en raison de l'explosion des dépenses de santé dans la part du PIB des grandes puissances industrielles. Or le secteur de la santé n'est pas régi par le marché comme les autres secteurs économiques, et ce pour des raisons structurelles. Pour pallier à cette absence du marché, les économistes ont développés un outil d'analyse, « l'évaluation économique ». L'évaluation économique consiste en une analyse comparative de stratégies visant au même but thérapeutique tant du point de vue de leur coût que de leurs conséquences. Il est préférable que cette analyse des coûts et des conséquences soit réalisée sur la même cohorte de patients. Le surcoût généré par l'administration d'une seconde unité de sang placentaire à des patients atteints de leucémie aiguë mérite d'être analysé au regard des bénéfices que son administration peut générer en comparaison de l'administration d'une unique unité de sang placentaire. C'est ce que nous proposons de réaliser dans le cadre d'une évaluation économique de type coût-efficacité associé au protocole de recherche clinique dès sa conception. L'évaluation économique permettra de compléter l'évaluation clinique de l'administration d'une seconde unité de sang placentaire dans le traitement des hémopathies malignes.

5.2 ANALYSE COUT-EFFICACITE

L'objectif principal du protocole clinique est de tester la diminution du nombre d'échec de greffe permise par l'administration d'une seconde unité de sang placentaire. Ce critère sera celui retenu par l'évaluation économique comme critère d'efficacité.

Si les résultats démontrent une absence de différence significative entre les deux groupes de traitement, l'évaluation économique deviendra une étude de minimisation des coûts.

Si les résultats montrent la supériorité d'un groupe de traitement à la fois en terme clinique et en terme de coûts monétaires, la stratégie en question sera considérée comme dominante.

Si les résultats en termes cliniques et en termes de coûts monétaires sont en contradiction, le calcul d'un ratio coût –efficacité sera réalisé :

Soit un programme expérimental e et un programme de référence r .

Soit E l'efficacité procurée par le programme, respectivement E_e et E_r

C le coût du programme exprimé en termes monétaires, respectivement C_e et C_r

Si $C_e \geq C_r$ et $E_e > E_r$, il faut alors calculer le ratio coût/efficacité : $R = \frac{C_e - C_r}{E_e - E_r}$ qui

permettra d'obtenir l'information recherchée par l'analyse : le coût induit par unité d'efficacité supplémentaire. Dans le cas du protocole, cela correspondra au coût supplémentaire généré par un échec de greffe évité par l'administration d'une seconde unité de sang placentaire.

Si $C_e \leq C_r$ et $E_e < E_r$, l'analyse coût-efficacité calculera alors le ratio différentiel de la stratégie de référence par rapport à la nouvelle stratégie.

5.3 POINT DE VUE DE L'ANALYSE

Il est primordial dans une évaluation économique de préciser dès le départ quel sera le point de vue de l'analyse, car de ce point de vue dépendront un grand nombre de choix méthodologiques. Nous adopterons pour cette étude le point de vue de l'hôpital. Nous centrerons ainsi notre analyse sur les coûts médicaux directs.

5.4 MESURE DES COÛTS

La mesure des coûts dans une évaluation économique consiste tout d'abord en la mesure les quantités physiques consommées pour la mise en place du traitement et les conséquences qui lui sont associées. Ces quantités physiques sont ensuite valorisées monétairement, selon le point de vue adopté. Nous réaliserons cette valorisation monétaire sur la base des prix unitaires Français.

Les quantités physiques consommées seront recueillies dans les cahiers d'observation de l'étude depuis le t0 (date de randomisation) jusqu'à 6 mois de suivi postgreffe.

L'estimation des coûts médicaux directs, représentés par l'ensemble des ressources mises en œuvre pour réaliser le traitement médical, se fera à partir des variables qui auront été incluses dans les cahiers d'observation. Ce sont principalement :

- les durées d'hospitalisation conventionnelle,
- le nombre de visites en hôpital de jour,
- le nombre de transfusions (globules rouges et plaquettes),
- les consommations des principaux médicaments administrés aux patients (anticancéreux, antibiotiques, immunosupresseurs, antiviraux, facteurs de croissance hématopoïétiques, SAL),

- le nombre et le type des principaux examens complémentaires

5.5 ANALYSE DE SENSIBILITE

Une telle évaluation économique présente inévitablement un risque statistique inhérent à la mesure des quantités physiques et une incertitude liée aux choix méthodologiques réalisés par l'analyste. Pour mesurer l'impact de ce risque et de cette incertitude, nous réaliserons une analyse de sensibilité multivariée, sur les quantités physiques et les coûts unitaires. Dans le cas où le calcul d'un ratio coût-efficacité s'avérera nécessaire, nous mesurerons le risque statistique par la construction d'un intervalle de confiance autour de ce ratio. Le calcul de cet intervalle de confiance pose des problèmes méthodologiques importants de par la nature même du ratio coût-efficacité qui est le quotient de deux variables aléatoires. Le dénominateur peut ainsi statistiquement tendre vers zéro, rendant dans ce cas le ratio estimé très grand, voire infini. Il n'existe pas, actuellement de consensus sur les méthodes appropriées pour construire un intervalle de confiance autour du ratio coût-efficacité. Nous choisirons avec Sianni et Moatti (28) d'appliquer la méthode de Fieller tronquée qui consiste à ne conserver qu'un simple secteur de confiance, celui contenant le couple (coût, efficacité) observé à partir de l'échantillon de données. Pratiquement, l'analyse se fait en deux étapes : calculer tout d'abord la région de confiance, puis préciser le secteur de confiance considéré en utilisant les moyennes observées sur l'échantillon.

5.6 GESTION ET ANALYSE DES DONNEES

Les données nécessaires à la réalisation de l'évaluation économique seront collectées sur le cahier d'observation clinique. C'est pour cette raison que le financement demandé dans le cadre du PHRC 2009 concerne uniquement pour l'évaluation économique la phase d'analyse des données. Cette analyse des données économiques sera effectuée par l'unité UMR 912 en collaboration avec l'investigateur principal du protocole.

6 ORGANISATION PRATIQUE DES DIFFERENTES PHASES DE L'ETUDE

6.1 ENCADREMENT DE L'ETUDE

Le comité de pilotage de l'étude sera constitué par les membres du comité de rédaction de ce protocole (cf. page 1). Il comportera ainsi, outre des médecins investigateurs, un statisticien, un économiste, un méthodologiste et un data manager. Ce comité sera chargé de coordonner l'ensemble des étapes du projet, y compris la validation des résultats à l'issue de l'analyse statistique et économique.

6.2 RECRUTEMENT, INCLUSION ET RANDOMISATION

- ✓ Le recrutement sera assuré à partir des centres investigateurs. Le médecin référent sera chargé de vérifier l'ensemble des critères de sélection, puis d'informer le participant et/ou les parents selon l'âge du sujet. Les objectifs, le déroulement de la recherche, les bénéfices et risques seront détaillés. Une notice d'informations sera distribuée, et les consentements éclairés seront recueillis (pour les sujets adultes, le consentement du sujet lui-même sera suffisant ; pour les sujets mineurs, le consentement des parents ou des représentants légaux sera indispensable).
- ✓ Au moment de l'inclusion d'un patient, une fiche d'inclusion permettant de vérifier les critères d'inclusion et de non inclusion (cf. chapitre 4.3) sera adressée au centre coordonateur. Pour chaque patient, l'attribution à un groupe thérapeutique se fera au moyen d'une liste de randomisation établie avant la mise en place de l'étude. Cette liste sera élaborée sous la responsabilité du Service de Santé Publique et de l'Information Médicale (Unité d'Aide Méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique, AP-HM). La méthode retenue est celle des blocs de patients permutés par strate [29]. Les strates retenues dans ce projet sont représentée par la tranche d'âge ([0-9 ans], [10-24 ans], [25-35 ans]), l'irradiation corporelle totale (oui / non), le type d'hémopathie (lymphoïde / myéloïde). La randomisation est centralisée dans le centre coordonateur.
- ✓ Une confirmation d'inclusion avec les résultats de la randomisation sera adressée en retour au centre de greffe prenant en charge le patient.

6.3 PHASE DE CHOIX DES GREFFONS, PHASE THERAPEUTIQUE

Ces phases sont détaillées dans les chapitres 4.4 et 4.5 de ce document.

6.4 RECUEIL DES DONNEES

6.4.1 Types de données recueillies

- ✓ La fiche initiale : comportera des données sur le patient, le type de maladie et le statut hématologique au moment de la greffe, la préparation à la greffe, la prévention de la maladie du greffon contre l'hôte et les caractéristiques des greffons (notamment composition du greffon et compatibilité avec le receveur)
- ✓ Le suivi ultérieur sera effectué à J100, 6 mois, 1 an puis tous les ans. Les données recueillies concerneront la survenue éventuelle d'un échec de greffe, d'une rechute, l'état aux dernières nouvelles, les différentes complications observées après greffe (infection, maladie du greffon contre l'hôte notamment), la reconstitution hématologique et immunitaire, le chimérisme.
- ✓ Le recueil des données pour l'évaluation économique sera fait sur la même base de données que le recueil des données clinico-biologiques.

6.4.2 Organisation du recueil des données

- ✓ Les données seront recueillies et saisies sur site grâce à un cahier d'observation électronique mis au point par la plateforme de recherche clinique du canceropôle PACA (cf. ci-dessous). La demande financière au PHRC comporte du temps d'assistant de recherche clinique sur les différents sites de manière à aider les investigateurs dans le recueil et la saisie des données.
- ✓ Du temps d'assistant de recherche clinique coordonateur est également demandé dans le centre coordonateur afin d'assurer le suivi des inclusions et le contrôle de qualité des données recueillies sur site.

6.5 GESTION DES DONNEES

La gestion des données sera assurée par le data manager de la plateforme de recherche clinique du canceropôle PACA (labélisé Centre de Traitement de Données par l'INCA).

Il réalisera les tâches suivantes :

- Le paramétrage et la mise en place d'un cahier d'observation électronique pour le recueil des données (incluant la formation des utilisateurs).
- La traçabilité (piste d'audit) et la sécurité des données (gestion des droits d'accès des intervenants suivant leur rôle dans l'étude),

- Le paramétrage et l'exécution des contrôles de validité et de cohérence des données saisies (réalisés au fur et à mesure de la saisie, revue des erreurs trouvées avec le moniteur et émission des demandes de corrections différées électroniques).
- Rédaction du rapport de data management : résumé des activités de gestion des données, état de qualité de la base précisant la proportion de données manquantes, le nombre de demandes de corrections émises, résolues et non résolues, la liste des déviations au protocole. Ce rapport servira de support à la réunion de pré-analyse avant le gel.
- le gel et l'archivage de la base de données avant l'analyse.
- le transfert de la base de données au statisticien et au promoteur (données et métadonnées) après le gel.

Ces tâches seront menées conformément à la réglementation en vigueur, avec le logiciel de data management CAPTURE SYSTEM

6.6 ANALYSES STATISTIQUES

Deux analyses sont planifiées, selon un plan séquentiel de O' Brien-Fleming : une analyse intermédiaire à 18 mois, avec un degré de significativité $p=0.003$ et une analyse finale avec un degré de significativité $p=0.047$.

Les deux analyses seront effectuées selon la même procédure.

- Dans un premier temps, les écarts au protocole et les perdus de vue seront décrits de façon détaillée, et comparés entre les deux groupes de patients. Cette analyse pourra conduire à la définition de deux populations différentes : population per-protocole (exclusion préalable des patients ou mesures avec déviation majeure au protocole), population en intention de traiter (prise en compte de tous les patients inclus même en cas de violation majeure du protocole). L'analyse sur la population en intention de traiter prévaudra sur l'analyse per-protocole qui sera complémentaire. Une analyse descriptive sera conduite sur l'ensemble des patients inclus, portant sur les principales caractéristiques socio-démographiques et cliniques. Les variables qualitatives seront exprimées en termes d'effectif et pourcentage, alors que les variables quantitatives seront rapportées à l'aide des paramètres usuels de position (moyenne, médiane) et de dispersion (écart-type, étendue, minimum-maximum).
- Dans un second temps, la comparabilité à l'inclusion des deux groupes (« simple greffe » versus groupe « double greffe ») sera vérifiée sur les variables socio-

démographiques et cliniques à l'aide de tests du chi-2 ou exacts de Fisher pour les variables qualitatives, et de tests de Student ou d'analyses de variance pour les variables quantitatives. Si les conditions d'application de l'utilisation de ces tests ne sont pas vérifiées, la comparaison se fera à l'aide des tests non paramétriques appropriés (test de Mann-Whitney, test de Kruskal-Wallis). Cela identifiera d'éventuels facteurs confondants à prendre en compte dans l'analyse multivariée.

- La comparaison des deux bras de l'étude sera effectuée sur le critère de jugement principal (incidence cumulée des échecs de greffe) et sur les critères secondaires listés dans le paragraphe 4.6. Les différentes probabilités de survie sans événement seront estimées selon la méthode de Kaplan-Meier à partir de la date de greffe. En présence d'un ou plusieurs risques compétitifs, les incidences cumulées de survenue d'évènement seront estimées selon la méthode de Gray. De cette façon, la rechute sera considérée comme risque compétitif de l'échec de greffe pour l'évaluation de l'objectif principal de l'étude. La comparaison des deux bras de traitement sur les différents critères de survie sera réalisée par le test du Logrank pour les estimations de Kaplan-Meier, et par le test de Gray pour les incidences cumulées. Tous les tests seront bilatéraux au seuil de significativité de 5%. Les courbes des incidences cumulatives seront utilisées pour illustrer la survie selon la méthode de Gooley et al.

Les analyses statistiques seront réalisées à l'aide du logiciel SPSS version 15.0 et le module Cmprsk du logiciel R version 2.7 [R Foundation for Statistical Computing : R a language and environment for statistical computing], sous la responsabilité conjointe de Anderson Loundou (biostatisticien, Unité d'Aide Méthodologique à la Recherche Clinique, DRC Marseille) et Benjamin Esterni (biostatisticien, Institut Paoli-Calmettes, Marseille)

7 REGLEMENTATION ET ETHIQUE :

7.1 ASPECTS LEGAUX

Le promoteur pressenti de ce projet est l'Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille. Une veille réglementaire sera réalisée par le Promoteur. Il soumettra le projet aux autorités responsables pour approbation.

Ce projet s'inscrit dans le cadre d'une recherche biomédicale interventionnelle, au sens de l'article L.1121-1. Il est soumis au nouveau dispositif réglementaire qui s'applique aux recherches « organisées et pratiquées sur l'être humain en vue du développement des connaissances biologiques et médicales », à savoir la Loi de Santé Publique n°2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique et ses décrets d'application du 27 août 2006, visant à mettre la réglementation française en conformité avec le droit européen. A ce titre, elle fera l'objet d'une demande d'un avis favorable auprès d'un Comité de Protection des Personnes, et d'une demande d'autorisation auprès de l'Autorité Compétente représentée par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (Afssaps). Une notice d'information sera distribuée aux patients, il existera un exemplaire pour les enfants avec une formulation adaptée à son âge ; un consentement éclairé sera recueilli auprès de sujets majeurs, pour les sujets mineurs un consentement sera recueilli auprès des parents ou représentants légaux et pour les enfants les plus grands, un consentement sera recueilli dont la formulation sera également adapté à leur âge. Ils seront rédigés conformément aux recommandations réglementaires, rappelant notamment l'objectif de l'étude, les avantages et les risques liés à cette étude, le déroulement de l'étude et l'ensemble des dispositions légales auxquels les patients ont droit.

Cette recherche sera conduite selon les bonnes pratiques cliniques, constituant un ensemble d'exigences de qualité dans les domaines éthique et scientifique, qui doivent être respectées lors de la planification, la mise en oeuvre, la conduite, le suivi, le contrôle de qualité, l'audit, le recueil des données, l'analyse et l'expression des résultats. Le respect de ces bonnes pratiques cliniques garantit la protection des droits, la sécurité et la protection des personnes qui se prêtent à ces recherches et la préservation de leur anonymat ainsi que la crédibilité (intégrité, authenticité, vérifiabilité) et la précision des données et des résultats de ces recherches.

7.2 CONFIDENTIALITE

Concernant le traitement informatisé des données relatives à ce projet, qui a pour finalité la recherche dans le domaine de la santé, il entre dans la cadre d'exigences législatives, en particulier la loi du 9 août 2004, et portera uniquement sur des données ne permettant pas une identification directe ou indirecte des personnes concernées. Il sera réalisé conformément à la méthodologie de référence homologuée par la Commission nationale de l'informatique et des libertés et établie en concertation avec le comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé, élaborée dans le but de simplifier les formalités (Décision du 5 janvier 2006. Méthodologie de référence MR-001).

Le personnel médical et non médical impliqué dans cette recherche est soumis au secret médical et professionnel vis-à-vis des données recueillies au cours de l'étude sur les patients. Les informations recueillies auprès des patients resteront strictement confidentielles. Elles seront conservées sous un format papier à l'intérieur d'un local fermant à clé. Elles seront saisies sur un support informatique et bénéficieront d'un traitement automatisé. Ce traitement informatisé ne permettra pas l'identification directe ni indirecte des sujets. L'ensemble de ces données ne pourra être consulté que par l'investigateur principal et les représentants du Promoteur, ou encore être communiquées aux Autorités Sanitaires Habilitées si nécessaire. Une déclaration de l'étude sera réalisée auprès de la Commission Nationale Informatiques et Libertés en accord avec la législation en vigueur (Loi Informatiques et Libertés du 6 janvier 1978, modifiée par la loi du 1er Juillet 1994 et Décret du 9 Mai 1995). Le sujet et ses représentants participant devront être informés de la nature des informations traitées, de leur finalité, de l'identité des personnes physiques et morales destinataires de ces données. Il conservera un droit d'accès et de rectification de ces données par l'intermédiaire d'un médecin de son choix, ainsi que d'un droit d'opposition. En accord avec la Directive Européenne 95/46/EC). En accord avec la loi du 4 Mars 2002 relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé, les résultats globaux de l'étude peuvent être communiqués aux sujets ou leurs représentants à leur demande, directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de leur choix. Le sujet participant devra être informé de la nature des informations traitées, de leur finalité, de l'identité des personnes physiques et morales destinataires de ces données. Il conservera un droit d'accès et de rectification de ces données par l'intermédiaire d'un médecin de son choix, ainsi que d'un droit d'opposition.

8 BIBLIOGRAPHIE :

1. Gluckman, E. 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. 321(17): 1174-8.
2. Barker, J.N. et al., Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. *Blood*, 2001. 97(10): 2957-61.
3. Rocha, V. et al., Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood*, 2001. 97(10): 2962-71.
4. Laughlin, M.J., et al., Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med*, 2004. 351(22): 2265-75.
5. Rocha, V. et al., Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med*, 2004. 351(22): 2276-85.
6. Takahashi, S. et al., Single-institute comparative analysis of unrelated bone marrow transplantation and cord blood transplantation for adult patients with hematologic malignancies. *Blood*, 2004. 104(12): 3813-20.
7. Jacobsohn, D.A. et al., Outcomes of unrelated cord blood transplants and allogeneic-related hematopoietic stem cell transplants in children with high-risk acute lymphocytic leukemia. *Bone Marrow Transplant*, 2004. 34(10): 901-7.
8. Eapen, M. et al., Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia : a comparison study. *Lancet*, 2007. 369 : 1947-54.
9. Gluckman, E. et al., Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group. *N Engl J Med*, 1997. 337(6) : 373-81.
10. Michel, G. et al., Unrelated cord blood transplantation for childhood acute myeloid leukemia: a Eurocord Group analysis. *Blood*, 2003. 102(13): 4290-7.
11. Gluckman, E. et al., Factors associated with outcomes of unrelated cord blood transplant: guidelines for donor choice. *Exp Hematol*, 2004. 32(4): 397-407.
12. Rubinstein, P. et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med*, 1998. 339(22): 1565-77.
13. Schoemans, H. et al., Adult umbilical cord blood transplantation: a comprehensive review. *Bone Marrow Transplant*, 2006. 38(2): 83-93.
14. Wagner, J.E. 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. 100(5): 1611-8.
15. Kurtzberg J. et al. Results of the cord blood transplantation study (COBLT): clinical outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric patients with hematologic malignancies. *Blood*. 2008. 112: 4318-4327.
16. Mohty, M. et al., Higher doses of CD34+ peripheral blood stem cells are associated with increased mortality from chronic graft-versus-host disease after allogeneic HLA-identical sibling transplantation. *Leukemia*, 2003. 17(5): 869-75.
17. Staba, S.L. et al., Cord-blood transplants from unrelated donors in patients with Hurler's syndrome. *N Engl J Med*, 2004. 350(19): 1960-9.
18. Wall, D.A. et al., Busulfan/melphalan/antithymocyte globulin followed by unrelated donor cord blood transplantation for treatment of infant leukemia and leukemia in young children: the Cord Blood Transplantation study (COBLT) experience. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005. 11(8): 637-46.

19. Kurtzberg, J., et al. Correction of Congenital Immunodeficiency Disease with Umbilical Cord Blood Transplantation in 44th American Society of Hematology Meeting. 2002. Philadelphia (PN): Blood.
20. Brunstein, C.G. et al. Umbilical cord blood transplantation for myeloid malignancies. *Curr Opin Hematol*, 2007. 14(2): 162-9.
21. Brunstein, C.G. et al. Expanding the role of umbilical cord blood transplantation. *Br J Haematol*, 2007. 137(1): 20-35.
22. Grewal, S.S. et al., Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood*, 2003. 101(11): 4233-44.
23. Barker, J.N., et al., Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood*, 2005. 105(3): 1343-7.
24. MacMillan, M.L. et al. Acute graft-versus-host disease after unrelated donor umbilical cord blood transplantation: analysis of risk factors. *Blood* 2008, prepublished on line november 7, 2008.
25. Verneris, M.R. et al. Risk of Relapse (REL) after Umbilical Cord Blood Transplantation (UCBT) in Patients with Acute Leukemia: Marked Reduction in Recipients of Two Units. . in 47th American Society of Hematology Meeting. 2005. Atlanta: Blood.
26. Brunstein, C.G. et al. Umbilical cord blood transplantation after non myeloablative conditioning : impact on transplantation outcomes in 110 adults with hematologic disease. *Blood*, 2007. 110(8): p. 3064-70.
27. O'Brien PC. and Fleming TR. A multiple testing procedure for clinical trials. *Biometrics* 1979. 35:549-56
28. Siani, C. et al. The handling of uncertainty in economic evaluations of health care strategies. *Rev Epidemiol Sante Publique*, 2003. 51(2): 255-76.
29. Efron B. Forcing a sequential experiment to be balanced. *Biometrika*, 1971. 58: 403-17.

**9 ANNEXE 1 : SYNTHÈSE DES DONNÉES RECUEILLIES AUX
DIFFÉRENTS TEMPS D'ÉVALUATION**

Type de données recueillies	Temps d'évaluation					
	Inclusion	J0 de la greffe	J100 postgreffe	M6 postgreffe	M12 postgreffe	Suivi annuel
Critères inclusion / non inclusion	X					
Résultat randomisation	X					
Données initiales - Patient - Maladie		X				
Caractéristiques du/des greffon(s)		X				
Préparation à la greffe		X				
Prévention GvH		X				
Survenue échec de greffe			X	X	X	X
Données rechute			X	X	X	X
Données survie		X	X	X	X	X
Données complications postgreffe		X	X	X	X	X
Reconstitution hématologique			X	X	X	X
Chimérisme			Données J15, J30, J60, J90	X	X	
Reconstitution immunitaire			Données J30, J90	X	Données M9, M12	
Evaluation médico-économique		X	X	X	X	

10 ANNEXE 2 : RECOMMANDATIONS SUR LES SOINS DE SUPPORT :

Les soins de support seront conformes aux pratiques de chaque centre investigateur ou aux recommandations détaillées ci-dessous. Néanmoins, tous les patients inclus dans la présente étude devront recevoir du G-CSF à la dose de 5µg/kg/j à partir de J+5. Le G-CSF sera poursuivi jusqu'à l'obtention d'un chiffre de PNN supérieur à 1000/mm³ sur deux NFS consécutives.

10.1 ANTIBIOPROPHYLAXIE :

- Association sulfaméthoxazole – triméthoprim : 25mg/kg x 1/j les lundis, mercredis et vendredis à compter de la sortie d'aplasie ; 25mg/kg/j x 7j/7 chez les patients présentant une sérologie positive pour *Toxoplasma gondii* en prégreffe.

L'utilisation d'aérosols de Pentamidine en remplacement du Bactrim® durant la période d'aplasie (PNN < 1000/mm³) post-greffe est laissée au choix du centre. Cette prophylaxie sera poursuivie jusqu'à J+180 après l'allogreffe ou plus longtemps si immunosuppression et/ou GvHD en cours.

- Oraciline® : 50000UI/kg/j en deux prises, sans dépasser 2 millions d'UI par jour à partir de l'arrêt des antibiotiques par voie parentérale , jusqu'à 2 ans post-greffe.

10.2 PROPHYLAXIE ANTI-VIRALE :

- Aciclovir : 250mg/m² x 3/j chez les patients présentant une sérologie positive pour *Herpes simplex 1 ou 2* avant greffe
- Aciclovir : 500 mg/m² x 3/j pour les patients présentant une sérologie CMV positive avant greffe.

10.3 IMMUNOGLOBULINES INTRA VEINEUSES :

200mg/kg hebdomadaire jusqu'à arrêt de l'immunosuppression puis sur un rythme adapté au taux résiduel d'IgG chez le patient considéré, de façon à maintenir ce taux > 7g/l chez les patients d'âge pédiatrique et > 5g/l chez les patients adultes

10.4 MONITORAGE DES REACTIVATIONS VIRALES ET THERAPEUTIQUES ANTI-VIRALES

CMV :

- Surveillance bi-hebdomadaire par PCR ou Antigénémie pp65 jusqu'à l'arrêt de l'immunosuppression chez les patients présentant une sérologie positive pour *Cytomégalovirus* en prégreffe.
- Si réactivation virale : Foscarnet (Foscavir®) : 60 mg/kg/ x 3/jour durant 14 jours consécutifs et si négativation de la PCR ou de l'antigénémie dose d'entretien de 90 mg/kg 1x/jour pour 14 jours.

Le recours au ganciclovir (Cymévan®) hématotoxique n'est pas recommandée en première intention dans la période post-greffe immédiate et avant la confirmation de la prise du greffon. Il est utilisée en cas d'infection à CMV confirmée à 5mg/kg x 2/j par voie intra-veineuse durant 14 jours consécutifs minimum puis, si négativation de la PCR ou de l'antigénémie, 5mg/kg x 1/j en dose d'entretien ou sous forme orale Valganciclovir (Rovalcyte®) *per os* 450mg x 2/j.

Adénovirus :

- Surveillance hebdomadaire par PCR à compter de J+7 et jusqu'à arrêt de l'immunosuppression.
- Si réactivation virale : cidofovir (Vistide®) 5mg/kg x 1/semaine ou 1mg/kg/j x 3/semaine par voie intra-veineuse jusqu'à négativation de la PCR puis traitement d'entretien à discuter (même schéma une semaine sur deux, deux fois).

10.5 PROPHYLAXIE ANTIFONGIQUE :

Une prophylaxie antifongique est recommandée pour toutes greffes placentaires, elle est laissée au choix du centre.

ANNEXE 3 : GRILLE EVENEMENT INDESIRABLE GRAVE/NON GRAVE, ATTENDU/ INATTENDU

ETUDE PROSPECTIVE RANDOMISEE MULTICENTRIQUE COMPARENT LES RESULTATS DE LA GREFFE D'UN VERSUS DEUX UNITES DE SANG PLACENTAIRE CHEZ DES PATIENTS AGES DE MOINS DE 35 ANS ATTEINTS DE LEUCEMIE AIGUE EN REMISSION.			
1- NE PAS NOTIFIER PAR FAX au promoteur (pas de remplissage du formulaire de déclaration d'EIG) <u>mais à reporter sur les pages évènements indésirables du CRF</u>		A NOTIFIER SANS DELAI par l'investigateur au promoteur (envoi du formulaire de déclaration d'EIG par fax) et à reporter sur les pages évènements indésirables du CRF	
Effets indésirables non graves attendus Connus pour être liés : au(x) médicament(s) expérimental(aux) ou aux procédures de la recherche	Evénements autres	Effets indésirables graves attendus Connus pour être liés : Au(x) médicament (s) expérimental(aux) ou aux procédures de la recherche.	Effets indésirables graves inattendus
	Hospitalisation pour bilan programmé de la maladie 1- <u>EVENEMENTS POUVANT ETRE GRAVES mais non liés aux médicament(s) expérimental(aux) ou aux procédures de la recherche :</u> 2 – <u>EFFETS INDESIRABLES EVENTUELLEMENT GRAVES MAIS BIEN CONNUS, TRES FREQUENTS ET BIEN MAITRISES DONT LA DECLARATION N'APPORTAIT RIEN A LA SECURITE DES PATIENTS</u> - GVH de grade 2 - Infection bactérienne, parasitaire virale ou fongique de grade 1 et 2	<ul style="list-style-type: none"> - GVH de grade 3 et 4 - Non prise/rejet de la greffe - Transfert en réanimation - Décès - Infection bactérienne, parasitaire, virale ou fongique de grade supérieur à 3 - Troubles neurologiques sévères : <ul style="list-style-type: none"> . troubles visuels sévères . coma . convulsions . encéphalopathie au cours du premier mois de greffe. 	Cette colonne se remplira au fur et à mesure des notifications par les investigateurs. Notifier tous les événements présentant l'un des critères de gravité* noté ci-dessous, à l'exception de ceux identifiés dans les autres colonnes. *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) 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.

