

ANNÉE 2014

N° 058

THÈSE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Guillaume LE NY

Présentée et soutenue publiquement le 8 décembre 2014

***Utilisation des immunoglobulines dans la greffe
rénale chez les patients immunisés***

Président : Pr Stéphane BIRKLE, Professeur d'Immunologie fondamentale et Clinique, Biotechnologies et Biothérapies,

Membres du jury : Pr Jean-Michel ROBERT, Professeur de Chimie Organique et Chimie Thérapeutique
Pr Jacques DANTAL, Service de Néphrologie et Immunologie clinique
Dr Jean-Charles CRAVE, Directeur Médicale, Octapharma France
Dr Samir SAHEB, Responsable aphérèse thérapeutique

L'évolution de la pratique médicale suit le cours des grandes pensées du moment. La vérité du jour n'est souvent pas celle du lendemain. Un point marquant est l'ignorance que nous avons encore dans un grand nombre de domaine. Nous utilisons de nombreuses molécules dont nous connaissons l'efficacité thérapeutique mais dont nous ne maîtrisons complètement ni le mécanisme d'action ni les conséquences sur l'organisme.

Le domaine de l'immunité en est un bel exemple.

Remerciements

A Monsieur le Professeur Stéphane BIRKLE

Merci d'avoir accepté de présider ma thèse. Merci pour vos ED d'Immunologie enseignés lors de mon cursus universitaire. Veuillez croire en ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Jean-Michel ROBERT

Merci d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse. Merci pour votre engagement dans la filière industrie et les enseignements que vous y dispensez et qui m'ont fortement motivé dans mon choix d'orientation. Veuillez trouver ici le témoignage de ma plus vive reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Jean-Charles CRAVE

Merci du temps accordé pour cette thèse et de m'avoir entraîné sur ce sujet passionnant. Merci de m'avoir recruté dans cette BUI, de ton entrain et de ta motivation ainsi que de ton soutien et de ta confiance.

A Monsieur le Professeur Jacques DANTAL

Merci de me faire l'honneur de participer à ma thèse. Veuillez trouver ici l'expression de mes plus vifs sentiments.

A Monsieur le Docteur Samir SAHEB

Merci de me faire l'honneur de participer à ma thèse. Merci aussi pour tes conseils avisés et nos échanges sur le sujet. Je n'oublie pas notre second sujet à venir : l'informatique.

A ma famille,

Bravo et merci à mes parents de m'avoir aidé, supporté, financé pendant cette « courte » période d'étude. Merci à ma mère pour tous ses gestes d'attentions et ses bons plats

fournis tout au long de mes études, à mon père pour son soutien et son enseignement. Merci à ma sœur et à mon frère pour nos disputes et nos échanges.

A Emmanuelle, ma femme,

Merci pour ta fraîcheur, ta bonne humeur, ton amour et ton soutien dans la vie de tous les jours. Merci de m'avoir supporté pendant cette thèse.

A ma belle-famille,

Merci de m'avoir accepté au sein de votre famille. Merci Isabelle pour vos conseils déco, et merci à Jean-Pierre de m'aider à améliorer mes connaissances œnologiques.

A mes amis,

Merci à tous pour ces années d'études passées à vos côtés, avec tout ce qui va avec : BU, Salle des assemblées, cours mais surtout Vestiaire et COTEP. A Romain, pour « ta ponctualité », ton caractère bien trempé, ta générosité et ton appart-hôtel sur Paris. A Fred, pour ta confiance, ta comptabilité sans faille et ton soutien. A Chri, pour ta bonne humeur, ton entrain, et nos deux années de colocations qui furent un vrai plaisir. Sans oublier Olive, Momo, Claire, Dodo, Pacam, Hugo pour toutes nos soirées et vacances passées ensemble.

A Octapharma,

Merci à Marie-Christine BORRELLY de m'avoir accueilli au sein de l'entreprise et de croire en mes projets.

Merci à Patrick SELOSSE et à Frédéric CAMBECEDDES de m'avoir accompagné dans la réalisation de mes projets sur le fractionnement.

Et surtout, merci à Jean-Christophe pour ton amitié et ton implication dans nos projets. Je suis ravi de t'avoir accueilli dans mon bureau. ☺

Merci à Céline, pour les impressions de dernières minutes !

Table des matières

ABREVIATIONS	6
TABLE DES FIGURES	7
TABLE DES TABLEAUX.....	8
INTRODUCTION.....	9
I. LES IMMUNOGLOBULINES.....	11
A. INTRODUCTION	12
B. BREVE HISTOIRE DE LA TRANSFUSION ET DU FRACTIONNEMENT	13
C. EXTRACTION DES IMMUNOGLOBULINES	16
1. SELECTION DES CENTRES DE COLLECTE	18
2. SELECTION DES DONNEURS ET DU DON	20
3. PREPARATION DU DON DE SANG TOTAL.....	24
4. FRACTIONNEMENT : OBTENTION DES IMMUNOGLOBULINES	26
D. LES IMMUNOGLOBULINES.....	34
1. STRUCTURE.....	34
2. PHYSIOLOGIE.....	35
3. IMMUNOGLOBULINES THERAPEUTIQUES.....	39
II. LA TRANSPLANTATION RENALE	44
A. INTRODUCTION ET ENJEUX	45
B. INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE	47
1. EPIDEMIOLOGIE.....	47
3. DIAGNOSTIC.....	48
C. TRANSPLANTATION RENALE	49
1. EPIDEMIOLOGIE.....	49
2. SELECTION DES DONNEURS.....	50
3. SELECTION DES RECEVEURS.....	53
4. DETECTION/MONITORING/CROSS MATCH DES ANTICORPS ANTI-HLA	55
D. ACTEURS DE L'IMMUNITE	57
1. HLA	57
2. LES LYMPHOCYTES	59
E. MECANISMES DE REJETS	61
1. LES DIFFERENTS TYPES DE REJETS.....	62
2. MECANISME DE RECONNAISSANCE ALLOGENIQUE	64
3. LES REJETS CELLULAIRES.....	66
4. LES REJETS HUMORAUX	70
5. LES IMMUNOGLOBULINES	71
III. GAM-FR02	73
A. CONTEXTE.....	74
B. METHODE	76
1. DESIGN DE L'ETUDE	77
2. CRITERES D'INCLUSION/EXCLUSION.....	77
4. EVALUATION DE L'EFFICACITE ET LA TOLERANCE:.....	79
5. METHODES STATISTIQUES	80
C. RESULTATS.....	80
1. POPULATION PATIENTS	80
2. LES EVENEMENTS INDESIRABLES	84
D. DISCUSSION.....	85
CONCLUSION	88
BIBLIOGRAPHIE.....	90
ANNEXES.....	99
ABSTRACT	99
POSTER.....	100

ABREVIATIONS

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CD : Cellules Dendritiques
DDAC : Donneurs Décédés par Arrêt Cardiaque
DSA : Donor Specific Antibodies
EFS : Etablissement Français du Sang
EEG : Electro Encéphalogramme
HLA : Human Leucocyt Antibodies
LFB : Laboratoire Français de Biotechnologie
MDS : Médicaments Dérivés du Sang
MJC : Maladie de Creutzfeldt-Jakob
PSL : Produits Sanguins Labiles
PEG : Polyéthylène Glycol
QAA : Quality Assesment Agreement
SME: Sujet Mort Encéphalique
NAT : Nucleic Acid Test
VHA: Virus de l'Hépatite A
VHB : Virus de l'Hépatite B
VHC : Virus de l'Héptaite C
VIH : Virus de l'Immunodéficiencce Humaine

TABLE DES FIGURES

Figure 1. Schéma du donneur au produit fini	17
Figure 2. Profil et âge des donneurs de sang dans le monde	22
Figure 3. Dispositif de prélèvement de sang total avec filtre à déleucocyter	24
Figure 4. Fractionnement: Processus général	32
Figure 5. Représentation graphique 3D d'une immunoglobuline type G	34
Figure 6. Lymphopoïèse	35
Figure 7. Profil normal en électrophorèse capillaire	39
Figure 8. Evolution de la greffe rénale selon le type de donneur	50
Figure 9. Evolution du nombre de donneurs en état de mort encéphalique recensés et prélevés ..	51
Figure 10. Taux d'organes transplantés à des patients immunisés à partir de donneurs décédés ..	54
Figure 11. Taux de greffes effectuées à partir de donneurs vivants	54
Figure 12. Technique LCT	55
Figure 13. Technique par cytométrie en flux	56
Figure 14. Gène HLA	57
Figure 15. Structures schématiques des molécules HLA de classe I et de classe II	58
Figure 16. Adaptation de la réponse immunitaire	59
Figure 17. Structure du récepteur TCR	60
Figure 18. Synapse immunologique	60
Figure 19. Relation entre réponse immune innée et adaptative en transplantation d'organe	62
Figure 20. Rejet hyperaigu	63
Figure 21. Rejet aigu	63
Figure 22. Dysfonction chronique	64
Figure 23. Principe de la reconnaissance directe	65
Figure 24. Principe de la reconnaissance indirecte	65
Figure 25. Représentation des différentes étapes de l'activation lymphocytaire T	66
Figure 26. Schéma d'activation du complément	70
Figure 27. Patients Flow Diagram	82
Figure 28. Incidence of the acute renal graft	82
Figure 29. Time to first Acute Graft Rejection (confirmed by biopsy) – ITT Analysis	83

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1. Période de stockage pour les informations des plasmas envoyés à Octapharma	19
Tableau 2. Montants moyens de prise en charge du malade selon la modalité de traitement.....	46
Tableau 3. Coûts totaux tous régimes (2007)	46
Tableau 4. Etiologies les plus rencontrées dans l'insuffisance rénale	47
Tableau 5. Classification en stades de la maladie rénale chronique selon les recommandations 2002 de l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES) et de la National Kidney Foundation (K/DOQI).....	48
Tableau 6. Evolution du nombre de greffés rénaux au cours du temps	49
Tableau 7. Définition des donneurs contrôlés et non contrôlés.....	52
Tableau 8. Evolution du prélèvement et de la greffe à partir de DDAC	53
Tableau 9. Traitements d'induction et d'entretien utilisés en prévention du rejet aigu	69
Tableau 10. Traitements utilisés dans le rejet humoral	71
Tableau 11. Traitements immunosuppresseurs utilisés lors de l'étude GAM FR-02	78
Tableau 12. Caractéristiques de la population greffée	81
Tableau 13. Moyenne d'âge des donneurs décédés.....	81

INTRODUCTION

Notre siècle est le théâtre de bouleversements majeurs concernant le domaine de la santé. L'évolution des nouvelles technologies, la meilleure compréhension de notre corps humain et les découvertes primordiales telles que certains mécanismes d'actions de l'immunité ont permis aux Hommes de se rapprocher d'un doux et vieux rêve : la vie éternelle. A travers les derniers siècles notre espérance de vie s'est allongée, pour atteindre actuellement dans la majorité des pays industrialisés, 78 ans pour les hommes et 85 ans pour les femmes (OMS). Cependant, notre organisme n'a pas été conçu pour fonctionner de manière indéfinie. De fait, cette machinerie si parfaite, fonctionnant seule la plupart du temps, nous abandonne parfois sans crier gare en raison de l'obsolescence programmée liée à notre code génétique ou d'un entretien négligent de la machinerie : habitudes alimentaires, surconsommation de médicaments, mode de vie, tabac... Toutes ces modifications comportementales accompagnées de l'allongement de notre espérance de vie favorise la survenue de nouvelles pathologies, ayant encore une incidence très faible au début du siècle dernier. Le diabète et l'obésité en sont des exemples frappants : la prévalence de ces troubles, encore faible au début du siècle dernier, est dorénavant devenue une préoccupation nationale dans beaucoup de pays industrialisés.

Les conséquences directes de ces pathologies peuvent être la dégénérescence de nos organes tels que le rein, le foie, le cœur, le poumon... Ceux-ci peuvent dorénavant être remplacés, comme des pièces détachées, grâce aux avancées de la science. La transplantation, acte chirurgical complexe, est un acte pratiqué depuis longtemps mais avec des succès variés. Tous les mécanismes immunitaires de l'organisme, ou biologiques n'étaient et n'étant toujours pas complètement connus et/ou maîtrisés. La deuxième partie du XXème siècle a permis de révolutionner le quotidien de certains patients en leur faisant gagner de précieuses années de vie et d'améliorer fortement leur qualité de vie par les nouvelles connaissances acquises dans le domaine médical. Cet allongement de la vie et le nombre de patients augmentant a naturellement entraîné une demande en greffons plus importante. Afin d'éviter d'endommager les organes prélevés par le phénomène d'ischémie/reperfusion ou par des actes chirurgicaux, il est nécessaire d'intervenir rapidement sur le donneur quand celui-ci est un donneur décédé. Des protocoles complexes encadrent le prélèvement par les différentes équipes de professionnels de santé impliqués. Cependant, la transplantation du greffon dans le corps du receveur n'est pas la dernière étape car il faut par la suite s'assurer que le greffon reste

fonctionnel durant les années à venir, et que celui-ci ne soit pas rejeté : le choix du receveur est primordial pour la bonne survie du greffon. De plus, l'accès à la greffe n'est pas identique pour tous les receveurs certains ayant des profils dits « immunisés » ou « hyperimmunisés », profils rallongeant le temps d'accès à un greffon en comparaison avec un patient naïf (recevant une première greffe). Bien que les protocoles de greffe soient respectés et maîtrisés par le personnel soignant, la survie du greffon et du patient dépendent de nombreux paramètres biologiques et mécanismes immunitaires parfois encore inconnus ou mal maîtrisés. Les immunoglobulines par leur rôle immunomodulateur et anti-inflammatoire peuvent être utilisées dans les protocoles de greffes soit en amont de la greffe pour désensibiliser les patients possédant des anticorps anti-HLA, patients appelés « immunisés » ou bien dans la prévention du rejet de la greffe.

Nous allons au cours de cette thèse aborder les éléments clés concernant les immunoglobulines : leur structure, leur rôle au sein de notre organisme ainsi que les procédés de fabrication permettant leur obtention. Nous développerons dans un deuxième chapitre l'épidémiologie de la greffe rénale, les mécanismes d'actions impliqués dans le rejet de greffe et les traitements existants. Pour finir et répondre à la question qui nous intéresse, nous développerons un troisième chapitre autour d'une étude conduite par Octapharma afin d'évaluer l'efficacité et la place des immunoglobulines dans la greffe rénale. Les résultats de cette étude seront discutés et confrontés avec ceux de la littérature.

I. LES IMMUNOGLOBULINES



A. INTRODUCTION

Chaque jour, notre corps est le siège d'un affrontement entre les différents acteurs de l'immunité et les agresseurs extérieurs de notre environnement que sont les parasites, virus, bactéries... Afin de lutter contre ces agressions à répétition notre corps a développé un système de défense sur plusieurs niveaux : une première barrière physique composée de la peau et des muqueuses, et une seconde barrière immunologique constituée de l'immunité innée et de l'immunité adaptative.

Les mécanismes de défenses de notre organisme se composent d'une immunité naturelle, responsable de la protection initiale contre les infections, présente dès la naissance et qui aura pour effecteurs des molécules reconnaissant toujours les mêmes motifs. Cette immunité innée réagira toujours de la même manière, avec les mêmes processus, les mêmes cellules et la même intensité. Elle est incapable de s'adapter face à un changement. Pour faire face aux modifications de notre environnement, nous avons l'immunité adaptative responsable d'un mécanisme de défense plus tardif mais plus élaboré. Un grand nombre de tissus, de cellules ainsi que des molécules concourent à défendre l'organisme face aux infections et aux maladies... Chaque processus intervient avec ses acteurs spécifiques et dans un délai bien précis.

Au sein de ce chapitre, nous allons aborder les immunoglobulines sous différents angles et l'objectif sera donc de répondre aux questions suivantes : Quelle est l'origine d'une immunoglobuline ? Quelle est sa structure ? Comment est-elle produite ? Comment agit-elle ? Comment peut-on l'extraire du sang, la purifier et la transformer en « médicament » en milieu industriel ? Enfin comment utilise-t-on ce « médicament dérivé du sang (MDS) » et pour quel objectif ?

B. BREVE HISTOIRE DE LA TRANSFUSION ET DU FRACTIONNEMENT

L'histoire « moderne » de la transfusion sanguine débute avec les travaux de James Bundell au cours du 19^{ème} siècle¹. La transfusion restera jusqu'à la fin de ce siècle une science dangereuse et imprévisible. Cependant, la découverte clé, en 1901, par Karl Landsteiner, des groupes A, B, O permet d'avancer². Pour l'anecdote, le groupe AB fut découvert un an plus tard par Decastello and Sturli³. Il reste alors malgré tout un obstacle majeur, principalement lié à la conservation du sang car celui-ci coagule dès lors qu'il est extrait de l'organisme et que l'on tente de le stocker. Différents systèmes, tels que l'addition de citrate (utilisé comme anticoagulant) ou des solutions d'ACD (Acid-Citrate-Dextrose), seront développés au cours du dernier siècle. Mais, en Mars 1918, Gordon R. Ward fait remarquer dans une lettre au « British Medical Journal » un fait important qui lance l'histoire du plasma : « Un homme mourant apparemment d'une hémorragie, ne mourrait pas d'un manque d'hémoglobine mais de la perte de fluide, ce qui entraînait une dévitalisation et une hypotension. ⁴» En 1914, le mot plasmaphérèse est inventé pour décrire le processus où le sang est prélevé sur le donneur et les composants cellulaires réinjectés chez celui-ci. La première procédure officielle de plasmaphérèse fonctionnelle est décrite en 1944 par Tui, puis est poursuivie par Grifols⁵.

Au début des années 40, Cohn et son équipe à la Harvard Medical School ont étudié la possibilité de séparer les protéines du plasma humain pour la préparation des fractions plasmatiques concentrées et stables. Ils ont été les pères de la biotechnologie au même titre que les virologues qui ont développé la production industrielle des premiers vaccins. L'idée innovante de l'équipe de Cohn fut d'exploiter une particularité physique des protéines du plasma humain, à savoir une charge électrique différente mais constante pour chaque protéine⁶. Cette particularité physique avait été mise en évidence dès le début du 20^{ème} siècle par Arne Tiselius et avait conduit à une technique analytique révolutionnaire, à savoir l'électrophorèse, qui est une technique basée sur la mobilité des

¹ H. JONES et al. (1928). The influence of James Blundell on the development of blood transfusion. *Ann Hist Med*, **101**, 242-248

² K. LANDSTEINER. (1901). Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen blutes. 1901. *Wien Klin Wochenschr*, **14**: 1132-1134.

³ A. DECASTELLO et al. (1902). Unter die isoagglutinine im serum gesunder und karnker menschen. *Munch Med Wochenschr*, **49**: 1090-1095.

⁴ GR. WARD. Transfusion of plasma. (1918). *BMJ*, **301**, March 9, 1918 (Correspondence)

⁵ C. TUI et al. (1944). Red cell reinfusion and frequency of plasma donations. *JAMA*, **124**: 331-336.

⁶ E.J. COHN et al. (1944). *Proteins, amino acids and peptides*. Reinhold Publishing Corp New York, USA, *J Clin Invest*, **23**: 417-432

protéines sous l'influence d'un champ électrique continu à pH constant. L'équipe de Boston a utilisé cette particularité physique pour immobiliser les protéines du plasma en faisant varier le pH permettant alors de déterminer le pH isoélectrique des protéines, ou tout au moins, des familles de protéines. Toutefois, la seule modification du pH ne suffisait pas à isoler les différentes protéines car la réaction était lente et fortement perturbée par la présence d'ions contenus dans les sels présents dans le plasma. Pour réduire la force ionique nécessaire à une meilleure précipitation, il était nécessaire de casser les liaisons dites amphotères. Cela a été rendu possible par l'ajout de solvants. Plusieurs solvants ont été étudiés et l'alcool éthylique a été retenu comme le meilleur compromis. L'éther étant plus sélectif mais aussi plus dangereux pour une application industrielle. Malgré cela, les résultats n'étaient pas satisfaisants car la précipitation n'était pas complète, et certaines protéines étaient dénaturées. De plus la réaction était exothermique. L'équipe a donc eu l'idée d'abaisser la température au fur et à mesure de l'augmentation de la concentration alcoolique : le fractionnement du plasma dit « technique de COHN méthode 6 » était né. L'albumine a été la première protéine produite à partir de cette technique.

Le seul défaut, et non des moindres, de cette technique est la dénaturation des facteurs de coagulation, hormis le fibrinogène (fraction I). Il a fallu plus de 20 ans aux chercheurs pour découvrir, et cela de manière fortuite, la cryoprécipitation. Cette technique a alors permis d'isoler le facteur VIII (fraction anti-hémophilique).

D'autres voies ont été explorées afin de séparer les protéines du plasma et cela dès les années 50. La plus intéressante a été, sans conteste, la chromatographie. Le défaut de la technique de chromatographie réside dans le fait que les protéines fixées sur les gels anioniques ou cationiques doivent être éluées par des solutions à forte concentration saline. Cette concentration est incompatible avec la physiologie du sang humain conduisant à une hémolyse. C'est pour cela que les techniques de chromatographie ont été utilisées pendant des décennies uniquement en analytique. C'est dans les années 70 qu'est apparue la technique de dessalage par dialyse qui a ouvert le fractionnement à la chromatographie dite « préparative » utilisée dans le fractionnement.

Le développement industriel du fractionnement a commencé dans les années 50 aux Etats-Unis (ARMOUR) et en Europe (Institut Mérieux, Croix rouge Suisse). La Croix Rouge Suisse ayant développé une technique dérivée de la technique de COHN, la technique NK (Kistler Nischmann), qui s'est largement répandue en Europe et qui évite de séparer la fraction IV en 2 étapes (IV -1 et IV-4). La séparation des fractions se faisait

alors par centrifugation et la purification (élimination des fractions colloïdales) et l'élimination des bactéries (stérilisation) par des filtres à base de fibres d'amiantes et de celite (roche sédimentaire siliceuse).

Après l'albumine, les immunoglobulines furent le deuxième dérivé plasmatique à être extrait. Son utilisation sous forme intraveineuse a été longue à mettre en place car la technique à l'alcool dénaturait partiellement les sites actifs des fragments cristallisables (Fc) des IgG, et son point isoélectrique, très proche de la physiologie du plasma, conduit à son instabilité à pH7. Il a fallu attendre les années 70 pour voir apparaître une première génération d'IgG IV grâce à la mise en place de la technique dite de digestion pepsique en milieu acide afin de réduire les formes polymérisées induisant les réactions avec le complément (Activité du complément). Mais ces préparations d'immunoglobulines devaient être lyophilisées pour assurer leur stabilité. L'étape de lyophilisation entraînant la formation d'agrégats, la perfusion d'IgG IV restait très problématique avec des réactions secondaires. Le virage technologique s'est produit ensuite avec l'utilisation des techniques séparatives modernes comme la filtration sur membranes en acétate de cellulose augurant d'une révolution technologique qui a permis de développer les techniques séparatives qui font encore, à ce jour, figure de référence dans les domaines du fractionnement du plasma mais aussi des biotechnologies.

Cette nouvelle technologie inventée par Sartorius a trouvé des applications dans le domaine médical et pharmaceutique. A ses débuts, elle a été utilisée pour filtrer les carburants et comburants des missiles et des fusées pour éliminer les particules fatales au bon fonctionnement de ces engins. Les brevets de cette technologie sont restés plus de 30 ans propriété de l'armée des Etats-Unis jusqu'au projet Apollo. Ces membranes en acétate de cellulose se sont substituées à l'amiante au début des années 70 et ont ouvert la voie aux techniques d'ultrafiltration, d'osmose et plus tard, de viro-filtration telles que nous les connaissons aujourd'hui. Le concept des techniques mixtes (alcool et chromatographie) mises en place dans les années 80 par quelques pionniers, reste à ce jour le modèle privilégié pour l'extraction et la purification des protéines humaines à usage thérapeutique. Sans aucun doute ces techniques évolueront, d'autres seront développées afin de permettre d'extraire et de purifier d'autres protéines.

C. EXTRACTION DES IMMUNOGLOBULINES

La première étape du processus d'obtention des immunoglobulines est la collecte du sang, matière première biologique, limitée en quantité, qui fluctue en fonction du nombre de donneurs. Le besoin en matière première croît chaque année dans le monde suivant l'augmentation de la consommation des MDS par les pays industrialisés et émergents⁷. La collecte est une étape primordiale car elle touche au domaine de l'humain, de l'éthique, sujet particulièrement sensible en France, depuis la crise des années 80 autour du sang contaminé. Afin de protéger les acteurs qui sont les donneurs et les receveurs, de nombreuses lois ont été votées afin d'encadrer la collecte et l'exploitation des Produits Sanguins Labiles (PSL) et Médicaments Dérivés du Sang (MDS) obtenus après le fractionnement. En France, une des décisions clés a été de séparer les activités de collecte et de production en deux entités distinctes, qui sont l'EFS et le Laboratoire Français de Biotechnologie (LFB)⁸. Quant au processus de fractionnement, il a été renforcé par des étapes de sécurité virale et un processus de traçabilité augmenté par l'amélioration de nouvelles technologies de dépistage, l'apparition de nouveaux brevets technologiques dans le fractionnement ainsi que des conditions de distribution améliorées. Nous allons au cours de ce chapitre retracer la fabrication d'une immunoglobuline et détailler son parcours lors du processus de fractionnement. Nous décrirons le parcours de la poche de sang prélevée sur le donneur au niveau du centre de collecte, pour arriver à la poche de plasma. Dans un second temps, les étapes de production du plasma au sein de l'usine de fractionnement seront détaillées avec un zoom sur certaines étapes clés de purification/élimination virale de la fabrication des immunoglobulines. Nous aborderons ainsi ensemble les grands enjeux du fractionnement : Sécurité virale, traçabilité, processus de fabrication. Nous traiterons aussi au cours de cette première partie des questions suivantes : Comment sont sélectionnés les donneurs ? Comment est assurée la sécurité virale au cours du processus de fractionnement et de collecte ? Quels en sont les étapes et moyens ? Quelles sont les Indications privilégiées d'une immunoglobuline ?

⁷ Intravenous immunoglobulin (IVIG)- a global strategic business report 08/12. P2/3.

⁸ Loi du 4 Janvier 1993

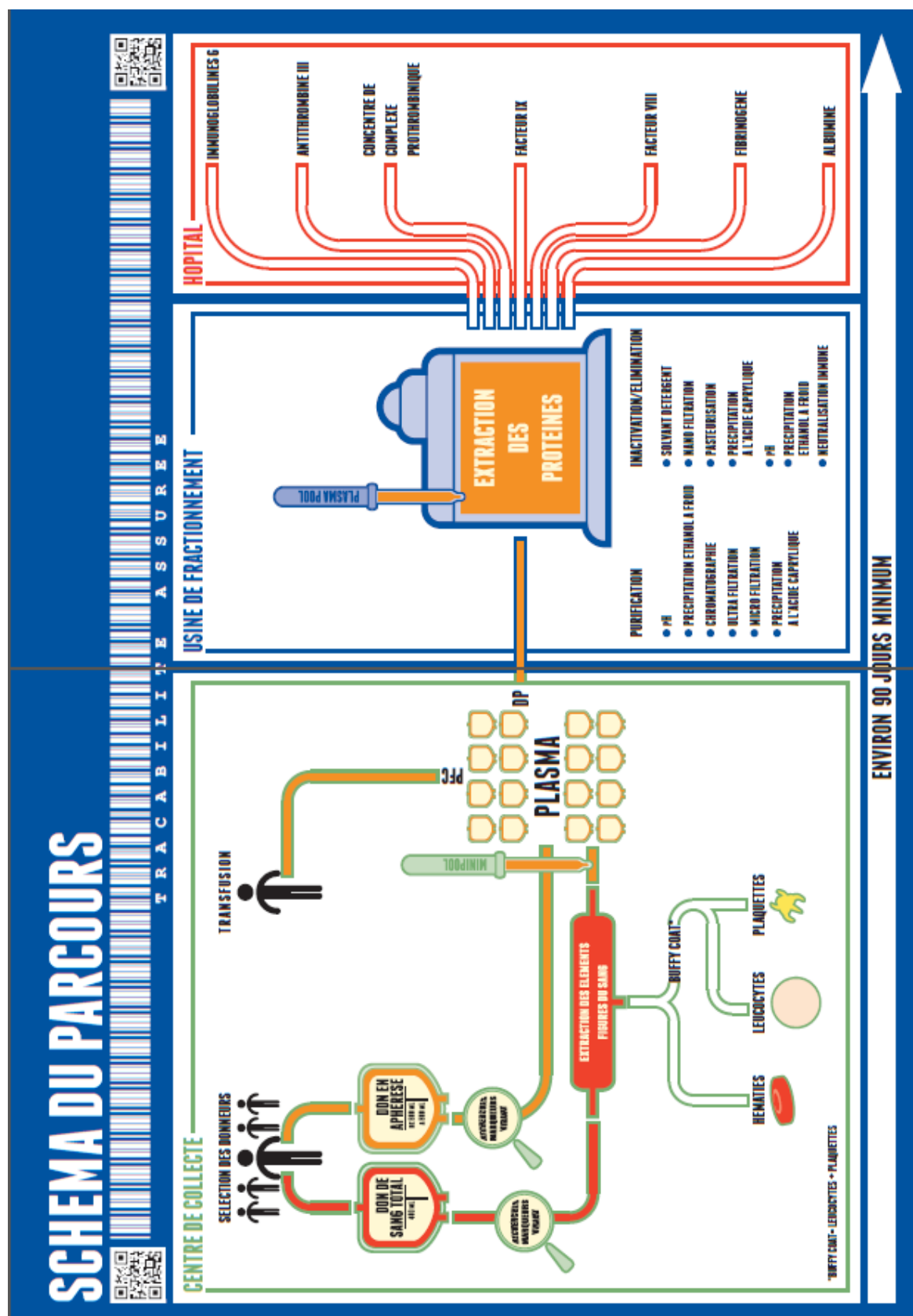


Figure 1. Schéma du donneur au produit fini

1. SELECTION DES CENTRES DE COLLECTE

a. Systèmes transfusionnels existants

Le fonctionnement des centres de collecte n'est pas identique selon les pays. Les systèmes économiques et les politiques de santé en place étant différents, le système transfusionnel en place peut varier fortement d'un pays à l'autre. Il existe au moins 5 types de modèles présentés ci-dessous:

- Pays dont le système transfusionnel est placé strictement et directement sous la responsabilité d'établissements publics de santé avec une organisation plus ou moins centralisée : France, Royaume Uni...
- Pays qui délègue en totalité aux services du sang de la Croix Rouge nationale : Luxembourg, Japon, Nouvelle Zélande...
- Pays dont le système transfusionnel est entièrement pris en charge par des hôpitaux : Suède, Danemark
- Pays dont le système transfusionnel est géré en totalité par des organisations à but non lucratif : Pays Bas, Canada
- Pays dont le système transfusionnel est mixte, c'est à dire ayant un système mixte lucratif et non lucratif : Allemagne, USA...⁹.

De plus, les pratiques de collecte peuvent être différentes d'un pays à l'autre: certains systèmes privilégient le prélèvement de sang total, à l'inverse, d'autres systèmes transfusionnels orientent le prélèvement sur la technique de plasmaphérèse. Les coûts économiques et l'accès à la matière première selon la méthode diffèrent¹⁰. Chaque méthode a ses avantages et inconvénients concernant la fréquence des prélèvements, la quantité collectée et les éléments prélevés. Pour un don de plasmaphérèse le donneur peut venir toutes les deux semaines et faire un don de 850 mL, en comptant l'anticoagulant, alors que pour le sang total, celui-ci est limité à 4 fois par an et pour un volume ne dépassant pas 500mL¹¹.

b. Normes

Les centres pratiquant la collecte doivent répondre à des normes européennes encadrant le prélèvement. Les centres doivent être certifiés par les autorités de santé nationales et

⁹ A. BEAUPLET et al. (2013) Médecine transfusionnelle. Le modèle français. John Libbey eurotext, Paris.

¹⁰ L'Europe de la Transfusion 2012.p4 et 6

¹¹ Arrêté du 12/01/2009 (JO du 18/01/09) Critères de sélection des donneurs de sang

doivent se conformer à toutes les exigences définies dans le QAA (Quality Agreement Assessment) ainsi qu'à l'ensemble des articles concernés par la version actuelle du « Guide pour la préparation, l'utilisation et l'assurance qualité des produits sanguins » rédigé par le Conseil de Europe, et respecter la monographie de la Pharmacopée Européenne « Plasma humain pour fractionnement ». Ces centres se doivent de sélectionner les donneurs, collecter le sang ou le plasma, tester et stocker la matière première comme définie selon les Spécifications Européenne et nationale^{12 13}.

c. Aspect réglementaire

Document	Période de stockage	Remarque
Dossier du donneur avec son historique de don	30 ans	En accord avec les autorités Européennes : 30 ans de traçabilité
Questionnaires du donneur et résultats des tests	15 ans	
Conditions de stockage du plasma	5 ans	
Documents concernant la préparation du plasma	5 ans	

Tableau 1. Période de stockage pour les informations des plasmas envoyés à Octapharma¹⁴

Il est important de notifier que les centres de collectes sont audités par les autorités de santé compétentes ainsi que par les laboratoires qu'ils approvisionnent. Par exemple, en France, chaque site transfusionnel de l'EFS reçoit son habilitation pour 4 ans au cours desquels le site peut subir des audits internes ou externes par les autorités de santé compétentes. Dans les autres pays, cela dépend de la loi en vigueur et de la réglementation européenne¹⁵.

¹² EMA/CHMP/BWP/157481/2012 du 15/03/2012 Certificat PMF en vigueur.

¹³ RE-95 Blood Product. 2012

¹⁴ PMF en vigueur. 2.3 Contractual Arrangements with Plasma Suppliers. P4/15

¹⁵ Directive 2002/98/CE du parlement européen et du conseil du 27 janvier 2003

Un centre de collecte est régi par une réglementation et par des normes strictes bien définies répondant aux Bonnes Pratiques. Cependant, il peut être fermé pour une raison indépendante de sa volonté, liée à l'épidémiologie des pathologies aux alentours. Les centres de collecte en partenariat avec Octapharma ont l'obligation de fournir un rapport annuel sur les différentes pathologies révélées lors des tests effectués sur les donneurs. Si le seuil limite fixé est dépassé, alors les autorités compétentes peuvent décider de fermer le centre afin d'éviter le moindre risque. Il est primordial de détecter correctement les virus en cause¹⁶.



2. SELECTION DES DONNEURS ET DU DON

a. Les dons

En France, un don doit être éthique, c'est à dire qu'il est défini par 3 grands principes que sont :

- Le bénévolat : le donneur ne peut être rémunéré en aucun cas, que se soit de manière directe ou indirecte : *Le don de sang ou de composants du sang ne peut donner lieu à aucune rémunération, directe ou indirecte. Sont notamment prohibés à ce titre, outre tout paiement en espèces, toute remise de bons d'achat, coupons de réduction et autres documents permettant d'obtenir un avantage consenti par un tiers, ainsi que tout don d'objet de valeur, toute prestation ou tout octroi d'avantages*
- Le non profit : pour l'établissement de collecte, c'est à dire que l'établissement ne doit pas faire de profits après avoir payé l'ensemble de ces frais (rémunération de ses collaborateurs, cout de structure, coûts des tests).
- L'anonymat : Le principe est que le donneur ne puisse pas connaître le receveur et réciproquement¹⁷.

¹⁶ PMF en vigueur. Module 1.2.1.2 Precautionary Measures taken with regards to the Potential Risk for variant CJD. Module 1.2.1.3 Assessment of Epidemiological Data. p 4/9.

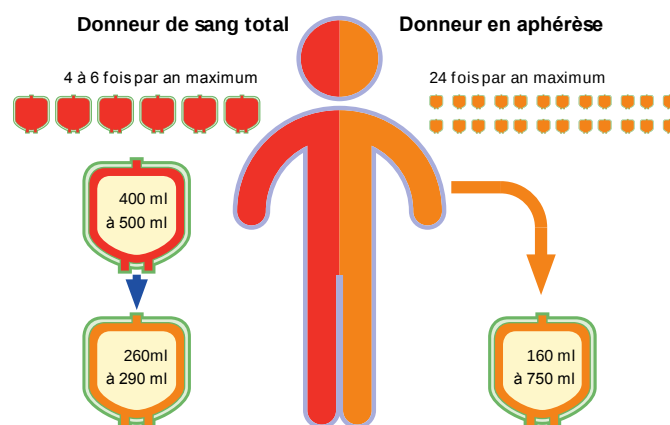
¹⁷ Article D-1221-1 du Code la Santé Publique

Dans certains pays, il existe des établissements privés de collecte, qui rémunèrent le don. Dans le monde la collecte de sang existe sous 4 formes :

- Le don éthique, comme défini auparavant et qui est pratiqué dans la majorité des cas
- Le don compensé : le donneur reçoit un forfait compensatoire pour son déplacement et son repas
- Le don de reposition : le donneur ramène un membre de sa famille ou quelqu'un de sa connaissance lors de sa transfusion
- Le don rémunéré, qui est un arrangement d'ordre financier ou en nature entre le donneur et la banque de sang¹⁸.

La collecte de don peut être effectuée de 2 façons différentes :

- Le don de sang total : Peut être effectué 4 à 6 fois par an pour la femme et l'homme respectivement. Au cours de ce don, le donneur peut être prélevé de 400 à 500ml de son sang mais le prélèvement ne doit pas dépasser 13% du volume total. Attention cependant, une personne de moins de 50 kg, ne peut pas donner son sang.
- Le don de plasma : une personne donnant son plasma peut le faire toutes les 2 semaines, soit 24 fois par an. Au cours de ce prélèvement, les éléments figurés du sang ne sont pas filtrés, seul le plasma est extrait. Il est possible de prélever jusqu'à 750mL de plasma. Le don de plasma est souvent couplé avec un autre don qui peut être un don de plaquette.
- Le don de plaquettes¹².



Le plasma et les plaquettes se régénèrent en quelques heures, quant aux globules rouges il leur faut une quinzaine de jours.¹⁹

¹⁸ OMS. Consulté le 09/10/14

¹⁹ J. LEFRERE et al. (2011) Abrégés de Transfusion Sanguine. 4^{ème} Edition. Elsevier Masson, Paris, P374

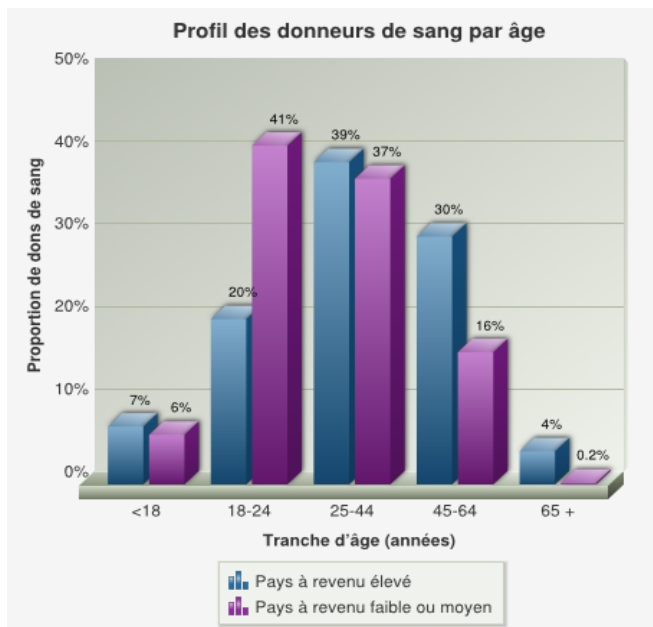


Figure 2. Profil et âge des donneurs de sang dans le monde¹⁸

la communication et la stratégie à mettre en place pour recruter les donneurs de sang¹⁹.

b. Les donneurs

Selon les données fournies à l'OMS, 30% des dons de sang dans le monde proviennent de femmes, bien que d'un pays à l'autre cela peut varier très fortement. Ci-contre un graphique montrant le profil des donneurs de sang dans le monde. Les sujets jeunes donnent de façon plus importante leur sang dans

les pays à revenu faible ou moyen. Ces données sont importantes pour la

LA SÉLECTION DU DONNEUR EST LA PREMIÈRE ÉTAPE DE SECURISATION VIRALE

La première étape du processus de la transfusion et de la production des Médicaments Dérivés du Sang ou Produits Sanguins Labiles est l'arrivée du donneur au centre de collecte. Lors de son accueil au centre, le donneur reçoit un formulaire avec son numéro de donneur, identifiant qui sera intégré dans la base de la banque de sang et rattaché à tous les futurs dons effectués par le donneur. Pour assurer la sécurité virale et éviter ainsi toute transmission de facteur pathogène, le donneur:

- Reçoit lors de son arrivée un questionnaire médical à remplir. Ce questionnaire porte non seulement sur ses antécédents médicaux mais aussi sur ses déplacements et sur ses pratiques sexuelles pour éliminer les comportements à risque en ce qui concerne le VIH, Hépatite B et C ainsi que la variante de MJC²⁰.
- A un entretien individuel avec le médecin afin de déterminer son hygiène de vie, a un examen clinique (poids, tension artérielle, fréquence cardiaque...) et a un dosage de l'hématocrite et de l'hémoglobine¹².

Dans beaucoup de pays, afin d'augmenter les mesures de sécurité sanitaire, le premier don effectué par le donneur sera systématiquement mis en quarantaine. Le prélèvement

²⁰ Article R-1221-5 du Code de la Santé Publique

ne sera exploité que lors de son second passage²¹. La problématique pour les centres de collecte est de faire adhérer les donneurs pour ne pas avoir uniquement des donneurs nouveaux mais des donneurs réguliers (personne donnant au moins 2 fois) dans le but à terme de développer l'augmentation de fréquentation de ces donneurs réguliers et maintenir un stock suffisant. Afin d'atteindre cet objectif certains pays ont créé des programmes de fidélité, avec des avantages dans le but de stimuler le donneur à revenir :



formations concernant la sécurité virale, les comportements à risque, la conduite à tenir, organiser un système de rendez-vous, délivrance d'un certificat de donneur, déterminer le mode de communication préféré du donneur...²²

Après l'examen clinique et l'aval du médecin, le donneur peut être prélevé. La collecte de sang doit être effectuée par une personne agréée à cette tâche, qui possède un diplôme de préleveur, et qui prépare le matériel nécessaire à la collecte. Au début du prélèvement, 30 mL de sang sont prélevés pour les échantillons de sang dans le but de réaliser les tests sérologiques, génomiques et

hémato-immunologiques ainsi que diminuer le risque de contamination bactérienne de la poche de sang. Ces tests sont une des pierres angulaires de la sécurité virale. Sur ces échantillons sont donc classiquement effectués :

Pour les tests génomiques:

- VHC-NAT
- VHB-NAT
- VIH-NAT
- Parvovirus B19-NAT
- VHA-NAT
- VHE-NAT (généralement pour le plasma à visée transfusionnelle)

Pour les tests sérologiques :

- Dosage des Ac AgHbs
- Dosage des Ac HCV
- Dosage des Ac VIH 1/2

²¹ PMF en vigueur. Module 2.1.3 Selection/exclusion criteria for blood donors/plasma donors. p1&2/2.

²² OMS. (2010) *Vers 100% des dons de sang volontaires*. P90-91

- Syphilis selon les recommandations nationales²³

Et pour les tests hémato-immunologiques généralement en cas de transfusion:

- Recherche A, B, O
- Rhésus

Après le prélèvement des échantillons vient le prélèvement du don. Celui-ci doit être rattaché à notre donneur afin d'effectuer une traçabilité efficace de notre lot et possède son propre numéro d'identification²⁴.

3. PREPARATION DU DON DE SANG TOTAL

Une fois la poche de sang prélevée, celle-ci sera traitée au sein de l'établissement de collecte pour obtenir le plasma. L'objectif est de débarrasser le sang de tous les éléments figurés afin de ne garder que le plasma, matière première pour le fractionnement et l'obtention des immunoglobulines. Lors de la préparation du plasma, il est important de déterminer quel(s) PSL doit (doivent) être extrait(s) afin de préparer les étapes à venir. Les systèmes utilisés diffèrent selon les éléments à extraire.

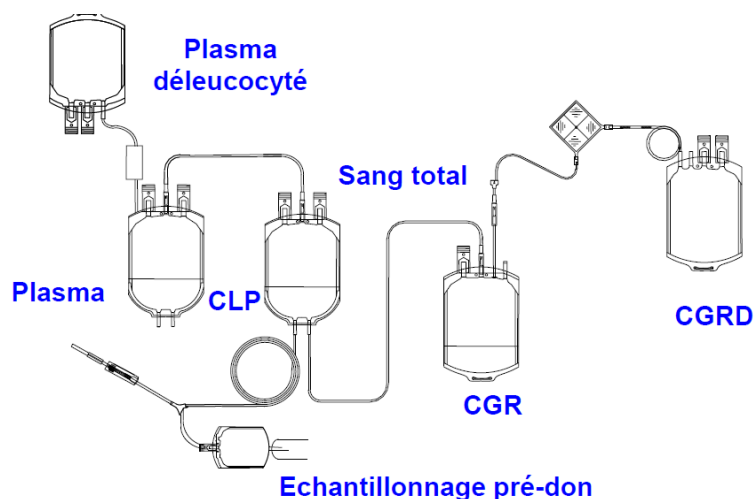
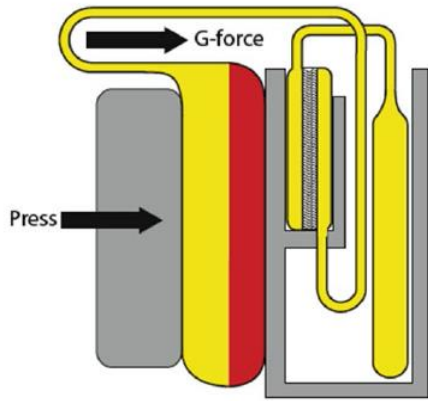


Figure 3. Dispositif de prélèvement de sang total avec filtre à déleucocyter⁹

²³ H. DICHTELMÜLLER. (2012). Ensuring virus safety of plasma products. Production of plasma proteins for therapeutic use. John Wiley & Sons, Inc.

²⁴ PMF en vigueur. Module 2.2.2.1 General Information on Test Methods - Human Plasma for Fractionation. p2/13.

En premier lieu, la poche de sang est mise dans une centrifugeuse afin de séparer les composants selon leur poids moléculaire. La vitesse de centrifugation, la fréquence de rotation, le temps ainsi que la température sont réglés pour séparer au mieux plaquettes, leucocytes, globules rouges et plasma.



La centrifugation permet d'obtenir une poche triphasique avec le plasma en amont, le buffycoat ou couche leuco-plaquettaire au centre et les globules rouges au fond de la poche. Pour extraire les éléments de façon séparée, la poche est placée dans une presse, qui grâce aux forces mécaniques et physiques, va répartir les différents composants dans les poches concernées¹⁹.

Avec le système utilisé ci-dessus, le plasma se verra réparti dans la poche du haut, la couche leuco-plaquettaire reste dans la poche initiale. Quant aux hématies, elles se répartissent par gravité dans la dernière poche.

La poche de plasma obtenue est de couleur jaune. Les poches n'ont pas toutes une teinte uniforme, car cela dépend du taux de protéines contenues dans le plasma de la personne ayant donné son sang et de la composition par exemple, en lipides.

La poche de plasma, déplétée en éléments figurés du sang va suivre son parcours et être congelée selon la méthode employée par le centre de don. Il existe plusieurs méthodes de congélation qui diffèrent d'un centre à l'autre:

- Congélation de la poche à l'azote liquide, à -176°C ,
- Surgélation entre des plaques à -80°C pendant une durée de 51 min s'il y a plus de 6 poches, sinon cette opération peut être effectuée en 31 min.

La congélation ne doit pas être pratiquée sur une période de temps trop importante, sinon les protéines migrent vers l'intérieur de la poche et se concentrent au centre de la poche de plasma. Le temps d'attente entre le prélèvement du sang et la congélation va déterminer l'utilisation future du plasma ainsi que sa qualité. En effet, un plasma congelé rapidement, c'est à dire en moins de 8 heures est considéré comme un plasma de meilleure qualité. Au-delà de 72h, il n'est plus possible de séparer les éléments figurés du sang. Le plasma peut être congelé alors qu'il est impossible de congeler le sang total, sinon celui-ci est dénaturé²⁵.

²⁵ PMF en vigueur. 2.3.7.3 Contractual Arrangements with Plasma Suppliers. Component preparation p8/15

Le plasma congelé est adressé à l'usine de fractionnement afin d'être traité. Les conditions de transport sont réglementées et répondent à des critères spécifiques : par exemple la température lors du transport ne doit pas être inférieure à -25°C. Le transporteur est le responsable et le garant des bonnes conditions de transport²⁶.

4. FRACTIONNEMENT : OBTENTION DES IMMUNOGLOBULINES

a. Réception

La poche de plasma est livrée à l'usine de fractionnement où elle va subir les dernières étapes de production afin d'obtenir les immunoglobulines.

En parallèle, la traçabilité et la sécurité virale, sont toujours assurées par des tests d'ordre visuels ainsi que biologiques²⁷. Le scanner de la poche lors de la réception permet d'assurer la traçabilité du don et de corrélérer les résultats envoyés par le laboratoire du centre de collecte avec le centre de qualité. Lors du scanner de la poche, l'absence de résultats provoque la mise en quarantaine de celle-ci. Des résultats de tests biologiques positifs ou manquants entraînent la destruction de la poche.

L'inspection visuelle quant à elle consiste à s'assurer que la poche :

- Ne soit pas hémolytique
- Possède un volume suffisant
- Ne soit pas déchirée
- Possède une étiquette manquante ou illisible
- Ne soit pas décongelée
- Ne soit pas décolorée²⁸

b. Fractionnement²⁹

Les poches valides rentrent dans la dernière étape qui est le processus de fractionnement.

²⁶ PMF en vigueur. 2.3.7.4 Contractual Arrangements with Plasma Suppliers. Plasma storage. p8/15

²⁷ Procédures Octapharma en vigueur

²⁸ PMF en vigueur. 2.3.7.6 Contractual Arrangements with Plasma Suppliers. Acceptance criteria for plasma. p10/15

²⁹ BUCHACHER A et al.(2013). Intravenous Immunoglobulin G from human plasma purification concepts and important quality criteria. Production of Plasma Products for Therapeutic Use. **1st Edition**.P185-190.

Les poches sont stockées dans des chambres froides près de la zone de découpe, salle où les poches sont ouvertes par des opérateurs à la main, les formats des poches n'étant pas tous identiques. Il existe 2 types de formats, bouteilles ou poches empêchant de robotiser la découpe actuellement.

Le fractionnement est défini par 4 grands paramètres que sont :

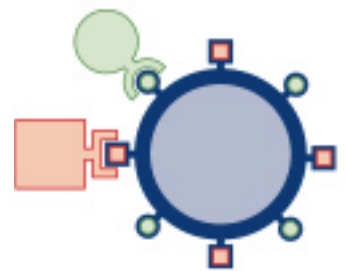
- La température 
- La force ionique de la solution

- Le pH 

- La concentration en éthanol 

Tout au long du processus de fractionnement, l'industriel va intervenir sur les paramètres afin d'obtenir un rendement maîtrisé des protéines choisies.

La première étape du fractionnement est le pooling des poches dans une cuve de 3000 à 5000 L. Le plasma de l'ensemble des poches est poolé (mélangé) ce qui peut être interprété comme le premier process d'inactivation, connu sous le nom de **neutralisation immune**³⁰. La neutralisation immune peut être définie par l'intervention des anticorps contenu dans le plasma des donneurs sur des virus ayant passés l'ensemble des tests et présents dans la solution en les neutralisants. Les anticorps contenus dans le plasma neutralisent par exemple les virus tels que le virus de l'hépatite A, la Polio-1 et le Parvovirus B-19. Des tests sérologiques et génomiques sont effectués sur le plasma :



³⁰ Données internes Octapharma

Test plasma pool³¹

Dosages sérologiques :

- Hépatite B (Ag HBs)
 - Hépatite C (Anticorps VHC)
 - VIH I/II (Anticorps VIH I/II)
 - Syphilis selon les recommandations nationales
- Tests génomiques :

Tests génomiques :

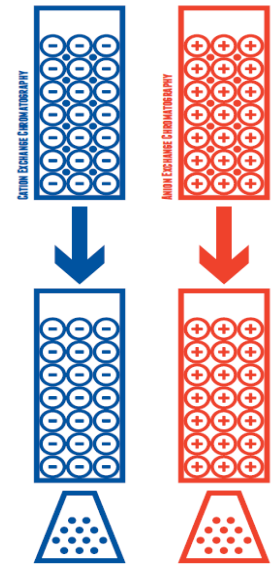
- NAT-HAV
- NAT-HBV
- NAT HIV
- NAT-HCV
- NAT-HEV (pour le plasma thérapeutique uniquement)
- NAT-Parvovirus B-19³²

Une fois le lot poolé, la décongélation est contrôlée minutieusement pour obtenir le cryoprécipité, composé du facteur VIII et une partie du fibrinogène avec le meilleur rendement et pureté possible³⁰.

³¹ PMF en vigueur. Module 2.2.2.1 General Information on Test Methods - Human Plasma for Fractionation. p2/13.

³² Immunoglobulins. Module 3.2.A.2.4.3 Summary Tables of Virus Validation Studies. p1-2/14

Le cryosurnageant est passé sur une colonne de **chromatographie** pour extraire les facteurs vitamine K (II, V, VII, IX) dépendant ainsi qu'une autre colonne afin de purifier la solution de facteur XI, facteur pouvant être responsable lors d'un déséquilibre avec le facteur IX d'événements thromboemboliques.³³ Aujourd'hui les techniques de chromatographies sont des étapes clés dans le processus de purification. La chromatographie échangeuse d'ions est la technique la plus utilisée car les résines ont une très forte capacité de liaison et l'élution des protéines est précise et reproductible. La chromatographie d'affinité est utilisée avec des ligands spécifiques tels que l'héparine ou la lysine. L'industrie pharmaceutique a également recours à la chromatographie d'exclusion (gel filtration) et gel hydrophobe.³⁴



Le surnageant étant purifié des différentes protéines citées ci-dessus, la première étape de **précipitation I** peut commencer. Différentes méthodes de précipitation sont utilisées au cours du processus de fractionnement et peuvent différer selon l'industriel et le but définit. La plus utilisée est **la précipitation à l'éthanol**. Initialement, le sulfate d'ammonium était utilisé mais a été remplacé par la précipitation à l'éthanol à basse température. La méthode de Cohn est basée sur la variation des paramètres que sont la température, la concentration d'éthanol, le pH, la concentration des protéines et leurs forces isoélectriques. Les méthodes ont évolué ultérieurement pour être complétées par des méthodes de précipitation à l'acide caprylique ou bien par le polyéthylène glycol³⁰.

Fractionnement au caprylate

Il a été démontré que les alpha et beta-globulines formaient des complexes insolubles avec les chaînes courtes des acides gras contrairement aux gamma-globulines. Cette découverte a été utilisée pour purifier les immunoglobulines et faire précipiter les «non-immunoglobulines» avec le caprylate. La pureté et le rendement dépendent de la quantité d'acide caprylique ajouté, du pH, de la molarité, et du facteur de dilution³⁶.

Précipitation Polyéthylène Glycol (PEG)

La variation de la concentration du PEG à différents pH influence la solubilité des composants du plasma. Le PEG permet de séparer les protéines par un mécanisme

³³ Facteur VIII. Method of preparation. 2.3 Flow Chart

³⁴ Facteur VKD. Method of preparation. 2.3 Flow Chart

d'exclusion³⁶.

Cependant les méthodes de précipitation comme l'éthanol à froid peuvent être utilisées pour l'élimination des virus, en particulier lorsque le précipité est contenu dans la partie à éliminer. Similaires aux protéines, les virus se répartissent entre la partie soluble et le précipité. Il a été démontré que les virus enveloppés ou non- enveloppés étaient en partie éliminés durant les étapes de précipitation³⁵.

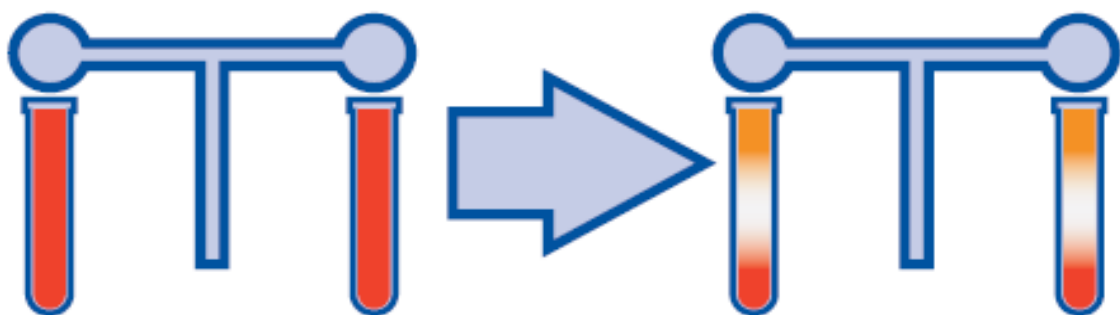
Les principales précipitations lors du processus de Cohn sont :

- La précipitation I
- La précipitation II + III
- La précipitation IV-1
- La précipitation IV-4
- La précipitation V

Le schéma ci-dessous indique les grandes étapes de précipitations et les protéines obtenues à chaque étape.

Les différentes protéines obtenues sont ensuite purifiées et traitées par des techniques d'inactivation/élimination virale.

La technique à employer pour la purification de la protéine en cours de fabrication dépend de la nature du composé et de la masse souhaitée lors de l'étape choisie. La filtration permet un plus grand débit et un meilleur rendement. Les centrifugeuses ont besoin



d'énergie considérable pour le refroidissement pendant le fonctionnement et nécessitent plus de maintenance. Par exemple pour la fraction IV-1, IV-4 et V, la filtration est préférée. Pour la FR-I, c'est la centrifugation. **La centrifugation** est utilisée depuis le début du

³⁵ E.HETZL. (2012). The pharmaceutical Manufacturing Environment. Production of plasma proteins for therapeutic use. John Wiley & Sons, Inc.

fractionnement avec un résultat excellent pour séparer les différents éléments. Il existe 2 grands types de centrifugation : la discontinue avec des centrifugeuses à tube ou centrifugeuses à bol, et la centrifugation continue. Quant à **la filtration** il existe plusieurs méthodes décrites ci-dessous :

Ultrafiltration / Diafiltration

Ces procédés sont généralement utilisés pour concentrer les solutions de protéines. Les filtres utilisés sont constitués de pores situés entre 10KDa et 100KDa (environ 0,01 micromètres). Cette étape permet soit de préparer une purification soit d'ajuster³⁶ la concentration en protéines ainsi que la teneur en sels selon les spécificités du produit. Les membranes sont généralement en cellulose ou polyethersulfone

Microfiltration

Les membranes utilisées dans la microfiltration ont des tailles de pores comprises entre 0,2 et 10 micromètres (supérieur à 20000KDa). Ces membranes sont utilisées pour réduire la charge virale et clarifier la solution au niveau des étapes critiques. Dans la pratique, les industriels utilisent des «trains» de filtres de différentes tailles de pores afin d'avoir une surface et un filtre adapté aux particules, à la charge virale et au volume filtré³⁰.

Filtration avec adjuvants

Cette technique, alternative à la centrifugation continue, permet d'augmenter les rendements et d'obtenir des fractions intermédiaires plus pures³⁰.

Afin d'assurer la sécurité d'utilisation du produit, la sécurité virale est maîtrisée par plusieurs méthodes citées ci-dessous et utilisées au cours du processus de fractionnement de notre protéine :

pH 4

Une phase d'incubation à pH bas a pour but de désagréger les polymères d'IgG et de réduire leur formation. Il a été découvert plus tard que cette étape était efficace pour inactiver les virus enveloppés et non-enveloppés³⁶.

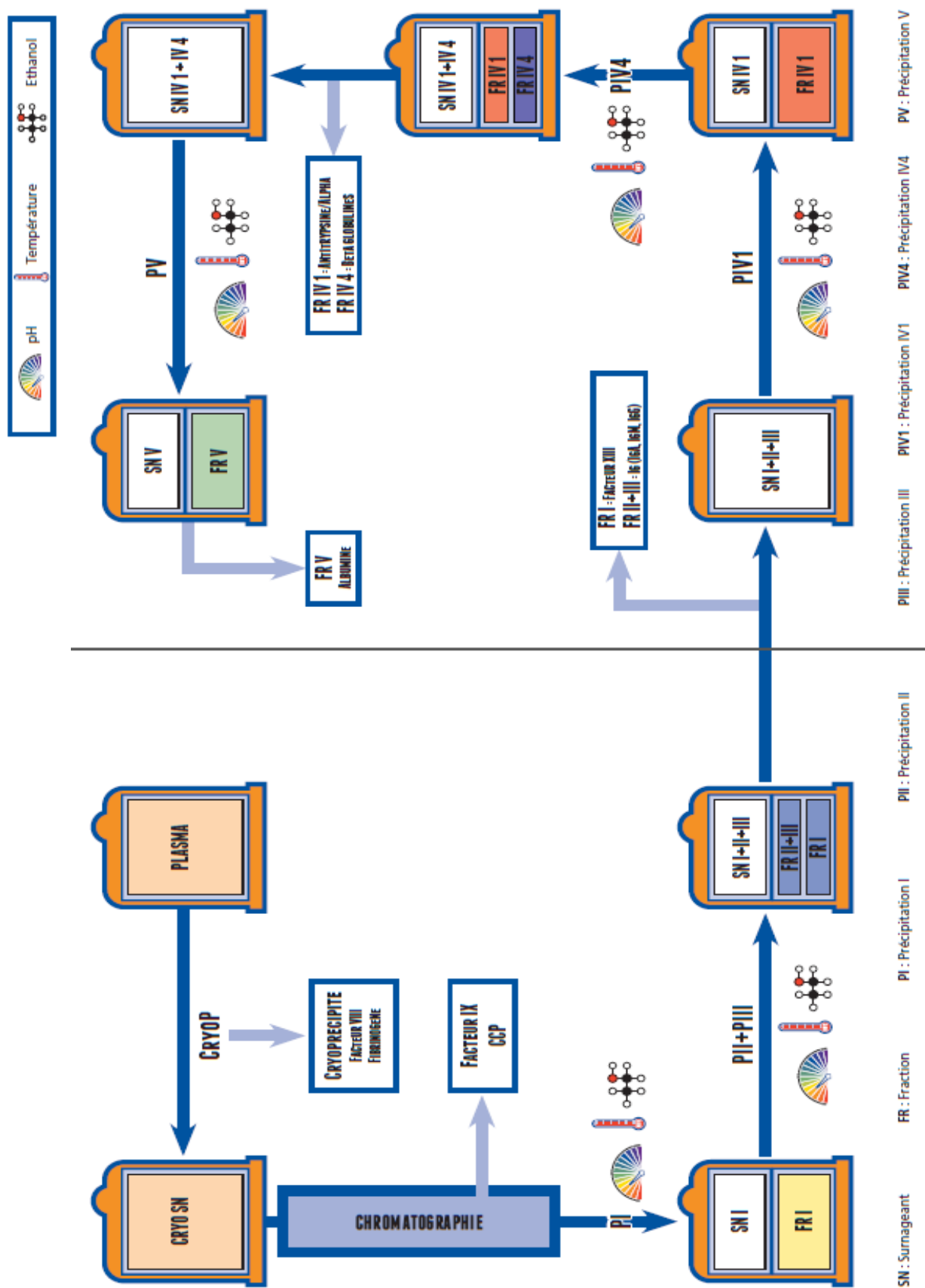
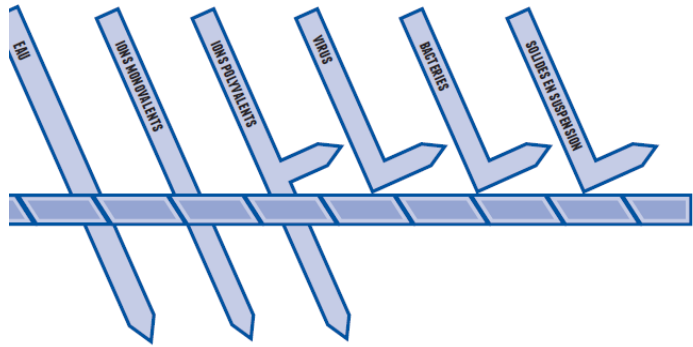


Figure 4. Fractionnement: Processus général

Nanofiltration

Cette technique d'inactivation virale sur membrane est une technique séparative dite d'inactivation par exclusion à la différence des autres techniques qui sont des techniques dites de destruction. Cette technique ne peut en aucun cas être utilisée comme seul et unique moyen d'inactivation virale contrairement à la technique de pasteurisation, cette dernière étant utilisée universellement sur l'albumine. L'intérêt de la technique de la nanofiltration réside dans le fait qu'elle est complémentaire aux techniques qui n'agissent que sur les virus enveloppés (S/D, caprylate,...) et permet d'assurer une réduction de la charge des virus non-enveloppés³⁶.



Pasteurisation

La différence de sensibilité entre les protéines du plasma et les virus est exploitée pour inactiver ceux-ci. Certains industriels chauffent leur solution de protéines à 60°C pendant une durée de 10h.

Solvant détergent

Le S/D traitement permet d'inactiver les virus enveloppés. Il permet la dissolution irréversible des enveloppes protéolipidiques des virus enveloppés empêchant ainsi la particule virale nue de pénétrer dans la cellule hôte et donc au virus de se répliquer³⁶.

Traitement à l'acide caprylique

Le traitement par l'acide caprylique correspond à une incubation à un pH inférieur à 5,5 pendant 30 à 60 minutes à 20–22 °C. Il agit contre les virus enveloppés et est réservé aux immunoglobulines de type G^{36 37 38}

³⁶ A.BUCHACHER et al. (2012). Intravenous Immunoglobulin G from Human Plasma Purification Concepts and Important Quality Criteria. Production of plasma proteins for therapeutic use. John Wiley & Sons, Inc.

³⁷ T. BURNOUF. (2007). Plasma fractionation in the world: Current status.

³⁸ EMA. Guideline on plasma-derived medicinal products.EMA/CHMP/BWP/706271/2010.21/07/2011.

La protéine qui nous intéresse est contenue dans la fraction II, fraction précipitée au début du processus de fractionnement. Nous allons détailler dans la prochaine partie les caractéristiques de cette protéine, sa structure et son rôle.

D. LES IMMUNOGLOBULINES

1. STRUCTURE

La superfamille des immunoglobulines est constituée de toutes les protéines ayant des similarités de structure et de séquence avec les immunoglobulines mais ne sont pas forcément des anticorps. Un domaine Ig-like est constitué de deux feuillets β plissés superposés tenus ensemble par un pont disulfure. Il est possible de retrouver ces domaines immunoglobulin-like dans de nombreuses autres protéines participant ou non au système immunitaire, sachant que la majorité des protéines en possédant participe à la détection de signaux provenant de l'environnement ou des cellules aux alentours.

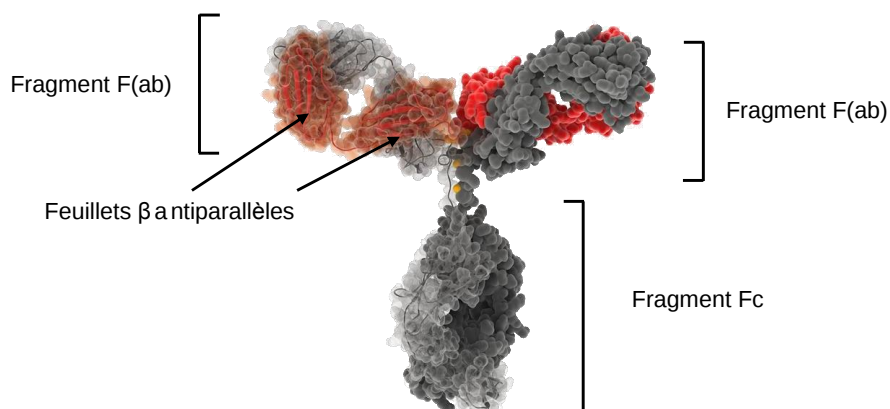


Figure 5. Représentation graphique 3D d'une immunoglobuline type immunoglobuline G (IgG). En noir sont représentées les chaînes lourdes et en rouge les chaînes légères. Sur le côté gauche sont représentés les feuillets β antiparallèles. (VisualScience).

La majorité des immunoglobulines sont des glycoprotéines membranaires mais certaines sont solubles. Dans ce chapitre nous allons décrire les principales classes d'Ig qui diffèrent selon leur chaîne lourde, alpha, Beta, delta, gamma, mu et qui sont dénommées IgA, IgG, IgM, IgE et IgD.

2. PHYSIOLOGIE

Le but du système immunitaire est de prévenir des infections et de détruire celles qui sont déclarées : les mécanismes de notre organisme pour lutter contre les agresseurs extérieurs et maintenir notre intégrité se compose de l'immunité innée et de l'immunité adaptative, réponse beaucoup plus spécifique. Pour mettre ces mécanismes en place notre système immunitaire doit être capable de faire la différence entre les molécules du non-soi ainsi que les molécules de notre organisme, les molécules du soi. Les immunoglobulines sont les principales actrices de l'immunité humorale et sont sécrétées à partir des plasmocytes, lymphocytes B ayant subis une différenciation dépendant des antigènes rencontrés :

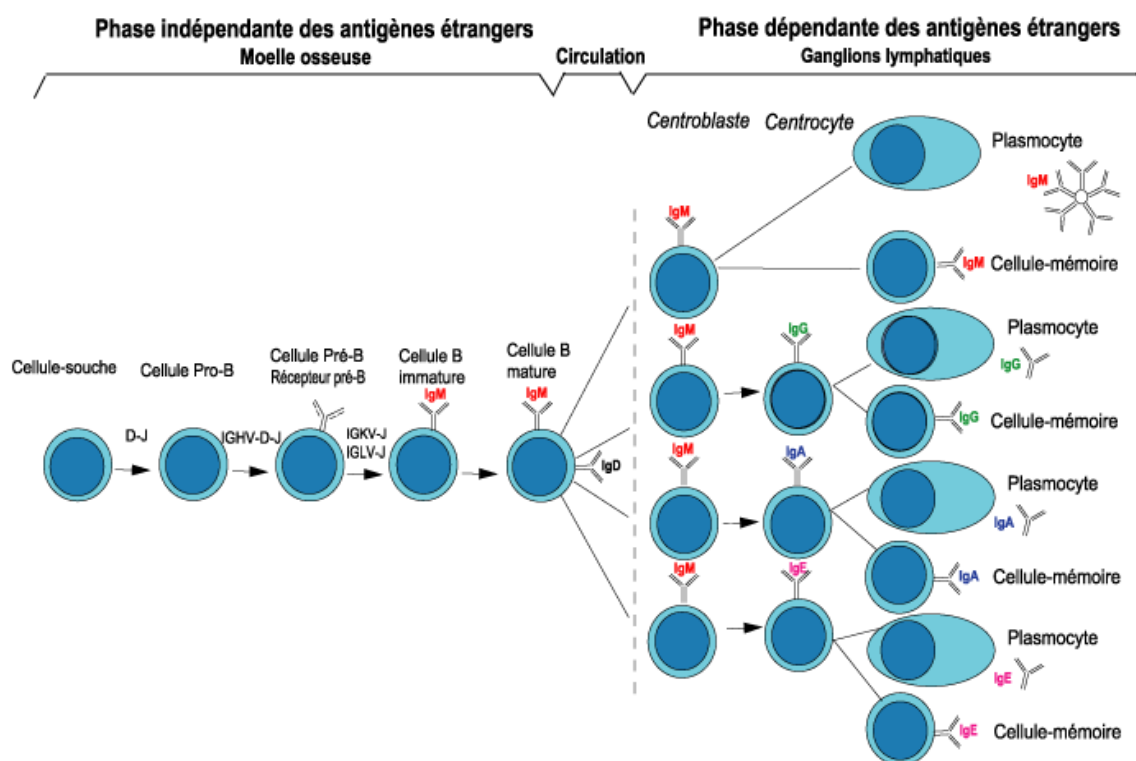


Figure 6. Lymphopoïèse³⁹

Chaque mécanisme immunitaire repose sur des acteurs clés pour présenter ou éliminer les antigènes

Il est déployé dans différents compartiments de l'organisme :

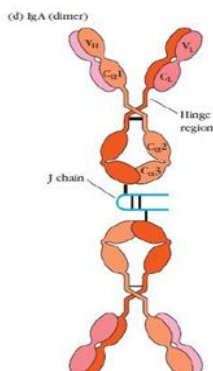
³⁹ <http://www.imgt.org/IMGTeducation/Tutorials/IGandBcells/FR/DifferentiationB/figure1.html>. Consulté le 23/08/2014

- la moelle osseuse (réservoir des cellules hématopoïétiques, dont les cellules du système immunitaire),
- le thymus, où les précurseurs des lymphocytes provenant de la moelle osseuse terminent leur maturation,
- la circulation sanguine (véhiculant les cellules de l'immunité comme les monocytes, les granulocytes ou encore les lymphocytes. On y trouve également les facteurs du complément et les immunoglobulines),
- la circulation lymphatique et les organes lymphoïdes.

Les immunoglobulines sont essentiellement présentes dans le plasma sanguin et sont capables de se lier spécifiquement avec l'antigène qui a suscité leur production.

Un corps adulte contient entre 12 et 15g/l d'immunoglobulines de ces glycoprotéines sériques dont la structure est constituée de 4 chaînes polypeptidiques identiques deux à deux: deux chaînes légères (kappa ou lambda) et deux chaînes lourdes dont la nature définit la classe de l'immunoglobuline: IgG, IgA, IgM, IgD et IgE (ayant respectivement des chaînes lourdes gamma, alpha, mu, delta et epsilon). Ces immunoglobulines n'ont pas toutes les mêmes propriétés physiologiques et la même structure selon la classe à laquelle elles appartiennent :

a. Immunoglobulines de type A



Structure : Dimère pour la forme sécrétée, monomérique la forme sérique

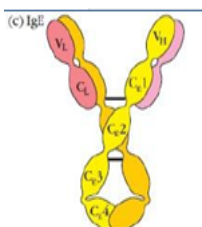
Demi-vie : 6 jours

Rôle physiologique

Les IgA représentent 10 à 15% des immunoglobulines circulantes. (Environ 2g/l chez l'adulte). Elles sont sécrétées au niveau bronchique, digestif (salive), génito-urinaire ainsi que dans les larmes et le lait

maternel.

b. Immunoglobuline de type E

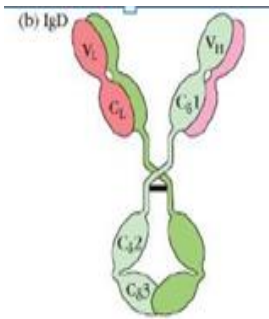


Structure : Monomère

Demi-vie : 2,5 jours

Rôle physiologique : Les immunoglobulines IgE ont un rôle essentiel dans l'hypersensibilité immédiate et ne sont pas impliquées dans l'activation du complément.

c. Immunoglobuline de type D

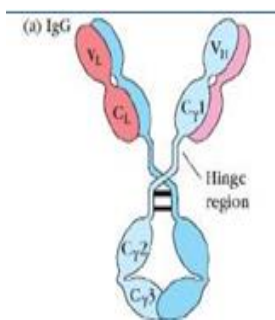


Structure : Monomère classique

Demi-vie : 3 jours

Rôle physiologique : Très mal connu

d. Immunoglobuline de type G



Structure : Monomère

Demi-vie :

- Ig1, Ig2 et Ig4 environ 21 jours
- Ig3 environ 8 jours

Rôle physiologique : Les immunoglobulines IgG sont divisées en quatre sous-classes (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4).

La distribution physiologique des sous-classes d'IgG est la suivante : IgG 1 (60-70%), IgG 2 (20-30%), IgG 3 (5-8%) et IgG 4 (1-3 %).

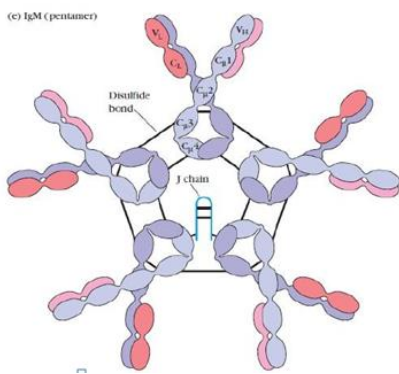
Chaque sous-classe a des propriétés et des fonctions particulières, liées à la structure des domaines constants qui les caractérisent.

- Les IgG 1 représentent la plus grande fraction des IgG. C'est pour cela qu'un déficit en IgG 1 se traduit par une hypogammaglobulinémie. Les Ig1 ont le pouvoir d'activer les molécules du complément et de se fixer aux macrophages. Cette fraction va avoir pour cible des toxines produites par les bactéries (diphtérie et tétanos par exemple) et des protéines virales.
- Les IgG 2 sont impliquées au niveau de la protection des voies respiratoires. Un déficit en IgG 2 peut être associé à un déficit en IgA et favoriser des infections respiratoires chez l'enfant. Il s'agit d'immunoglobulines qui vont avoir pour cible

principale la capsule polysaccharidique de certaines bactéries.

- Les IgG 3 sont impliquées dans la neutralisation des virus et tout comme la fraction des IgG 1 vont avoir la capacité de stimuler le complément et de se fixer aux macrophages.
- Les IgG 4, comme les IgG 2 sont impliquées dans la protection des voies aériennes supérieures. Un déficit en IgG 4 peut être associé à un déficit en IgA et/ou IgG2 dans des infections des voies respiratoires⁴⁰.

e. Immunoglobuline de type M



Structure :

- Monomère : forme membranaire à la surface du lymphocyte B
- Pentamère : forme sous laquelle les IgM sont sécrétées

Demi-vie : 5 jours

Rôle physiologique :

Les immunoglobulines M représentent 5 à 10% des Ig sériques et sont impliquées dans l'activation des compléments.

Les IgG sont les immunoglobulines, les plus représentées avec une concentration plasmatique d'environ 12,5g/l.⁴¹

⁴⁰ L. THOMAS. (1998). Labor und Diagnoses (5th edition). TH Book Verlagsgesellschaft. Franckfurt.

⁴¹ M. M. KOLOPP-SARDA. (2009, Octobre). Les immunoglobulines et leurs fonctions. Laboratoire d'immunologie Centre de Biologie Lyon Sud, France

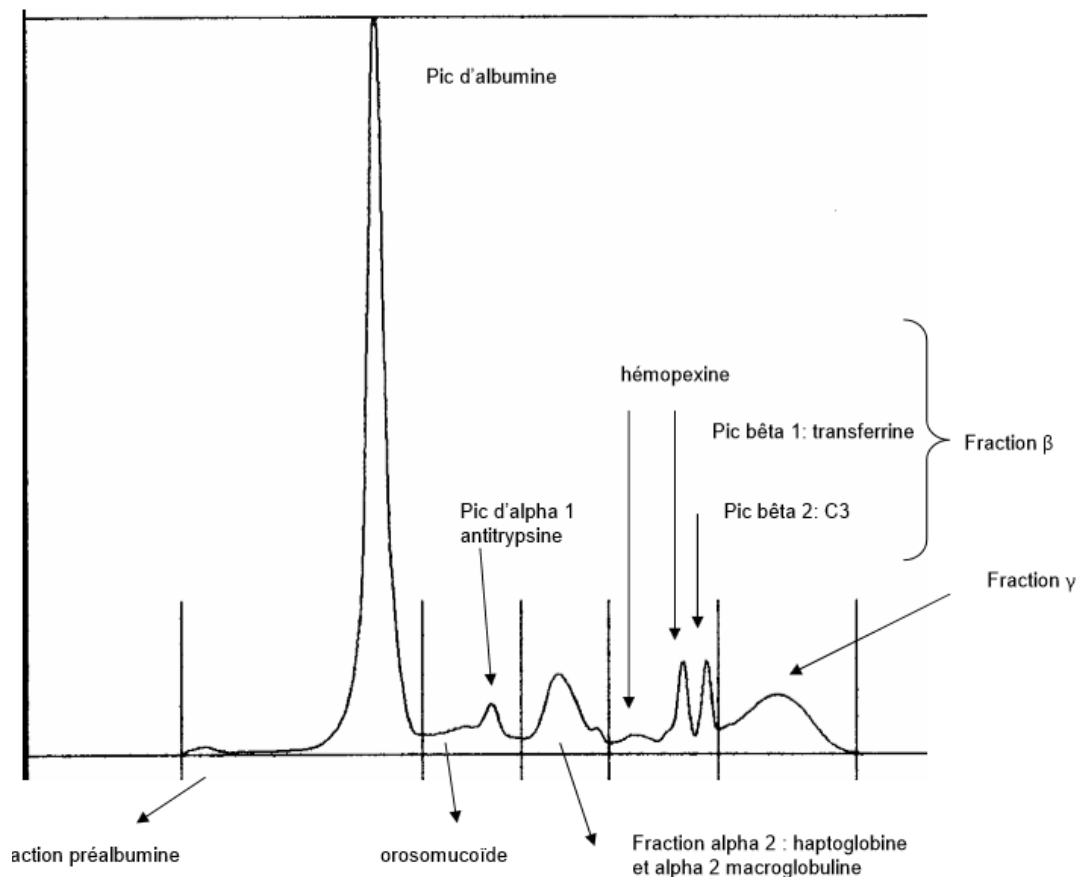


Figure 7. Profil normal en électrophorèse capillaire⁴¹

3. IMMUNOGLOBULINES THERAPEUTIQUES

Les immunoglobulines thérapeutiques sont indiquées et peuvent être utilisées dans de nombreuses pathologies. En France la quantité d'immunoglobulines utilisées s'élève à plus de 8 tonnes par an. Elle est répartie entre les deux formes d'administration que sont les immunoglobulines intraveineuses et sous-cutanées. A ce jour, le marché français se partage entre trois industriels du fractionnement que sont le LFB, CSL Behring et Octapharma pour les immunoglobulines intraveineuses et entre Octapharma et CSL Behring pour les immunoglobulines sous cutanées.⁴²

Les indications des immunoglobulines actuellement sont :

Traitement de substitution :

- Déficits immunitaires primitifs avec hypogammaglobulinémie ou atteinte fonctionnelle de l'immunité humorale,

⁴² Global Intravenous Immunoglobulin (IVIG) Market : An Analysis. Koncept Analytics. January 2012

- infections bactériennes récidivantes chez l'enfant infecté par le VIH,
- déficits immunitaires secondaires de l'immunité humorale, en particulier la leucémie lymphoïde chronique ou le myélome, avec hypogammaglobulinémie et associés à des infections à répétition.

Traitement immunomodulateur dans :

- purpura thrombopénique idiopathique (PTI) aigu de l'enfant ou phase aiguë du PTI de l'adulte en cas de syndrome hémorragique, prévention en cas d'acte médical ou chirurgical exposant à un risque hémorragique et (ou) avec un taux de plaquettes inférieur à $20 \times 10^9/l$ pour corriger le taux de plaquettes,
- syndrome de GUILLAIN-BARRE,
- maladie de Kawasaki,
- polyradiculoneuropathies inflammatoires démyélinisantes chroniques (PIDC) et/ou neuropathies motrices multifocales à bloc de conduction (Tegeline, LFB, possède les deux indications)
- rétinopathie de Birdshot (pour Tegeline, LFB)

Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.⁴³

Les immunoglobulines intraveineuses thérapeutiques sont aussi utilisées dans le cadre de nombreuses indications qui sont encadrées par les recommandations du CEDIT ainsi que celle de l'ANSM. Ci-dessous l'ensemble des recommandations du CEDIT concernant l'utilisation des immunoglobulines :

INDICATIONS RECONNUES (GROUPE I)

- Déficiences immunitaires primitifs avec défaut de production d'anticorps, y compris l'allogreffe de moelle osseuse chez un patient ayant un DIP
- Déficiences immunitaires secondaires avec défaut de production d'anticorps, en particulier leucémie lymphoïde chronique et myélome associés à des infections à répétition
- Dermatomyosites corticorésistants
- Erythroblastopénies auto-immunes
- Infection de l'enfant par le VIH associée à des infections à répétition
- Infections aiguës sévères ou chroniques à parvovirus B19, chez un patient atteint d'immunodéficience acquise ou constitutionnelle

⁴³ Résumé Caractéristiques Produit en vigueur Octagam® @ 50 mg/ml.

- Maladie de Kawasaki
- Myasthénie aigüe
- Neuropathies motrices multifocales avec bloc de conduction permanent (NMMBC)
- Neutropénies auto-immunes
- Polyneuropathies chroniques idiopathiques, dont le syndrome de Lewis et Sumner
- Thrombopénies auto-immunes
- Rétinochoroïdopathie de birdshot
- Syndrome d'anti-coagulation acquise par auto-anticorps
- Syndrome de Guillain Barré (ADULTE ET ENFANT)
- Syndrome de l'homme raide (Stiff man syndrome)

INDICATIONS PERTINENTES (GROUPE II)

- Substitution aux immunoglobulines spécifiques anti-varicelle-zona
- Anémies hémolytiques autoimmunes
- Avortements précoces récidivants
- Formes résistantes de l'épilepsie de l'enfant
- Maladie de Still de l'adulte
- Myosites à inclusion avec atteinte oesophagienne
- Polymyosites corticorésistantes
- Prévention des infections chez le grand prématuré
- Greffe rénale :
 - Désimmunisation des patients en attente de greffe
 - Traitement curatif du rejet humoral de greffe
 - Prophylaxie du rejet de greffe de rein chez des patients immunisés ou l'ayant été
- Syndrome d'activation macrophagique secondaire à une pathologie infectieuse
- Syndrome des antiphospholipides, en l'absence d'efficacité des anticoagulants
- Vascularites systémiques ANCA positives
- Pemphigus corticorésistant ou après échec des immunosuppresseurs
- Choc toxique à Streptocoques
- Encéphalites auto-immunes (dont encéphalopathie de Rasmussen)
- Maladie démyélinisante du SNC hors SEP et syndrome de Devic

INDICATIONS NON RECONNUES NE DEVANT PAS FAIRE L'OBJET DE PRESCRIPTION (GROUPE III)

- Allogreffe de moelle osseuse chez un patient n'ayant pas de déficit immunitaire primitif
- Adréno-leucodystrophie
- Autogreffes de moelle osseuse
- Dermatites atopiques sévères de l'adulte
- Formes systémiques d'arthrite chronique juvénile (Maladie de Still de l'enfant)
- Infections à CMV compliquant des greffes d'organes
- Leucémie de l'enfant en phase aplasique
- Paraparésies spastiques associées au HTLV 1
- Prévention des infections bactériennes dans le sida de l'adulte
- Syndrome de Lyell (passage du groupe II au groupe III en 2002)
- Polyneuropathies associées à une gammapathie monoclonale IgM anti-MAG
- Sclérose en plaques
- Myosite à inclusion sans atteinte oesophagienne
- Lupus érythémateux systémique en dehors des cytopénies auto-immunes associées

Au sein de ces recommandations se trouve la pathologie qui nous intéresse, celle concernant la deuxième partie de notre thèse : la greffe rénale. Les immunoglobulines sont utilisées dans 3 cas bien distincts dans la greffe rénale :

En amont de la greffe^{44 45 46}:

Certaines études ont démontré l'intérêt des Immunoglobulines dans la désensibilisation des patients immunisés permettant de diminuer le taux d'anticorps anti-HLA. La discussion se porte sur l'utilisation des immunoglobulines seules ou en association avec soit des échanges plasmatiques, soit avec l'association de rituximab. L'utilisation du rituximab en désensibilisation est discutée dans certains articles au vu des effets secondaires que

⁴⁴ TE. BUNCHMAN et al. (1997). Beneficial effect of Sandoglobulin upon allograft survival in the pediatric renal transplant recipient. *Clin Transpl* **11** : 604-607.

⁴⁵ MN. Peraldi et al. (1996) Long-term benefit of intravenous immunoglobulins in cadaveric kidney retransplantation. *Transplantation*; **62**:1670-1673.

⁴⁶ N. SHEHATA et al. (2010). The use of Immunoglobulin Therapy for patients Undergoing Solid Organ Transplantation: An Evidence-Based Practice Guideline. *Transfus. Med. Rev.* **24**:S7-S19.

celui-ci peut entraîner mais un article récent semble prouver une meilleure désensibilisation en association avec les IgIV⁴⁷.

En prophylaxie du rejet ⁴⁷:

Certaines études démontrent que l'administration d'immunoglobulines à des patients transplantés associés à des traitements standards immunosuppresseurs pendant les premiers jours de greffes améliore la survie du greffon.

En traitement curatif du rejet ^{47 48} :

- Les immunoglobulines peuvent être utilisées seules à doses importantes.
- Mais elles peuvent aussi être utilisées en association avec certains traitements comme ceux utilisés en amont de la greffe tels que les échanges plasmatiques ou le rituximab.

⁴⁷ SC. JORDAN et al. (2014 Aug). Benefits of rituximab combined with intravenous immunoglobulin for desensitization in kidney transplant recipients. **98**(3):312-9.

⁴⁸ SC. JORDAN et al. (2006). Intravenous gammaglobulin (IVIG): a novel approach to improve transplant rates and outcome in highly HLA-sensitized patients. *Am J transplant* ; **6**:459-466.

II. LA TRANSPLANTATION RENALE



A. INTRODUCTION ET ENJEUX

La transplantation est un des enjeux majeurs de notre société actuelle. Notre espérance de vie augmente apportant ainsi son lot de nouvelles pathologies. De nombreux patients, afin de survivre doivent subir une greffe d'organe. Le ministère de la santé publique a lancé, le 7 mars 2012, le plan Greffe. En effet, les besoins en greffons n'ont cessé d'augmenter au cours des dernières années passant de 3211 greffes en 2000 à 4915 en 2011. La transplantation permet d'augmenter l'espérance de vie mais la question du coût se pose : est-il plus intéressant de réaliser une greffe rénale que de dialyser en terme de pharmaco-économie ? Est-il intéressant de traiter des patients hyperimmunisés ? Quel traitement doit-on utiliser en fonction du contexte ?

Ce chapitre a pour objectif de faire un état des lieux des protocoles utilisant des immunoglobulines dans la transplantation rénale chez des patients immunisés en pré-greffe, ainsi que l'utilisation des immunoglobulines chez les patients transplantés. Nous allons faire avec cette revue un point sur les différents protocoles existants et les recommandations apportées par les auteurs, en essayant de répondre à ces questions : Dans quel contexte greffe-t-on ? Quels types de patients ? Quand ? Et quel suivi ?

En 2007, l'Assurance maladie⁴⁹ a estimé le coût total de la prise en charge de l'IRC terminale, a plus de 4 milliards d'euros, dont plus des trois quarts concerne la prise en charge en hémodialyse. Le coût moyen annuel de prise en charge des malades varie selon le mode de prise en charge : sous hémodialyse, il est de 88 608 € et sous dialyse péritonéale de 64 450 €, c'est à- dire que les dépenses annuelles d'assurance maladie liées à ces modes de prise en charge varient de plus de 24 000 €.

La greffe du rein a un coût moyen plus proche de celui de l'hémodialyse l'année de la greffe mais bien moindre les années suivantes (respectivement 86 471 € et 20 147 €).

Aux horizons 2025 et 2050, du seul fait du vieillissement de la population, le coût de la prise en charge de l'insuffisance rénale chronique devrait s'établir entre 5 et 6 milliards d'euros.

Cette estimation ne prend en compte ni l'augmentation des coûts des actes médicaux, ni celle pourtant inéluctable de la prévalence de l'insuffisance rénale chronique en raison notamment de l'augmentation de la prévalence du diabète de type 2 à laquelle sont

⁴⁹ Point d'information de l'assurance maladie du 9 mars 2010 – « L'insuffisance rénale chronique en France : situation actuelle et enjeux ».

confrontés la plupart des pays développés⁵⁰.

Modalité de traitement	Montants moyens de prise en charge
Dialyse péritonéale	64 450 €
Hémodialyse	88 608 €
Greffe du rein dans l'année	86 471 €
Suivi de greffe du rein	20 147 €

Tableau 2. Montants moyens de prise en charge du malade selon la modalité de traitement⁵²

Modalité de traitement	Coûts totaux
Dialyse péritonéale	194 millions d'euros
Hémodialyse	3,08 milliards d'euros
Greffe du rein dans l'année	248 millions d'euros
Suivi de greffe du rein	502 millions d'euros

Tableau 3. Coûts totaux tous régimes (2007)⁵²

2012 en quelques chiffres⁵¹, c'est :

- **17 627** malades dans l'attente d'une greffe.
- **5023** greffes réalisées, soit 28, 5% seulement de patient transplantées.
- **12000** patients toujours dans l'attente d'une greffe.
- **3301** donneurs en état de mort encéphalique recensés.
- **1589** donneurs en état de mort encéphalique prélevés soit seulement environ 50%
- **34%** d'opposition aux prélèvements
- **54.5 ans** de moyenne d'âge pour un donneur.

Au vu de ces chiffres, il est très facile de comprendre les enjeux présents pour les patients et les équipes médicales tant pour améliorer le prélèvement et diminuer ainsi au maximum l'incidence des rejets⁵².

⁵⁰ HAS. Évaluation médico-économique des stratégies de prise en charge de l'insuffisance rénale en France. 2010

⁵¹ Agence de Biomédecine. Plan greffe 2012-2016.

⁵² Rapport annuel 2012 de l'Agence de la biomédecine.

B. INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE

1. EPIDEMIOLOGIE

En 2011, en France, environ 9400 patients au stade 5 ont commencé un traitement par dialyse et 335 personnes ont reçu une greffe rénale sans avoir subi de dialyse au préalable. Les comorbidités les plus fréquentes associées sont le diabète avec une incidence de 41% ainsi que les comorbidités cardio-vasculaires, supérieure à 50%. Au 31 décembre 2011, on dénombre 70 700 personnes sous traitement de suppléance dont 56% en dialyse et 44% sous greffon. Au 31 décembre 2012, 9 835 patients sont sur liste d'attente pour un greffon, tandis que 3044 patients ont été greffés au cours de l'année et 211 patients sont décédés dans l'attente d'un greffon⁵².

2. ETIOLOGIES

Les 2 étiologies les plus fréquentes sont les néphropathies diabétiques ainsi que les hypertensions.

Maladie rénale initiale	Total (en %)	Hommes (%)	Femmes (%)
Glomérulonéphrite primitive	11.0	12.6	8.3
Pyélonéphrite	4.6	4.4	4.8
Polykystose	6.2	5.6	7.4
Néphropathie diabétique	21.8	20.6	23.9
Hypertension	24.4	26.4	21.0
Vasculaire	1.1	1.1	0.9
Autre	15.6	14.3	17.8
Inconnu	15.3	15.0	15.9

Tableau 4. Etiologies les plus rencontrées dans l'insuffisance rénale (Agence biomédecine)

L'hypertension artérielle est la première cause d'Insuffisance Rénale Terminale, suivi par les diabètes de types 1 et 2. Le diagnostic de l'étiologie de l'insuffisance rénale est

primordial car certaines sont réversibles et peuvent être traitées si elles sont prises en charges dans les temps.

3. DIAGNOSTIC

L'insuffisance rénale est une pathologie, souvent progressive, entraînant une perte des fonctions d'épuration et des fonctions métaboliques du rein. Elle est caractérisée par une baisse de la fonction de filtration glomérulaire en rapport avec la disparition progressive du nombre de néphrons qui sont les unités fonctionnelles du rein. Cette pathologie évolue jusqu'à un stade terminal nécessitant la mise en place d'un traitement de suppléance. Les patients atteints d'une insuffisance rénale sont classés selon des recommandations officielles qui se basent sur 2 échelles, soit la classification de l'ANAES⁵³, soit celle de la National Kidney Foundation. L'insuffisance rénale terminale, stade 4 ou 5 selon l'échelle, est définie par un Débit de Filtration Glomérulaire (DFG) <15ml/min/1.73m². Il n'existe que deux traitements possibles⁵⁴:

- La dialyse, épuration extra-rénale
- Ou la transplantation rénale, seul traitement curatif.

Classification selon l'ANAES			Classification selon les K/DOQI		
Stade	Description	DFG (ml/min/1.73m ²)	Stade	Description	GFR (ml/min/1.73m ²)
1	Maladie rénale chronique* avec DFG ≥ 60	≥ 60	1	Kidney damage† with normal or ↑ GFR	≥ 90
			2	Kidney damage with mild or ↓ GFR	60-89
2	IRC modérée	30-59	3	Moderate ↓ GFR	30-59
3	IRC sévère	15-29	4	Severe ↓ GFR	15-29
4	IRC terminale	<15 ou traitement de suppléance	5	Kidney failure	<15 ou dialyse

Tableau 5. Classification en stades de la maladie rénale chronique selon les recommandations 2002 de l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES) et de la National Kidney Foundation (K/DOQI)

⁵³ Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. Recommandations pour la pratique clinique. Diagnostic de l'insuffisance rénale chronique chez l'adulte. (2002).

⁵⁴ K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease evaluation classification and stratification. National Kidney Foundation. Am J. Kidney Dis. 51-266. (2002)

DFG : débit de filtration glomérulaire

* Maladie rénale chronique définie par la persistance pendant plus de 3 mois d'anomalies rénales biologiques et/ou histologiques et/ou morphologiques

† Atteinte rénale définie par la présence pendant plus de 3 mois d'anomalies histologiques ou biologiques sanguines ou urinaires ou morphologiques

C. TRANSPLANTATION RENALE

1. EPIDEMIOLOGIE

La demande en greffons augmente tous les ans. Bien que le nombre de greffés par an augmente la liste d'attente grandie tous les ans.⁵²

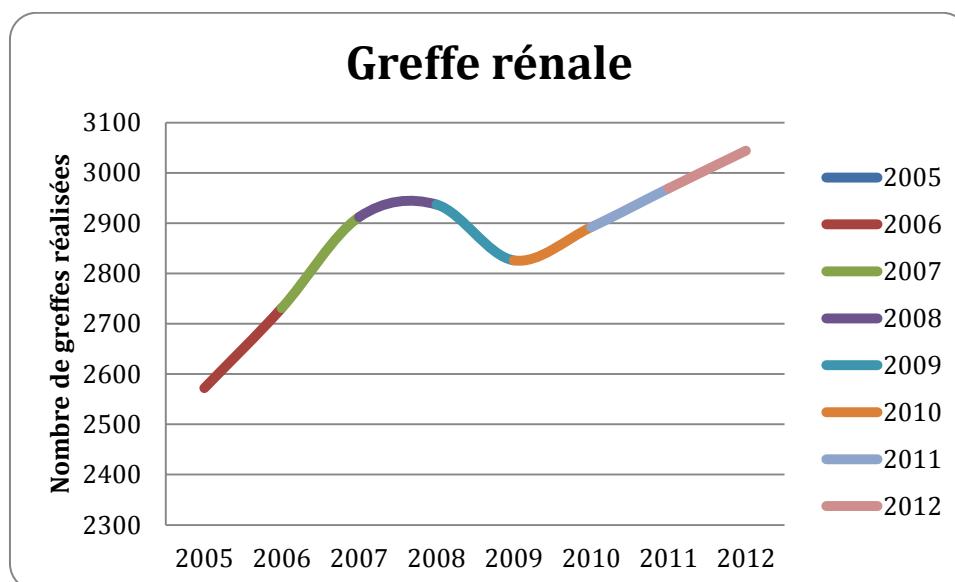


Tableau 6. Evolution du nombre de greffés rénaux au cours du temps

Au premier janvier 2012, 9064 patients étaient encore dans l'attente d'une greffe de rein. 4265 patients se sont inscrits sur la liste d'attente durant l'année 2012. Durant le courant de l'année les équipes de professionnels de santé ont greffé 3044 patients dont 357 à partir d'un donneur vivant. Ces chiffres nous montrent qu'il y a une nécessité importante d'élargir le pool des donneurs afin de faire face à la demande (DDAC, recul de l'âge)⁵². Il est nécessaire de trouver de nouvelles solutions pour améliorer l'ajustement donneur/receveur. Certaines solutions ont été adoptées récemment comme par exemple, l'utilisation de greffon à critères élargis (donneurs marginaux), développement de la greffe à partir de donneurs vivants et DDAC.

Au cours de l'année, 211 patients sont décédés dans l'attente d'une greffe.

Au 31 décembre 2012, 9835 patients restent dans l'attente d'une greffe, soit une augmentation de 8% par rapport à début 2012. 33 298 patients portent un greffon fonctionnel début 2013. Pour faire face à ces nouvelles demandes des critères élargis ont été définis par l'United Network for Organ Sharing (UNOS) qui sont définis comme suit :

- Donneurs de 60 ans et plus et ceux de 50 à 59 ans avec au moins deux facteurs de risque associés parmi les trois suivants :
 - un décès de cause cérébro-vasculaire,
 - un antécédent d'hypertension artérielle
 - une créatinine supérieure à 150 $\mu\text{mol/l}$ lors du prélèvement

2. SELECTION DES DONNEURS

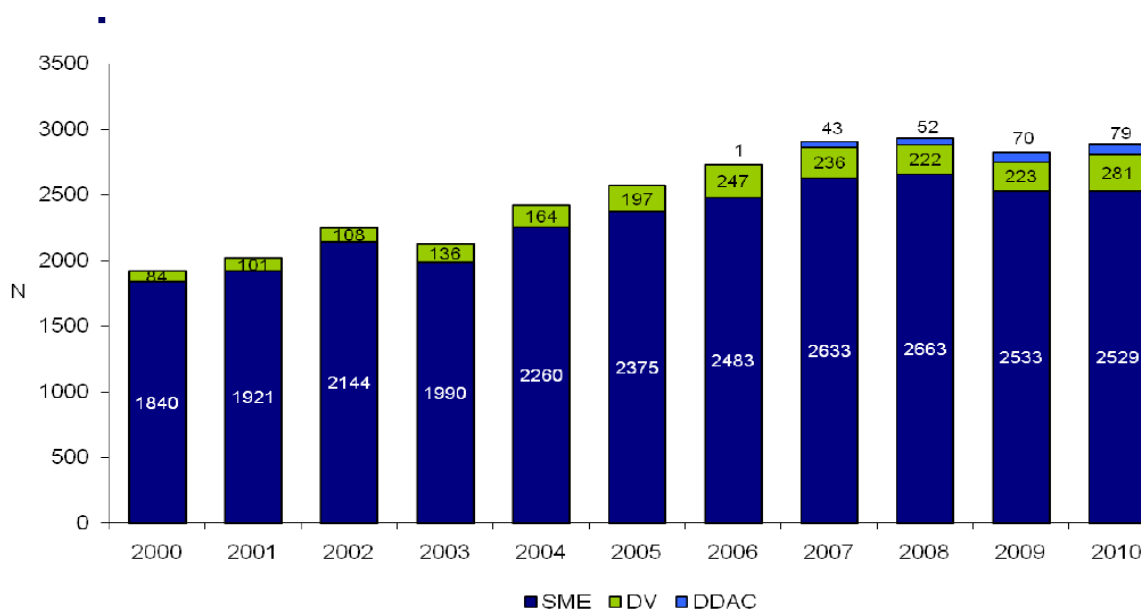


Figure 8. Evolution de la greffe rénale selon le type de donneur

Il existe 3 types de donneurs possible pour la transplantation. Le graphique ci-dessus⁵⁵ nous indique la répartition entre ces trois classes de donneurs que sont le Sujet en Mort Encéphalique (SME), les Donneurs Vivants (DV) suivi par finir des Donneurs Décédés par Arrêt Cardiaque (DDAC). Nous pouvons observer que la répartition n'est pas uniforme, et que les SME représentent la plus grande majorité de l'origine des greffons. Le diagnostic d'un SME est encadré par la loi (Décret 96-1041 du 2 décembre 1996,

⁵⁵ Agence de la Biomédecine. DIU de néphrologie pédiatrique. La greffe rénale quel donneur pour quel receveur ? 2010-2011.

circulaire DGS/SQ4 n°96-733 du 4 décembre 1996 et les articles L-671-7, L671-10, L672-6).

a. Le sujet en Mort Encéphalique est défini comme suit^{56 57}:

Clinique

- Absence totale de conscience et d'activité motrice spontanée
- Absence de ventilation spontanée
- Abolition de tous les réflexes du tronc cérébral

Confirmer par le caractère irréversible par :

- 2 EEG nuls et aréactifs à 4h d'écarts
- Angiographie

Le diagnostic de mort encéphalique doit être effectué par 2 médecins d'unité distincte contrairement au diagnostic de mort par arrêt cardiaque qui peut être réalisé par 1 seul médecin. Ci-dessous est représentée l'évolution des Sujets en Mort Encéphalique :

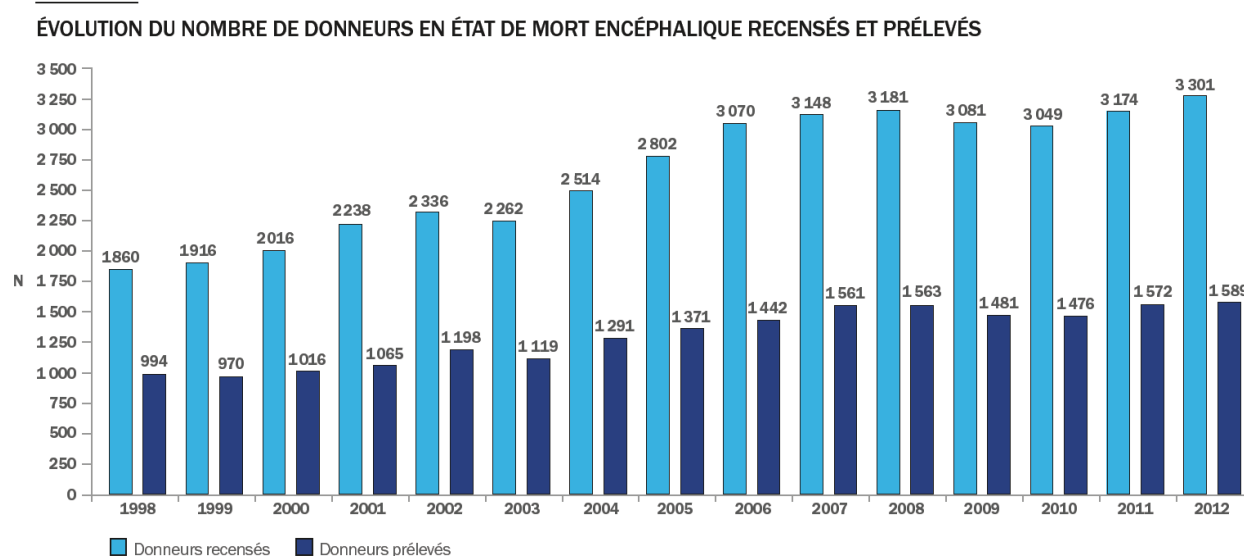


Figure 9. Evolution du nombre de donneurs en état de mort encéphalique recensés et prélevés⁵²

b. Donneurs Décédés par Arrêt Cardiaque⁵¹

Le prélèvement de greffons à partir de donneurs décédés par arrêt cardiaque était peu pratiqué jusqu'à présent en France, car les greffes étaient plus coûteuses, avaient une

⁵⁶ Décret Conseil d'Etat 2 décembre 1996

⁵⁷ Conférence d'expert. Recommandations de bonnes pratiques 1998.

survie moins importantes que les greffes faites à partir de SME et un taux plus élevé de retard de reprise. En France le décret de 2005 n'autorise à effectuer des prélèvements que sur les DDAC « non contrôlés », soit des donneurs appartenant à la catégorie I ou II.

<i>Donneurs non contrôlés</i>	<i>Donneurs contrôlés</i>
<u>Catégorie I :</u> personnes qui font un arrêt cardiaque en dehors de tout contexte de prise en charge médicalisée et pour lesquelles le prélèvement d'organes ne pourra être envisagé que si la mise en œuvre de gestes de réanimation de qualité a été réalisée moins de trente minutes après l'arrêt cardiaque	<u>Catégorie III :</u> personnes pour lesquelles la mort survient dans les suites d'une décision d'arrêt de traitements en réanimation
<u>Catégorie II :</u> personnes qui font un arrêt cardiaque en présence de secours qualifiés, aptes à réaliser un massage cardiaque et une ventilation mécanique efficaces, mais dont la réanimation ne permettra pas une récupération hémodynamique.	<u>Catégorie IV :</u> personnes en mort encéphalique

Tableau 7. Définition des donneurs contrôlés et non contrôlés⁵⁸

Désormais, le taux de survie des greffons à moyen et long terme et la fonctionnalité du greffon sont identiques entre les SME et DDAC. Ces résultats sont obtenus grâce à la sélection plus stricte des receveurs et des donneurs, le respect des délais de l'ischémie chaude et froide ainsi que l'apparition de nouvelles thérapeutiques dans la prise en charge du donneur^{59 60 61 62}.

⁵⁸ G. KOOTSTAR et al. (1995). Categories of non-heart-beating donors. *Transplant Proc*, **27** : 2893-2894.

⁵⁹ S. GAGANDEEP et al. (2006). Expanding the donor kidney pool : utility of renal allografts procured in a setting of uncontrolled cardiac death. *AM J Transplant*, **6** : 1682-1688.

⁶⁰ NV. BROOK et al. (2003). None heart beating kidney donation : current practice and feature developments. *Kidney Int*, **63** : 1516-1529.

⁶¹ C. KOKKINOS et al. (2007). Outcome of kidney transplantation from non heart-beating versus heart-beating cadaveric donors. *Transplantation*, **83**: 1193-1199.

⁶² YW. CHO et al. (1998). The newtransplantation of kidneys from donors whose hearts have stopped beating. *N Engl J Med*, **338**, **4** : 221-225

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Donneurs recensés	1	78	122	108	121	122	119
Donneurs prélevés	1	39	47	62	62	58	53
Greffes de rein	1	43	52	71	79	66	81
Greffes de foie	-	-	-	-	3	5	3

Tableau 8. Evolution du prélèvement et de la greffe à partir de donneurs décédés après arrêt cardiaque

c. Donneurs Vivants

Chez un donneur vivant, l'enjeu est multiplié car il ne faut pas risquer la vie du donneur. De nombreux tests sont mis en place pour évaluer dans un premier temps la compatibilité entre le donneur et le receveur (typage HLA, Groupe sanguin, cross match entre donneur et receveur) qui est suivi d'un bilan rénal complet (dosage de la créatinémie, protéinurie, évaluation de la morphologie du rein et de sa fonctionnalité...). Pour terminer, il est important d'évaluer les pathologies potentielles pouvant survenir chez le donneur^{63 64 65}.

3. SELECTION DES RECEVEURS

Avant une greffe, il est primordial d'évaluer et de préparer le receveur afin d'augmenter les chances de succès de la transplantation. Tout d'abord, le receveur se verra informé des risques encourus lors de la transplantation et sera évalué sur sa motivation ainsi que sa compliance au traitement.

En suite, le dossier médical est étudié en détail dans le but de rechercher des facteurs pouvant éventuellement compliquer la greffe. Un examen complet est réalisé et un bilan est effectué sur :

- Age physiologique du patient
- Les facteurs de risques vasculaires
- Les antécédents infectieux, hépatiques
- Les antécédents psychiatriques
- Les antécédents chirurgicaux
- Les allergies connus à certains médicaments

⁶³ Evaluation and selection of donors :living kidney donors. *Nephrol Dial Transplant*, 2000, 15 (Suppl.7) : 47-51

⁶⁴ Recommandations formalisées d'experts sur le prélèvements et la greffe à partir de donneurs vivants. Paris Editions MEDITEXT, 2009.

⁶⁵ (2008). The declaration of Istanbul on Organ trafficking and transplant tourism. *Transplantation*, **86** : 1013-1018

Pour finir, afin d'évaluer la compatibilité donneur/receveur, un examen immunologique est mené sur le patient avec⁶⁶ :

- Identification du système érythrocytaire ABO
- Compatibilité HLA
- Anticorps anti-HLA lymphocytotoxiques
- Définir si le patient a déjà subi une transfusion, greffe ou grossesse afin de déterminer s'il y a la possibilité d'une immunisation

Ces examens sont réalisés à différents moments chez le patient selon le contexte. Ces explorations ont pour objectif de prévenir le rejet de greffe ainsi que de prévenir les

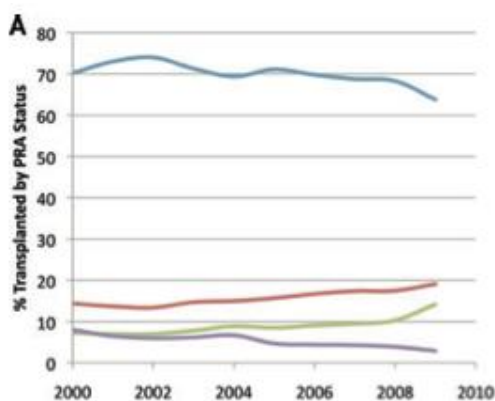


Figure 11. Taux de greffes effectuées à partir de donneurs vivants⁶⁷

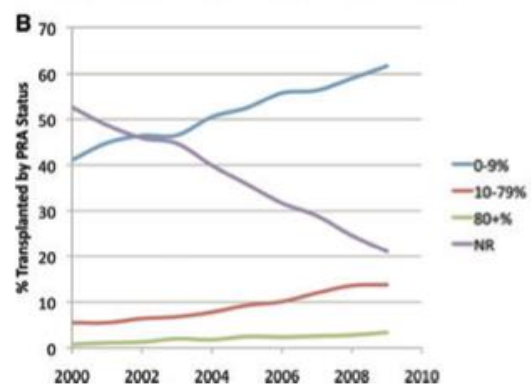


Figure 10. Taux d'organes transplantés à des patients immunisés à partir de donneurs décédés⁶⁷

infections post-greffes. Ils peuvent être pratiqués dans le cadre d'une identification, pour un dépistage ou bien pour évaluer le panel de la population compatible.

Ces examens immunologiques permettent de définir le patient comme un patient naïf, immunisé ou hyperimmunisé. Un patient est considéré immunisé dès lors qu'un anticorps dirigés contre une molécule HLA que soit HLA de classe I ou HLA de classe II est détecté. Si le score TGI est supérieur à 85%, le patient est quant à lui considéré comme hyperimmunisé. Cette population de patient a un accès à la greffe très compliqué et son prioritaire sur les greffons compatibles avec leur profil HLA⁶⁷.

Certaines études montrent que les patients immunisés ont un temps d'accès à la greffe plus important que les autres receveurs. Le graphique ci-dessous montre que sur 95 000 donneurs décédés moins de 20% des organes ont été transplantés à des patients

⁶⁶ ME. ROLAND et al. (2003). Review of solid organ transplantation in HIV-infected patients. *Transplantation*. **75** : 425-9

⁶⁷ SC. JORDAN et al. (2011). Clinical Aspects of Intravenous Immunoglobulin Use in Solid Organ Transplant Recipients. **11** : 196-202.

hyperimmunisés. En B, le graphique représente le taux de greffe transplantés à partir de donneurs vivants.

En France, il est possible de faire un constat identique quant à l'accès à la greffe.

4. DETECTION/MONITORING/CROSS MATCH DES ANTICORPS ANTI-HLA⁶⁸

Les anticorps anti-HLA sont généralement des allo anticorps immuns qui apparaissent suite à certaines situations immunogènes antérieures telles que:

- Une transfusion
- Une grossesse
- Une greffe

Il existe différentes techniques de détection et de monitoring des anticorps anti-HLA. Le principe général de ces techniques est de rapprocher les lymphocytes du donneur avec le sérum du receveur dans le but de déterminer si le receveur possède des anticorps DSA contre le donneur. Il existe 3 grandes méthodes utilisées que sont :

a. Technique du CDC (Complément Dépendant) ou LCT (Lymphocytotoxicité)

A l'aide d'un panel choisi de la population caucasienne (France) l'objectif de ce test est de mettre en évidence la présence d'anticorps anti-HLA par une réaction cytotoxique dépendante. Il faut mettre en présence le sérum du receveur avec des lymphocytes du donneur, et rajouter le complément. Si l'anticorps se fixe sur le lymphocyte du donneur, la liaison anticorps-antigène va recruter le complément et activé la lyse du lymphocyte.

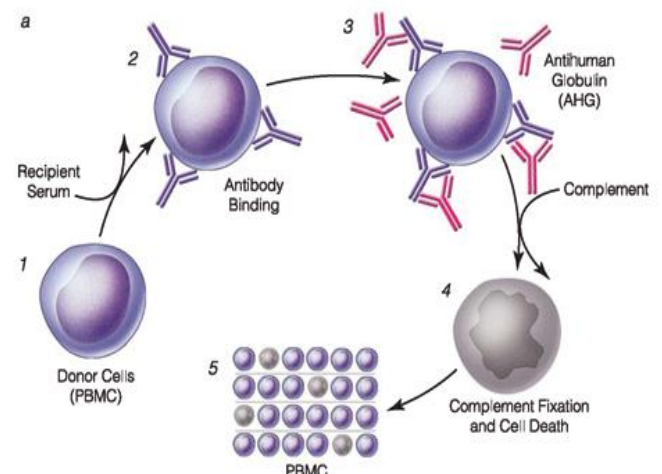


Figure 12. Technique LCT

La LCT est utilisée pour le suivi du patient afin de:

- Identifier la ou les molécules HLA reconnues par les Ac sériques

⁶⁸ C. LEFAUCHEUR et al. (2014). Système HLA et transplantation.

- Mettre en évidence les Ac responsables
- Quantifier l'immunisation vis à vis de la population générale
- Identifier l'isotype responsable de l'immunisation IgG ou IgM

Mais la LCT est aussi utilisée au moment de la greffe pour le Cross Match (CM). C'est la méthode de référence actuellement. Elle permet de mettre en évidence les DSA.

b. Technique de cytométrie de flux

Le principe est identique à la LCT, le but étant de mettre en présence le sérum du receveur avec les lymphocytes du donneur. Cette méthode est peu employée dans le suivi mais est utilisée lors de la greffe pour faire le CM. L'avantage de cette technique étant qu'elle détecte les anticorps qui active le complément ainsi que les autres Ac sans pour autant détecter les IgM et a le mérite d'être plus sensible que la LCT.

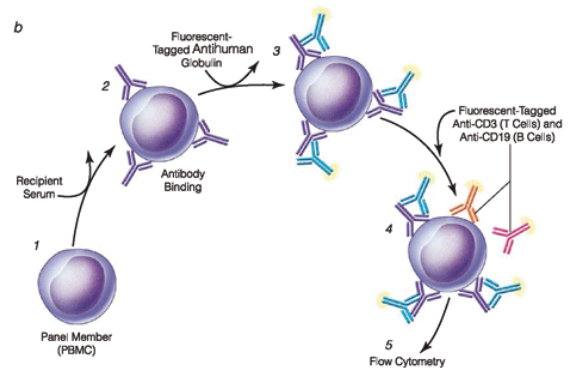


Figure 13. Technique par cytométrie en flux

c. Technique en phase solide : LUMINEX

Des billes sont recouvertes d'antigènes HLA différents et incubés avec le sérum du patient. A cette solution, est ajouté un anticorps animal fluorescent. Les microbilles sont passées devant un laser rouge qui excite les colorants présents dans chaque microbille et qui la définit. Quant au laser vert il stimule le groupement fluorophore rattaché à l'anticorps.

Les billes sont ensuite lavées et permettent de définir le profil du patient en fonction de la fluorescence. La méthode

« single antigen » est généralement utilisée chez les patients ayant un profil trop compliqué, étant considéré comme hyperimmunisé. Sur chaque bille n'est présent qu'un seul antigène HLA, ce qui permet de faire un profil précis du receveur. Cette méthode est généralement utilisée pour effectuer un dépistage ou pour identifier les spécificités des Ac contenus dans le sérum lors d'une réaction positive.



D. ACTEURS DE L'IMMUNITÉ

1. HLA⁶⁹

L'objectif de notre système immunitaire est d'identifier et d'éliminer les protéines du non-soi. Les antigènes microbiens qui essaient d'entrer dans l'organisme sont confrontés à la barrière physique que sont les muqueuses et la peau. Ces antigènes sont capturés par les cellules dendritiques présentes dans l'épithélium de surface sous leur forme immature. Ces CPA (cellules présentatrices de l'Antigène), en fixant l'antigène grâce à leur récepteur TOLL vont activer la sécrétion de cytokine, type IL1, TNF ce qui va entraîner la modification structurale de la cellule dendritique (CD) et la perte d'adhérence à la l'épithélium : celle-ci va exprimer un récepteur appelé CCR7, et va migrer par chimiotactisme vers les organes lymphoïdes par les vaisseaux lymphatiques. Au cours de ce processus de migration, les CD vont devenir matures, c'est-à-dire qu'elles seront capables de présenter aux lymphocytes T l'antigène.

a. Généralités^{70 71 72}

Les gènes du CMH sont présents sur le bras court du chromosome 6 chez l'être humain. Le CMH comporte trois régions qui sont plus riches en gènes :

- Une première région qui abrite les gènes de Classe 1 : HLA-A, B, C
- Une seconde région qui abrite les gènes de Classe 2 : HLA-DR, DQ et DP
- Une troisième région qui code pour des molécules du complément : C2, C4.

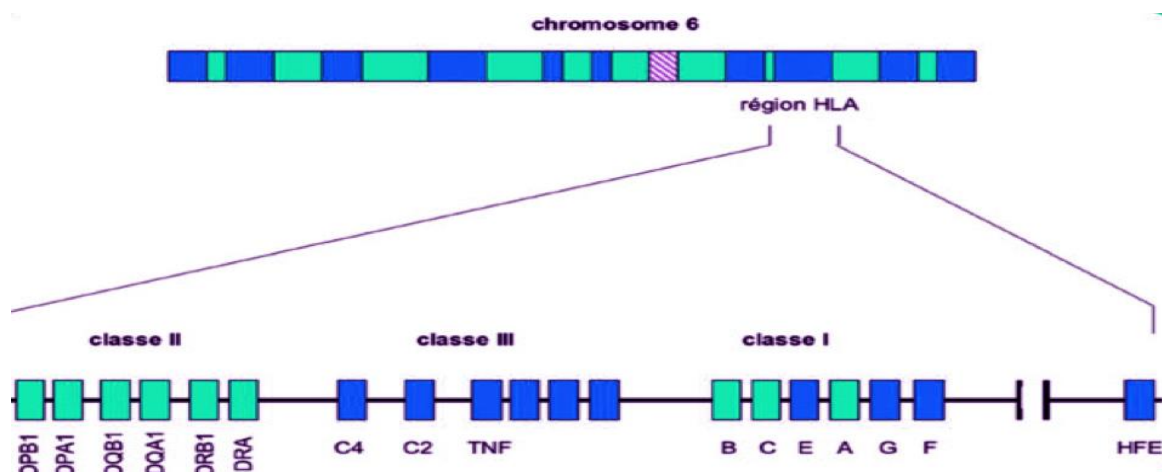


Figure 14. Gène HLA

⁶⁹ A. CESBRON et al. (2012) Système HLA In : *La transplantation rénale*. Lavoisier. Paris.

⁷⁰ AK. ABBAS et al. (2009) *Les bases de l'immunologie fondamentale clinique*. 3. Elsevier. Paris.

⁷¹ A. CESBRON et al. (2007). Le système HLA. *Encyclo Méd Chir*(Paris), Hématologie, 13-000-M53

⁷² M. HOURMANT et al. (2005). Frequency and clinical implications of development of donor specific and non donor specific HLA antibodies after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*, **16** : 2804-2812

Les molécules de classe II sont exprimées généralement à la surface de certaines CPA telles que les cellules dendritiques, les lymphocytes T et les macrophages. Quant aux molécules de classe I, celles-ci sont exprimées par l'ensemble des cellules nucléées. Selon l'origine du peptide, intracellulaire ou extracellulaire, la présentation de l'antigène sera réalisée par une des deux molécules HLA.

b. Structure^{70 71}

Les molécules de CMH sont codées par les gènes HLA. Au niveau de la structure, les molécules de classe I et II sont des hétérodimères constituées de 2 chaînes alpha et beta. Le schéma ci-dessous permet de représenter la différence de structure entre les deux classes :

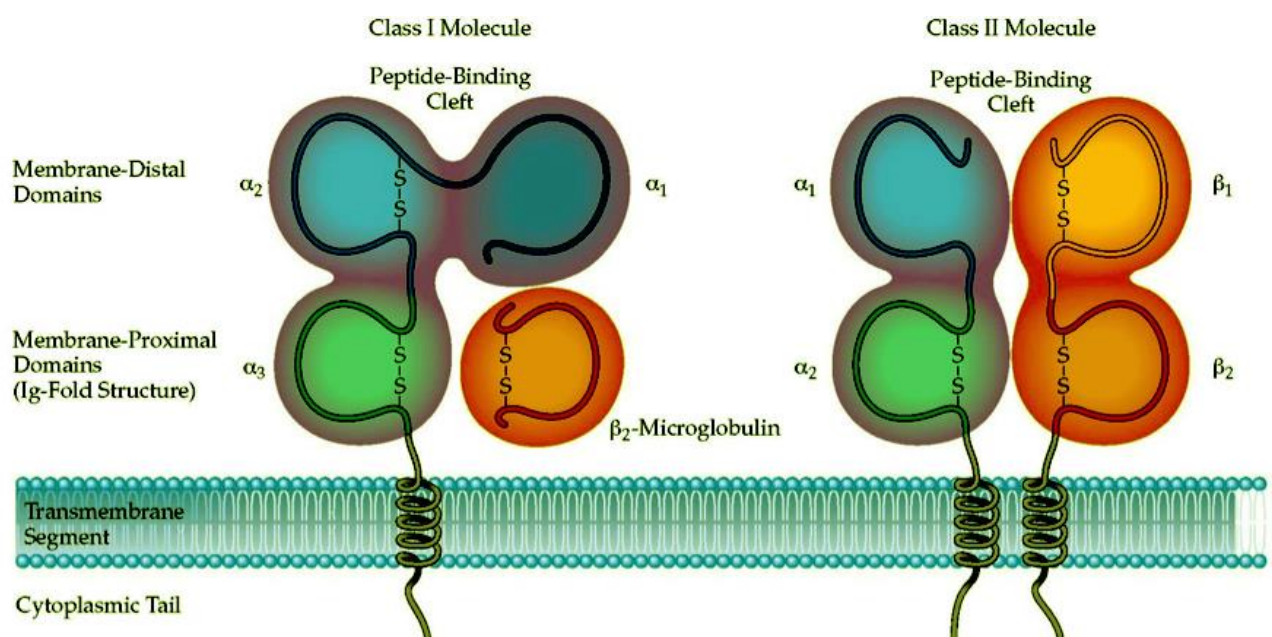


Figure 15. Structures schématiques des molécules HLA de classe I et de classe II

c. Fonction^{70 71 72}

Les lymphocytes T reconnaissent les peptides antigéniques lorsqu'ils sont associés aux molécules du CMH, Complexe Majeur d'Histocompatibilité. Les protéines du CMH chez l'homme portent le nom d'antigènes Leucocytaires Humains, HLA. Par exemple chez la souris les protéines s'appellent H2. Le CMH rassemble un ensemble de gènes présents chez les mammifères, mais qui codent pour des protéines différentes selon l'espèce. Les molécules du CMH sont des molécules qui sont présentes à la surface des CPA et qui ont pour rôle de présenter l'antigène aux lymphocytes T. Le CMH est l'un des principaux locus

géniques intervenant dans le succès d'une greffe. Plus le CMH de 2 individus est proche plus la greffe a des chances de fonctionner.

2. LES LYMPHOCYTES

a. Généralités ^{72 73 74}

Les lymphocytes T et B sont des acteurs de l'immunité adaptative, mécanisme immunitaire intervenant après la réponse immunitaire non spécifique, médiée par les polynucléaires neutrophiles et les monocytes/macrophages. Au sein de l'immunité spécifique, l'immunité cellulaire est assurée par les lymphocytes T4 et T8 et l'immunité humorale quant à elle est médiée par les lymphocytes B et immunoglobulines. Ils interviennent ensemble et de façon complémentaire, à des moments précis lors de la mise en place des réactions immunitaires. Lors de l'élaboration de la réponse immunitaire spécifique, les macrophages, les monocytes ou les cellules dendritiques (qui sont des cellules présentatrices de l'antigène) vont présenter l'antigène aux lymphocytes T4, à l'origine de lymphocytes T auxiliaires qui élaborent des cytokines aidant à la prolifération lymphocytaire B. Les anticorps sont alors synthétisés par les lymphocytes B, après leur différenciation en plasmocytes. Chaque cellule B produit un anticorps spécifique d'un seul antigène (réponse immunitaire humorale).

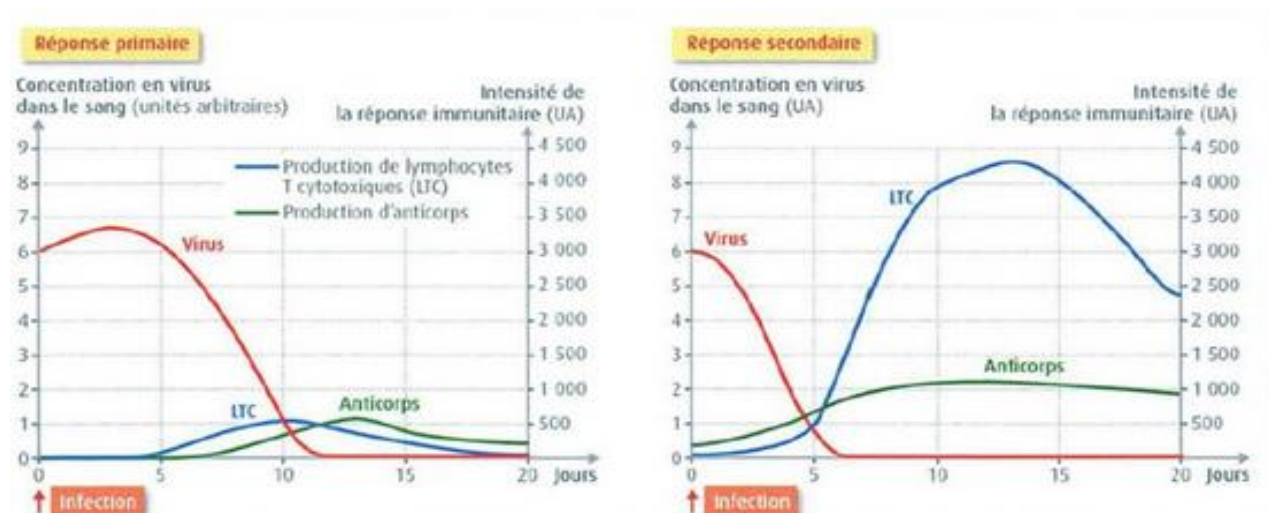


Figure 16. Adaptation de la réponse immunitaire

⁷³ N. DEGAUQUE et al. (2012). Récepteur des lymphocytes T et allo réactivité In : *La transplantation rénale*. Lavoisier. Paris.

⁷⁴ O. THAUNAT. (2012) Lymphocytes B et anticorps In : *La transplantation rénale*. Lavoisier. Paris.

b. Lymphocytes T

Structure du TCR

Les récepteurs TCR des lymphocytes T sont hétérodimères, et sont composés de chaînes Alpha ; beta ou gamma; delta. Ces récepteurs possèdent une partie intracellulaire, appelée Zeta. De part et d'autre du récepteur, est présent un complexe protéique CD3 impliqué dans l'interaction avec le CMH.

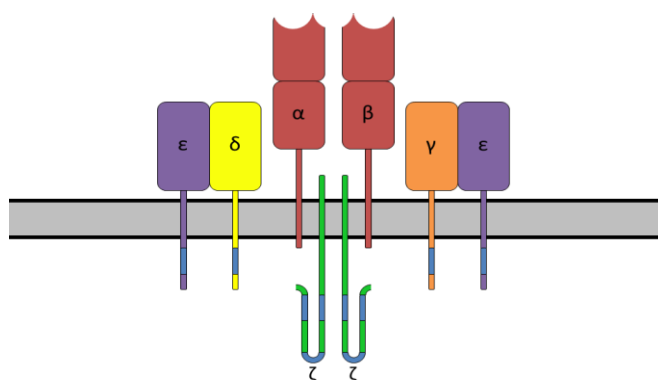


Figure 17. Structure du récepteur TCR

Au centre du complexe se situe le TCR entouré des co-récepteurs CD4 ou CD8. Après se trouve le complexe CD2 et la molécule de co-stimulation CD28 et à la périphérie, les molécules d'adhésion LFA-1 et ICAM-1 ainsi que les molécules CD45 et CD43.

Fonction^{75 76}

Les lymphocytes T reconnaissent les déterminants antigéniques présentés par les molécules du CMH et peuvent être modulateurs ou effecteurs. La fonction effectrice est effectuée par les lymphocytes T CD8+ impliqués dans la lyse cellulaire des cellules infectées ou les lymphocytes TCD4+ pouvant être responsables des réactions hyperallergiques. La fonction immunomodulatrice est surtout liée aux lymphocytes T helper qui sont capables de recruter des lymphocytes T CD8 ou l'activation des lymphocytes B en plasmocytes.

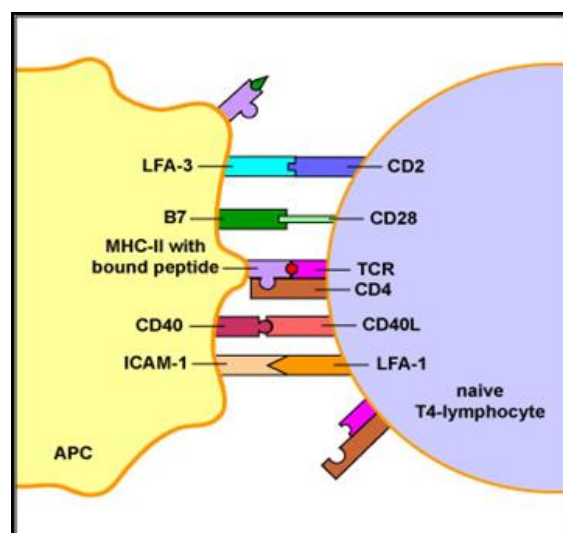


Figure 18. Synapse immunologique⁷⁶

⁷⁵ <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/25026/ch02.html>. Consulté le 08/08/14.

⁷⁶ <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/25026/ch02.html>. Consulté le 09/10/14.

c. Lymphocytes B

Structure

Vu dans chapitre précédent

Fonction

Vu dans le chapitre précédent

E. MECANISMES DE REJETS

L'immunité innée et l'immunité adaptative interviennent toutes les deux dans le rejet de greffe. Au sein de ce chapitre, nous ne détaillerons que l'immunité spécifique. Cependant bien que la réponse T adaptative soit le mécanisme principal du rejet d'allogreffe, il a été démontré que certains médiateurs pro inflammatoires précoces jouent un rôle incontournable dans ce rejet. L'inflammation est due à la réponse immune innée déclenchée par le stress tissulaire, des lésions causées lors du prélèvement du greffon et du phénomène d'ischémie/reperfusion. La décharge cytokinique est responsable de lésions sévères. Les PAMPS et DAMPS vont stimuler via le mécanisme de reconnaissance directe les cellules dendritiques du donneur qui vont migrer vers les organes lymphoïdes secondaires et stimuler les lymphocytes T secondaires. Les récepteurs (PRRs) des CD pouvant être impliqués dans ce processus de l'immunité innée sont :

- Toll-like Receptors
- NOD-Like Receptors
- RIG-Like Helicases
- Advanced glycosylation end product receptor
- Scavenger receptors
- Mannose Binding lectin⁷⁷

Ces récepteurs PRRs (Pattern Recognition Receptors) peuvent identifier des molécules telles que:

- Les Pathogen-Associated Molecular Patterns qui sont des ligands exogènes⁷⁸
- Les Damage-Associated Molecular Patterns qui sont des ligands endogènes⁷²

⁷⁷ KP. MOLLEN et al. (2006). Emerging paradigm: toll-like receptor 4-sentinel for the detection of tissue damage. *Shock* **26** : 430-437.

⁷⁸ CA. JANEWAY et al. (2002). Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*, **20** : 197-216.

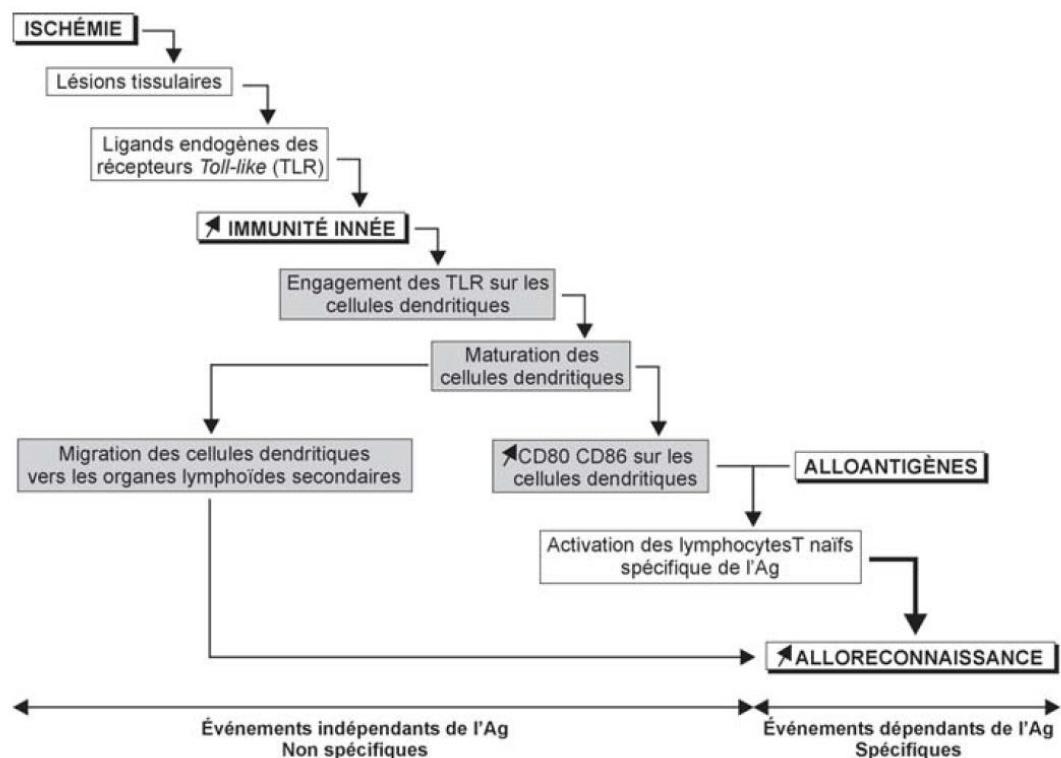


Figure 19. Relation entre réponse immune innée et adaptative en transplantation d'organe⁷⁹

1. LES DIFFERENTS TYPES DE REJETS

a. Rejet hyperaigu^{80 81}

Le rejet hyperaigu apparaît dans les minutes et heures qui suivent la transplantation. Ce rejet est généralement dû à des anticorps existants déjà contre le donneur suite à une immunisation soit par transfusion, transplantation ou bien une grossesse antérieure. Ces anticorps sont appelés DSA (Anticorps Spécifiques contre le Donneur). Ces anticorps sont dirigés soit contre le système HLA du donneur soit contre les groupes ABO, voir contre un autre antigène généralement basé sur la membrane endothéliale. Il est défini par une nécrose ischémique et par une thrombose des vaisseaux du greffon. Comme le schéma l'indique, l'anticorps du receveur se fixe sur un motif antigénique du donneur entraînant une destruction des cellules endothéliales du rein, qui va mettre à nue la lame basale. Ceci va entraîner l'activation de la cascade de coagulation. La meilleure méthode afin de prévenir ce type rejet, est la prévention grâce au test de cross match décrit en amont entre le donneur et le receveur.

⁷⁹ DF. LAROSA et al. (2007). The innate immune system in allograft rejection and tolerance. *J Immunol*, **178** : 7503-7509.

⁸⁰ J. CAI et al. (2005a). Humoral theory of transplantation: mechanism, prevention, and treatment. *Hum Immunol*, **66** : 334-342

⁸¹ J. CAI et al. (2005b). Human leukocyte antigen antibodies for monitoring transplant patients. *Surg Today*, **35** : 605-612

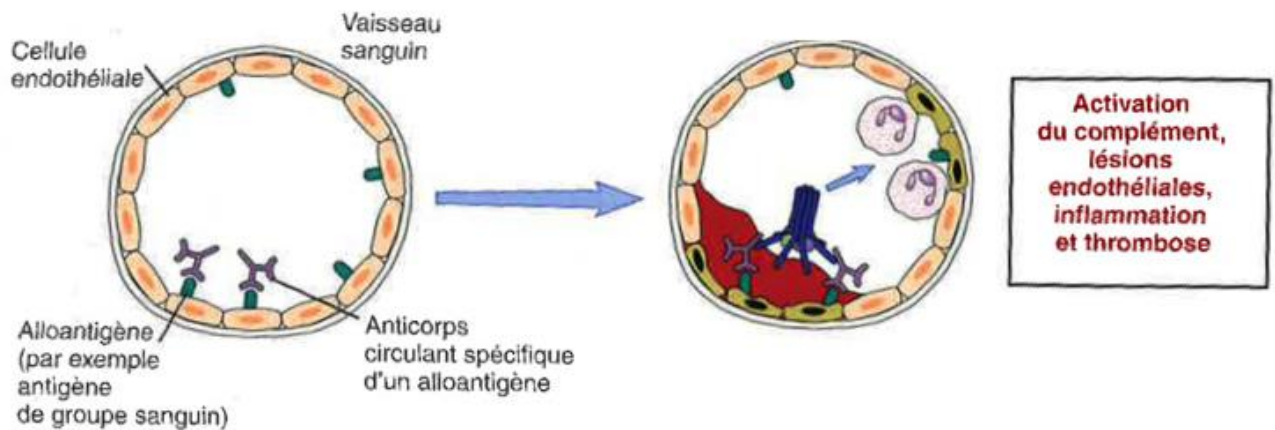


Figure 20. Rejet hyperaigu⁷⁰

b. Rejet Aigu⁸²

Le rejet aigu survient quelques jours à quelques semaines après la transplantation et survient souvent chez un patient immunisé. Dans le rejet aigu, le mécanisme de l'immunité humorale et de l'immunité cellulaire interviennent. Cliniquement, le rejet aigu n'est pas forcément symptomatique avec l'utilisation de la cyclosporine. Avant son utilisation, le patient pouvait présenter des symptômes tels que fièvre, douleur du greffon, hypertension ou malaise.

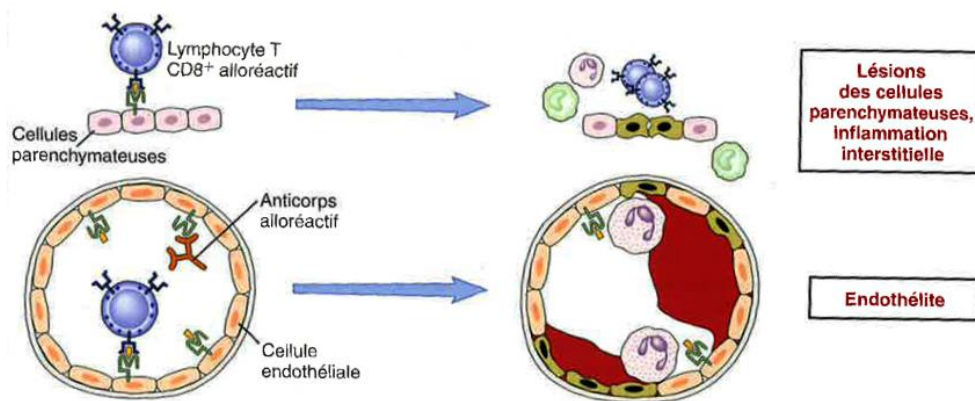


Figure 21. Rejet aigu⁷⁰

c. Dysfonction chronique

La dysfonction chronique se définit par une altération progressive du greffon sur plusieurs mois, voir plusieurs années. Cette dégradation silencieuse entraîne une perte fonctionnelle du greffon. Plusieurs étiologies peuvent être responsables d'une dysfonction chronique :

⁸² M. MARKS et al. (2006). Biologics in the prevention and treatment of graft rejection. *Springer Semin Immunopathol*, 27 : 457-476

- Facteurs dépendants de l'alloantigène : Immunosuppression insuffisante, Allo immunisation
- Facteurs indépendants de l'allo antigène : pathologies (diabète, hypertension), ischémie/reperfusion, lésions préexistantes, néphrotoxicité de certains traitements, âge du donneur...

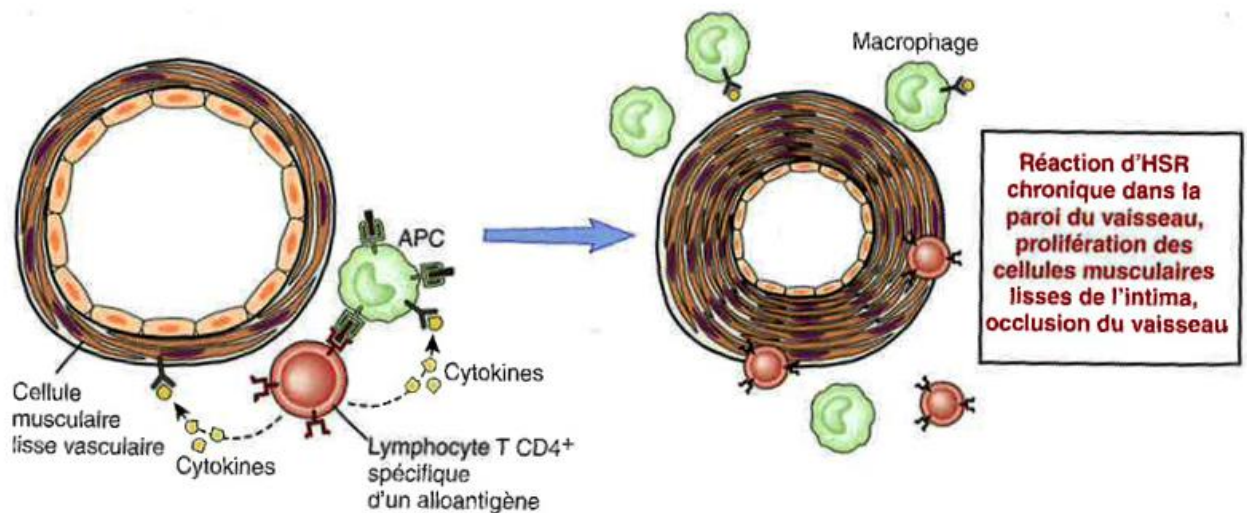


Figure 22. Dysfonction chronique⁷⁰

2 étapes sont présentes lors de la réaction immunitaire quand le patient est greffé :

- Tout d'abord, les antigènes du donneur vont être présentés aux lymphocytes T du receveur.
- Suite aux différents processus d'activation, les lymphocytes effecteurs sont recrutés dans l'organe cible.

2. MECANISME DE RECONNAISSANCE ALLOGENIQUE

La reconnaissance des alloantigènes par les lymphocytes T peut se faire par deux voies différentes non-exclusives :

- La reconnaissance directe (exclusive à la transplantation) : Cellule dendritique du donneur, lymphocytes du receveur, motif peptidique antigénique receveur
- La reconnaissance indirecte : cellule dendritique du receveur et lymphocytes receveur, motif peptidique antigénique receveur.

a. Reconnaissance directe⁸³

La première étape de la reconnaissance directe est la migration des cellules dendritiques du donneur présentent au niveau du greffon, par la lymphe jusqu'aux ganglions lymphatiques du receveur. Durant la migration des cellules dendritiques vers les organes lymphoïdes, les cellules dendritiques mûrissent et vont exprimer de façon importante à leur surface des molécules du CMH qui vont entrer en interaction avec les lymphocytes du receveur par leur récepteur TCR, permettant ainsi son activation et son expansion.

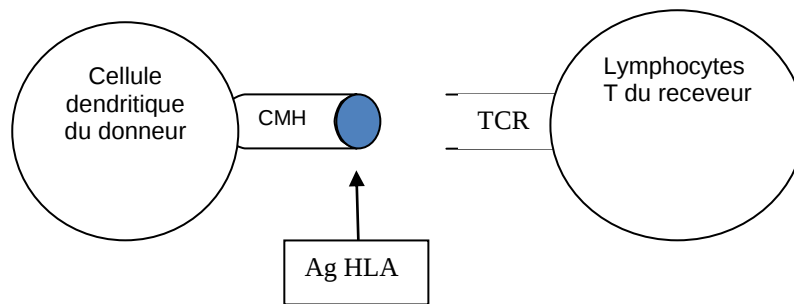
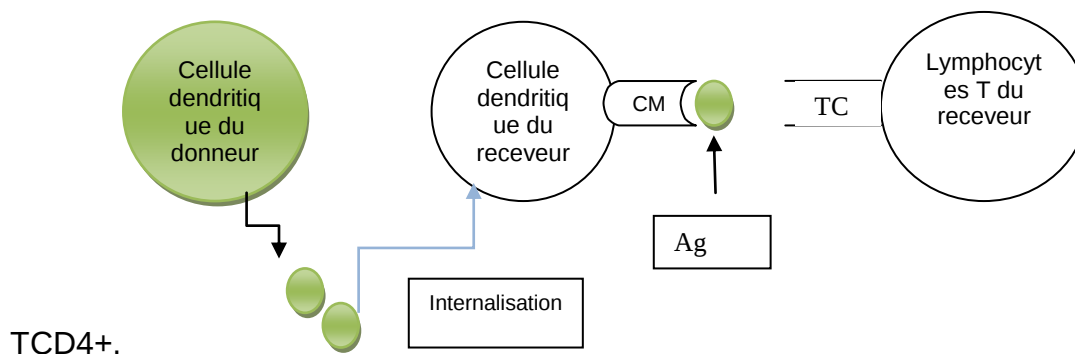


Figure 23. Principe de la reconnaissance directe

b. Reconnaissance indirecte⁸³

La reconnaissance indirecte n'est pas liée aux cellules dendritiques du donneur qui ont disparues, mais aux cellules du receveur. Les cellules dendritiques du receveur migrent vers le greffon, capturent des peptides allogéniques du HLA du donneur et les présentent via les molécules du CMH de classe II du soi aux lymphocytes



TCD4+.

Figure 24. Principe de la reconnaissance indirecte

⁸³ Réussir l'ECN. (2007). Néphrologie.3 :Ellipses Edition. Paris

3. LES REJETS CELLULAIRES

a. Mécanismes^{70 71 74 75}

Les lymphocytes sont les responsables du rejet du greffon. Leur activation est réalisée par trois signaux :

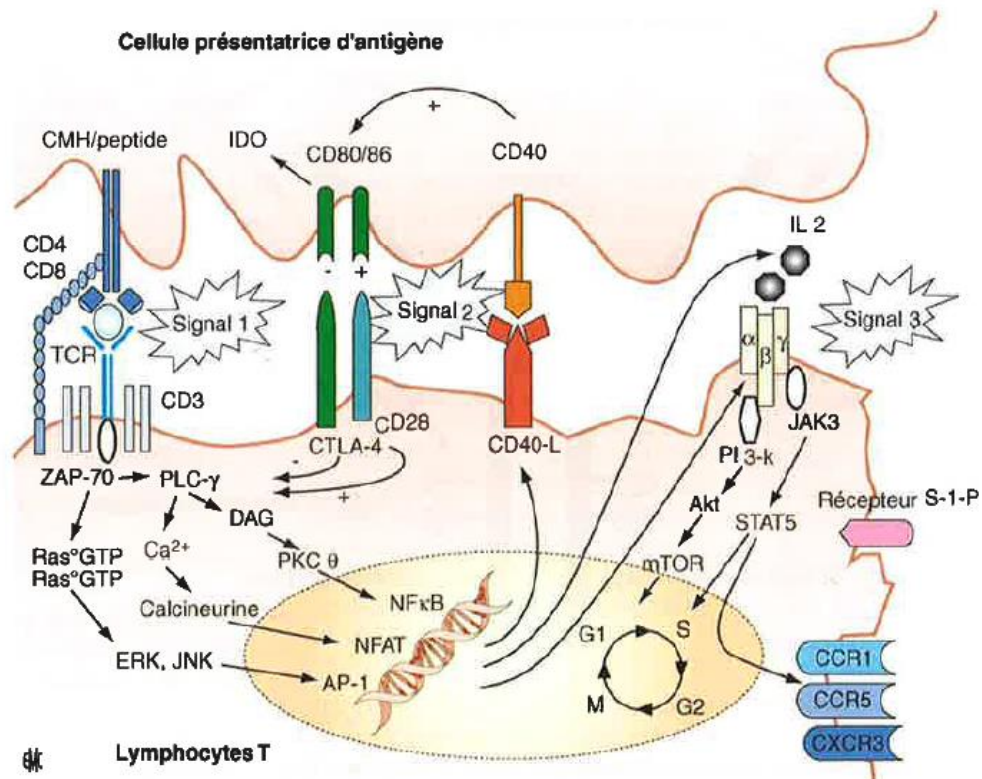


Figure 25. Représentation des différentes étapes de l'activation lymphocytaire T⁸⁴

- 1^{er} signal : Interaction entre le TCR et le CMH

Le lymphocyte T exprime à sa surface le TCR ainsi qu'un complexe protéique CD3. Ce complexe va reconnaître un très grand nombre de motifs antigéniques. L'interaction peptide-TCR va provoquer une cascade d'activation et sera le premier signal d'activation du lymphocyte T. Afin que ce premier signal fonctionne, il faut entre le complexe TCR-CMH une interaction prolongée et de forte intensité. Les co-récepteurs CD4 et CD8 interviennent dans le rôle de renforcer cette affinité et de stabiliser cette interaction CMH-TCR. Le TCR, associé avec le complexe CD3 émet un signal intracellulaire via les motifs ITAM. CD4 et CD8 sont associés à une tyrosine kinase qui va phosphoryler la partie intracellulaire du CD3. Cette phosphorylation entraîne l'activation d'une autre tyrosine kinase, la ZAP-70 qui va activer à son tour LAT. Cette protéine rassemble d'autres

⁸⁴ J. LEGENDRE et al.(2007). Immunosuppression en transplantation rénale. *Annales d'Urologie*. **41** :276-84.

protéines responsables de l'augmentation du calcium intracellulaire et du diacylglycerol (DAG).

L'augmentation du calcium intracellulaire active une phosphatase, la calcineurine, qui va déphosphoryler le facteur de transcription NFAT. Le DAG va activer la protéine Ras qui elle-même active le facteur de transcription AP1. DAG active aussi la kinase PKC θ , qui entraîne l'activation et la translocation nucléaire d'un autre facteur de transcription, NF- κ B. L'action conjointe de ces molécules est responsable notamment de la production de la cytokine IL-2, facteur de croissance majeur pour les lymphocytes T.

Ce premier signal n'est pas suffisant pour déclencher la différenciation et la prolifération des lymphocytes T.

- 2^{ème} signal : Signal de co-stimulation

Les cellules dendritiques dans le ganglion expriment faiblement les molécules CD80, CD86 et CD40 à leur surface. Celles-ci sont reconnues par le récepteur CD28 exprimé par les lymphocytes T. L'interaction entre le CD28 et l'une de ces 2 molécules implique l'expression du CD40-Ligand (CD154) à la surface du lymphocyte T. L'interaction avec le CD40, exprimé sur les CD, induit une augmentation de l'expression des récepteurs CD80/CD86, ce qui va renforcer le signal induit par CD28. Une boucle positive d'activation s'établit et induit une forte prolifération des lymphocytes T spécifiques de l'antigène initialement reconnu.

- 3^{ème} signal :

Les signaux de costimulation d'activation lymphocytaire convergent vers mTOR («mammalian target of rapamycin»). L'action conjointe des signaux délivrés par le TCR et de la kinase mTOR, permet la progression du cycle cellulaire de la phase G0 à la phase G1 et l'activation du métabolisme nécessaire à la multiplication cellulaire.

Les gènes responsables de l'évolution du cycle cellulaire sont exprimés, ainsi que la cytokine IL-2 et son récepteur IL-2R, renforçant ainsi l'activation de mTOR.

En réponse aux signaux délivrés par CD28 et l'IL-2R, un complexe formé par mTOR et les protéines survivin et aurora B facilite alors l'expression de gènes impliqués dans la progression de la phase G1 à S du cycle cellulaire. Ainsi, l'activation de mTOR prévient l'anergie et induit la prolifération des lymphocytes T. La kinase mTOR joue également un rôle dans la différenciation fonctionnelle des lymphocytes T («troisième signal»).

b. Traitements⁸⁵

Traitement d'induction

Le traitement d'induction est un traitement mis en place en amont ou au moment de l'acte chirurgical afin de faciliter l'acceptation du greffon. En pratique, sont généralement utilisés dans les protocoles d'induction des anticorps monoclonaux (Thymoglobuline®), les anticorps inhibiteurs du récepteurs IL-2 (basiliximab SIMULECT®) et anticorps anti-CD3 (OKT-3 ORTHOCLONE®).

⁸⁵ CNHIM. (Février 2011). Place des Immunoglobulines humaines dans la prise en charge des rejets humoraux de la transplantation rénale.. XXX II, 1.

Mécanisme d'action	Classe pharmacologique	DCI/ Nom de marque
Inhibition ou modulation du premier signal	Anticalcineurine	Ciclosporine (NEOEAL®) Tacrolimus (PROGRAF®)
	Glucocorticoïde	Prednisolone (SOLUPRED®)
	Anticorps anti-CD3	OKT3=muromab (ORTHOCLONE®)
Inhibition ou modulation du second signal	Protéine recombinante anti-CD80/86	BELATACEPT®
Inhibition ou modulation du troisième signal	Anticorps anti récepteur de l'IL-2	Basiliximab (SIMULECT®)
	Inhibiteur de la m-Tor	Sirolimus (RAPAMUNE®) Everolimus (CERTICAN®)
Inhibition de la multiplication cellulaire	Antimétabolite	Azathioprine (IMUREL®)
	Inhibiteur de l'inosine monophosphate déshydrogénase	Mycophénolate mofétil (CELLCEPT®)
	Inhibiteur de la dihydroorate déshydrogénase	Léflunomide (ARAVA®)
Anticorps visant une déplétion cellulaire	Sérum antilymphocytaire	Immunoglobulines de lapin (THYMOGLOBULINE®)
	Anticorps anti-CD52	Alenuzumab (MABCAMPATH®)

Tableau 9. Traitements d'induction et d'entretien utilisés en prévention du rejet aigu⁸⁵

4. LES REJETS HUMORAUX

a. Mécanismes

Le mécanisme principal du rejet humoral est la fixation d'anticorps du receveur sur l'endothélium vasculaire du greffon. Ces anticorps activent le système du complément et provoquent une stimulation des cellules endothéliales qui vont alors sécréter des facteurs de coagulation favorisant l'adhérence des plaquettes. Ce phénomène va aboutir à la thrombose vasculaire jusqu'à l'infarctus du greffon avec des lésions ischémiques irréversibles pour l'organe. Ces anticorps sont généralement appelés DSA (Donneur Spécifique Anticorps) car ils sont dirigés contre le HLA du receveur. Leur présence peut être favorisé par des événements antérieurs d'allo immunisation tels que la grossesse, la transfusion ou une greffe antérieure. Le C4d, la fraction stable du C4, est produit lors de l'activation de la voie du complément. La cascade du complément est représentée sur schéma ci-dessous. Dans le rejet humoral d'un greffon rénal, les dépôts de C4d se localisent de manière spécifique dans les capillaires péri tubulaires interstitiels du cortex, au niveau des cellules endothéliales et/ou des membranes basales de ces capillaires^{86 87}.

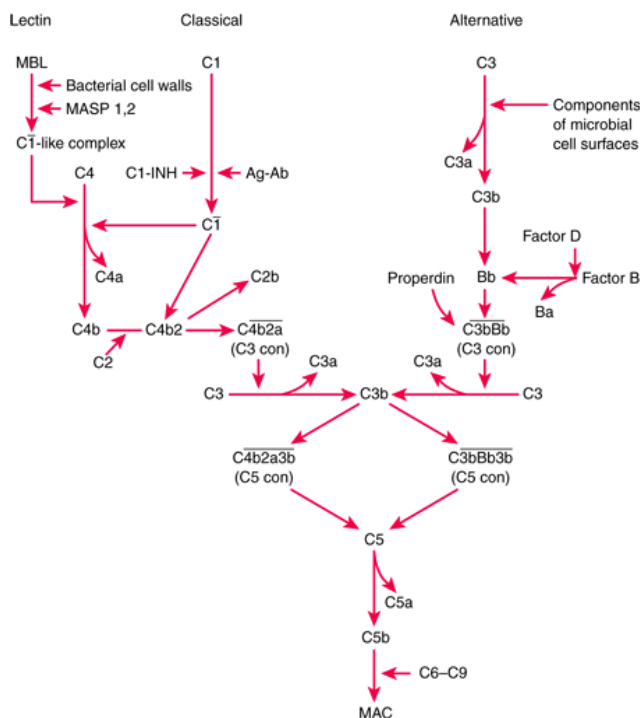


Figure 26. Schéma d'activation du complément⁸⁸

⁸⁶ AB. COLLINS et al. (2002). Complement activation in acute humoral renal allograft rejection :diagnostic signifiante of C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* ; **13** :1091-1009.

⁸⁷ JM. VAN DEN ELSEN et al. (2002). X-ray crystal structure of the C4d fragment of human complement component C4. *J Mol Bio*; **322**(5) :1103-15.

⁸⁸ http://www.merckmanuals.com/professional/immunology_allergic_disorders/biology_of_the Immune_System/complement_system.html#v992763. Consulté le 13/11/14.

b. Traitements

Elimination des anticorps circulants	La plasmaphérèse	
Suppression et déplétion des lymphocytes B	Anticorps Anti-CD20	Rituximab
Splénectomie	Chirurgical	
Action sur les plasmocytes		Bortezomib (VECLADE)
Suppression de la réponse induite par les lymphocytes T	Sérum antilymphocytaire de lapin ou de cheval	THYMOGLOBULINE ou LYMPHOGLOBULINE

Tableau 10. Traitements utilisés dans le rejet humoral⁸⁵

5. LES IMMUNOGLOBULINES

a. Mécanismes d'action

Les immunoglobulines sont utilisées dans de nombreuses pathologies auto-immunes et inflammatoires. Le mécanisme d'actions est mal connu et complexe⁸⁹.

Action 1 : Inhibition du complément

La fraction Fc des immunoglobulines se fixe sur les fragments C3b ou C4b et ainsi bloque leur dépôt sur les tissus, empêchant la création de la C5 convertase. Celle-ci, pour rappel est impliquée dans l'activation du complexe membranaire d'attaque^{90 91}.

Action 2 : Blocage fonctionnel des récepteurs Fc

Les immunoglobulines thérapeutiques en étant administrées, se fixeraient à la surface des lymphocytes B et inhiberaient la production d'immunoglobulines humaines. Elles exerceraient un rétro contrôle négatif^{92 93}.

⁸⁹ C. LEFAUCHEUR et al. (2008). Rejet aigu médié par anticorps. *Néphrologie & Thérapeutique*; **5** :188-191.

⁹⁰ M. BASTA et al. (1989). High dose intravenous immunoglobulin modifies complement mediated in vivo clearance. *Blood*; **74** :326-33.

⁹¹ M. BASTA et al. (1994). High Dose intravenous immunoglobulin exerts its beneficial effect in patients with dermatomyositis by blocking endomysial deposition of activated complement fragments. *J Clin Invest*; **94** :1729-35.

⁹² JM. DWYER. (1992). Manipulating the immune system with immune globulin. *N Engl J Med*; **326** : 107-16

⁹³ Y. SULTAN et al. (1984). Anti-idiotypic suppression of autoantibodies to factor VIII by high dose intravenous immunoglobulin. *Lancet* ;**2** :765-8.

Action 3 : Effets sur la production de cytokines

Les immunoglobulines peuvent agir sur la production de cytokines via les monocytes ou lymphocytes B.

Action 4 : Neutralisation d'auto anticorps et inhibition de leur sécrétion

Les immunoglobulines possèdent des épitopes capables de réagir avec des paratopes d'autres anticorps. De plus, dans les immunoglobulines thérapeutiques qui sont poolées, la probabilité est plus grande d'avoir des anticorps contre des autoanticorps.

Action 5 : Activation ou blocage fonctionnel du CD95 (récepteur de l'apoptose)^{94 95}

Les immunoglobulines se lient au récepteur Fas et activent ou inhibent l'apoptose de la cellule

Action 6 : Interaction avec les récepteurs pour les Fc⁹⁶

a. Saturation des FcR néonataux

Le FcR néonatal (FcRn) est exprimé par différentes cellules, dont les cellules endothéliales vasculaires. L'internalisation via le FcRn permet en effet de protéger les IgG sériques de la dégradation protéique en les isolant des voies lysosomales et en les recyclant dans la circulation. La saturation des FcRn, principalement à la surface des macrophages, par de fortes doses d'IgIV pourrait empêcher la fixation des auto-anticorps sur les FcRn et donc favoriser leur catabolisme.

b. Modification de la balance entre FcRn activateurs et inhibiteurs

Les IgG ont un contenu en oligosaccharides et en acide sialique variable. Le principe actif responsable de l'induction des FcRIIb inhibiteurs est représenté par une fraction d'IgG ayant seulement 10 % des IgIV ce qui explique pourquoi de fortes doses d'IgIV sont nécessaires pour obtenir une protection. A terme, des préparations enrichies en IgG sialylées ou l'utilisation de fragments Fc recombinants sialylés pourraient considérablement augmenter l'efficacité du traitement et permettre de s'affranchir de la collecte de plasma humain.

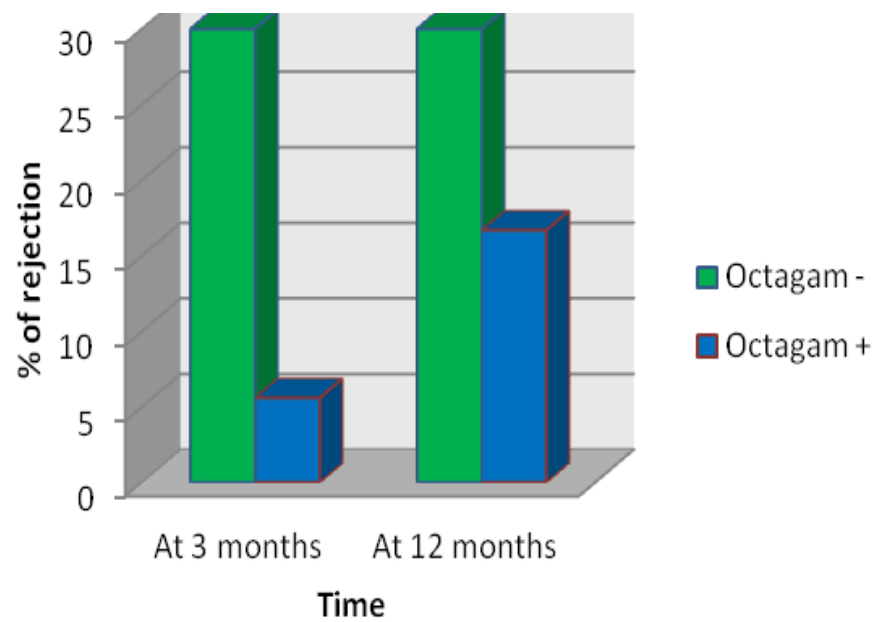
⁹⁴ I. VIARD et al. (1998). Inhibition of toxic epidermal necrolysis by blockade of CD95 with human intravenous immunoglobulin. *Science*; **282** : 490-3.

⁹⁵ NK PRASAD et al. (1998). Therapeutic preparations of normal polyspecific IgG (IvIG) induce apoptosis in human lymphocytes and monocytes : A novel mechanism of action of IvIG involving the Fas apoptic pathway. *J Immunol* ; **161** :3781-90.

⁹⁶ G. GORROCHOV et al. Les immunoglobulines polyvalentes.

<http://www.assim.refer.org/colleges/colleges/styled/files/page80-l3.11.igiv.pdf>. Consulté le 21/11/14.

III. GAM-FR02



A. CONTEXTE

La greffe de rein est le traitement de choix chez les patients atteints d'insuffisance rénale avancée⁹⁷. En dépit des progrès réalisés dans les techniques chirurgicales ainsi que dans la prévention et le contrôle des phénomènes de rejet, une atteinte de la fonction rénale dans les 6 mois après la transplantation reste possible. Plusieurs causes sont décrites:

- les épisodes de rejet aigu,
- la toxicité du traitement immunosuppresseur,
- une infection rénale,
- des anomalies des voies urinaires
- une rechute de la maladie rénale primitive⁹⁸.

Aux Etats-Unis, un épisode de rejet aigu a été décrit chez 35% des patients dans l'année suivant l'opération⁹⁹. Le rejet aigu est associé à une réduction de 20% du taux de survie du greffon, et la demi-vie des greffons est de 4 années plus courte chez les patients ayant présentés un épisode de rejet que chez ceux qui n'ont pas présenté de phénomène de rejet¹⁰⁰. Le rejet de greffe médié par des anticorps est une forme unique, importante, et souvent sévère de rejet d'allogreffe qui ne se traite pas avec un protocole standard de médicaments immunosuppresseurs. De plus, il est admis que les anticorps anti-HLA contribuent en continu à la détérioration de la greffe après la transplantation¹⁰¹. Au Canada, 32% des patients en attente de transplantation sont exclus de recevoir un rein d'un donneur vivant en raison de résultats positifs au test crossmatch¹⁰². De nouvelles méthodes permettent d'améliorer la sensibilité.¹⁰³

Sur la base des propriétés immunomodulatrices et anti-inflammatoires des IgIV in vitro et in vivo¹⁰⁴, à partir des résultats des essais, pour la plupart non-randomisées, des études ont été menées pour déterminer si les immunoglobulines intraveineuses pourraient

⁹⁷ PJ MORRIS. (1999). Renal transplantation. In: Ginns LC, Cosimi AB, Morris PJ, eds. Transplantation. Malden: *Blackwell Science*; 285-311.

⁹⁸ JP. SOULILLOU. (2001). Immune monitoring for rejection of kidney transplant. *New Engl J Med*; **344**(13):1006-1007.

⁹⁹ S. HARIHARAN et al. (2000). Improved graft survival after renal transplantation in the United States 1988 to 1996. *N Engl J Med*; **342**:605-612.

¹⁰⁰ JM. CECKA. The UNOS scientific renal transplant registry. In: Cecka JM, Terasaki PI, eds.

¹⁰¹ S. JORDAN. (2010). Advances in diagnosing and managing antibody-mediated rejection. *Ped. N* **25**:2035-2048 DOI 10.1007/s00467-009-1386-4.

¹⁰² A. ZEVI. (2006). HLA Antibody Analysis. Sensitivity, Specificity, and Clinical Significance in Solid Organ Transplantation. *Immunologic Research*; 36/**1-3**:255-264.

¹⁰³ AM. Harper et al. (2000). The UNOS OPTN waiting list, 1988-1998. In: Cecka JM, Terasaki PI, eds. Clinical transplants 1999. Los Angeles: UCLA Immunogenetics Center; 71-82.

¹⁰⁴ MD. KAZATCHKINE et al. (2001). Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin. *N Engl J Med*; **345**(10):747-755.

renforcer les mesures immunosuppressives existantes adoptées dans la transplantation et pourraient être efficaces, en particulier sur le rejet aigu médié par les anticorps^{46 105}.

- Un premier groupe d'essais a évalué l'utilisation des IgIV, combinées avec d'autres traitements (plasmaphérèse, rituximab) dans la prophylaxie des patients sensibilisés sur le niveau d'anticorps HLA et/ou le taux de rejet aigu^{106 107 108 109 110}.
- Un deuxième groupe d'essais a évalué l'efficacité des IgIV associées à d'autres traitements (plasmaphérèse, rituximab) dans le traitement du rejet aigu au niveau des anticorps anti-HLA et/ou la survie du greffon après le rejet aigu^{111 112 113}.

Les monothérapies utilisant le rituximab, la plasmaphérèse ou bien les IgIV seuls sembleraient moins efficaces dans la désensibilisation du patient immunisé et/ou dans la survie du greffon que les protocoles qui associent ces thérapeutiques^{114 115 116}.

Ces résultats ont orienté les recommandations canadiennes et françaises dans l'utilisation des IgIV pour réduire l'incidence du rejet humoral aigu chez les patients bénéficiant d'une transplantation rénale qui ont des anticorps spécifiques contre les donneurs^{46 117}. Par conséquent, en France, l'incidence des épisodes de rejet aigu est passé de 30% en 2002 à moins de 10-20% en 2011, avec l'utilisation de stratégies améliorées immunosuppressives⁴⁷.

Néanmoins, l'administration des IgIV a été associée à plusieurs effets indésirables, tels que la thrombose, l'anémie hémolytique, l'insuffisance rénale, et la méningite aseptique⁴⁶. L'événement indésirable le plus grave, une insuffisance rénale aiguë avec néphrose osmotique associée à une insuffisance rénale, a été attribué au saccharose utilisé comme

¹⁰⁵ Dossier du CNHIM XXXII, 1 Février 2011 2010;24(1Suppl1):S7-S19

¹⁰⁶ R. MONTGOMERY et al. (2000). Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match positive recipients. *Transplantation*; **70** (6) :887-895.

¹⁰⁷ S. JORDAN et al. (2004). Evaluation of Intravenous Immunoglobulin as an agent to Lower allosensitization and Improve Transplantation in Highly Sensitized Adult Patients with end-stage Renal disease: Report of the NIH IG02 Trial. *J Am Soc Nephrol*; **15**: 3256-62.

¹⁰⁸ A. VO et al. (2010). Use of Intravenous Immune Globulin and rituximab for desensitization of highly HLA-sensitized patients awaiting kidney transplantation. *Transplantation*; **89** (9) : 1095-102.

¹⁰⁹ D. ANGLICHEAU et al. (2007). Post-transplant prophylactic Intravenous Immunoglobulin in Kidney transplant Patients at High Immunological Risk: A pilot study. *Am J Transplant*; **7** (5): 1185-92.

¹¹⁰ D. GLOTZ et al. (2002). Desensitization and subsequent kidney transplantation of patients using intravenous immunoglobulins (IVIg). *Am J Transplant*; **2**(8):758-760.

¹¹¹ J. SLATINSKA et al. (2009). Plasmapheresis and Intravenous immunoglobulin in early antibody-mediated rejection of the renal allograft : a single-center experience. *Ther Apher Dial*; **13**(2): 108-12.

¹¹² R. LERICH et al. (2005). Intravenous immunoglobulin and Plasmapheresis in acute humoral rejection: experience in renal allograft transplantation. *Hum Immunol*; **66**(4) : 350-8.

¹¹³ C. LEFAUCHEUR et al. (2009). Comparison of combinaison Plasmapheresis/IVIg/Anti CD 20 vs high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am J Transplant*; **9** (5): 1099-107.

¹¹⁴ S. FERRARI-L et al. (2006). Anti-HLA antibody repertoire after IVIg infusion in highly sensitized patients waiting for kidney transplantation. *Sw Med Wkly*; **136**:696-702.

¹¹⁵ A. LOUPY et al. (2010). Combined post-transplant prophylactic IVIg/anti-CD 20/plasmapheresis in kidney recipients with performed donor-specific antibodies. A pilot study. *Transplantation* ; **89** (11): 1403-10.

¹¹⁶ V. ZARKHIN et al. (2008). A randomized, prospective trial of rituximab for acute rejection in Pediatric renal transplantation. *Am J Transplant*; **8**(12): 2607-17.

¹¹⁷ Référentiel national de bon usage des immunoglobulines IV. HAS, AFSAPS Mars 2011 .

stabilisateur osmotique dans plusieurs solutions d'IgIV, mais le risque relatif par rapport à des IgIV sans saccharose est inconnue¹¹⁸.

Le profil de tolérance des IgIV est bien connu et a été amélioré au cours des dernières années, à la suite de progrès constants dans les procédés de fabrication¹¹⁹.

Le bénéfice attendu, lors d'administration d'IgIV, est le renforcement de l'efficacité du traitement immunosuppresseur de base. Il faut se rappeler que les épisodes de rejet augmentent la fragilité de la greffe, en réduisant les fonctions de purification et la durée de vie du greffon bien qu'ils peuvent être traités de façon efficace. La prévention d'un épisode de rejet est donc préférable à son traitement.

Octagam[®] est une immunoglobuline humaine normale qui est soumise à deux étapes spécifiques d'élimination de virus et de désactivation, tel que recommandé par les autorités européennes de la santé¹²⁰. Dans une étude de pharmacovigilance à long terme réalisée en Allemagne de 1995 à 2000, seulement 1% des 17 274 perfusions a été associé à des effets indésirables. La tolérance d'Octagam[®] est donc considérée comme bonne.

L'objectif de cette étude est d'évaluer si le traitement IgIV utilisant Octagam[®] permet de renforcer l'action des agents immunosuppresseurs, sans augmenter les effets indésirables, dans la prévention de rejet aigu de greffe rénale chez les patients sensibilisés bénéficiant d'une deuxième ou une troisième greffe.

B. METHODE

L'étude a été menée en conformité avec les principes soulignés dans la Déclaration d'Helsinki et ses modifications ultérieures¹²¹, avec les bonnes pratiques cliniques (ICH E6¹²²) et avec les réglementations locales en vigueur. Le protocole d'étude a été examiné et approuvé par deux groupes d'experts de relecture institutionnel/comités d'éthique (Comité de Protection des Personnes Ile de France VI - Pitié-Salpêtrière, Paris et la Commission d'Ethique Biomédicale Hospitalo-facultaire de l'Université catholique de

¹¹⁸ J. DANTAL et al. (2013). Intravenous Immunoglobulins: In Depth Review of Excipients and Acute Kidney Injury Risk. *Am J Nephrol*.

¹¹⁹ UE NYDEGGER et al. (1999). Adverse effects of intravenous immunoglobulin therapy. *Drug Saf*; **21**(3):171-185.

¹²⁰ CPMP/BWP/269/95 rev.3

¹²¹ World Medical Association Declaration Of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects - Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964 and amended by the: 29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, 35th WMA General Assembly, Venice, Italy, October 1983, 41st WMA General Assembly, Hong Kong, September 1989, 48th WMA General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa, October 1996, 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000

¹²² ICH Harmonised Tripartite Guideline - Guideline For Good Clinical Practice E6(R1), Federal Register, 9 May 1997, Vol. 62, No. 90, p. 25691-25709

Louvain) et par les autorités nationales compétentes françaises et belges. Tous les patients ont donné un consentement éclairé avant d'être inclus dans l'étude.

1. DESIGN DE L'ETUDE

Il s'agit d'une étude prospective, multicentrique, randomisée, de phase III, en groupes parallèles de rapport 1:2 (témoin : traité), comprenant deux analyses intermédiaires (après inclusion d'un nombre de patients égal à 50 puis à 75 % de l'effectif total prévu pour cette étude, patients dont la durée du suivi postopératoire a été de trois mois au minimum), stratifiée par centre et équilibrée par un logiciel de minimisation tenant compte de deux facteurs pronostiques ($PRA \leq$ ou > 50 % du pic de PRA, quelle qu'en soit la date; crossmatch historique positif ou négatif [en cas de sérum historique épuisé, la présence d'une spécificité HLA portée par le donneur sera considérée comme un crossmatch historique positif]), comparant un traitement immunosuppresseur avec Octagam[®] avec un traitement immunosuppresseur *sans* Octagam[®]

2. CRITERES D'INCLUSION/EXCLUSION

Les patients randomisés devaient être âgés de 18 à 65 ans, bénéficiant d'une deuxième ou d'une troisième greffe de rein, immunisés et recevant un traitement immunosuppresseur comportant un sérum anti-lymphocytaire comme traitement d'induction, et une triple association de tacrolimus, mycophénolate mofétil et corticostéroïdes comme traitement de maintenance, à l'exclusion de toutes autres traitements immunosuppresseurs.

Les patients présentant un crossmatch du jour positif ou n'ayant pas de crossmatch, ou ayant présenté des signes d'intolérance à l'égard des produits dérivés du sang ou ayant bénéficié d'un traitement par immunoglobulines dans les 12 derniers mois dans le but de traiter ou de prévenir un phénomène de rejet ne pouvaient pas être inclus au sein de l'étude.

3. METHODOLOGIE

Tous les patients ont reçu un traitement immunosuppresseur standard, y compris un traitement d'induction. Les fourchettes autorisées sont ci-dessous :

Immunosuppresseurs	Fourchette de posologie
Sérum antilymphocytaire (Thymoglobuline®)	1,0 à 1,7 mg/kg/j pendant 7 jours (à débuter avant la transplantation).
Mycophénolate mofétil (Cellcept®)	1,5 g/j (à débuter avant la transplantation).
Corticoïde (SoluMédrol® et Cortancyl®)	Solumédrol®: bolus de 500 mg avant transplantation. Cortancyl
Tacrolimus (Prograf®)	0,2 mg/kg/j (à débuter quand la créatinémie est inférieure à 300 µmol/l et à ajuster de façon à obtenir un taux résiduel de 10 ± 5 µg/l).

Tableau 11. Traitements immunosuppresseurs utilisés lors de l'étude GAM FR-02

Les patients dans le bras expérimental ont reçu, en plus de trois perfusions d'immunoglobulines IV (Octagam®), 2 g / kg (avec une dose quotidienne maximale de 80 g

<i>Control</i>		
Antilymphocytic serum 1.0 to 1.7 mg/kg/day during 1 week Methylprednisolone one 500 mg bolus	Graft	Tacrolimus 0.2 mg/kg/day Prednisone 1 mg/kg/day Mycophenolate Mefetil 1.5 g/day

<i>IVIG</i>		Day 0-1	Day 21-22	Day 40-45
Antilymphocytic serum 1.0 to 1.7 mg/kg/day during 1 week Methylprednisolone one 500 mg bolus	Graft	2g/kg		
		IVIG	IVIG	IVIG
		Tacrolimus 0.2 mg/kg/day Prednisone 1 mg/kg/day Mycophenolate Mefetil 1.5 g/day		

/ jour) pendant deux jours sur J 0-1, J 21-22 et dans le J 40- 45.

4. EVALUATION DE L'EFFICACITE ET LA TOLERANCE

Comparer, au bout de trois mois, le taux de rejet aigu du greffon rénal, confirmé par biopsie selon la classification de Banff 97¹²³, chez des patients opérés pour une seconde ou une troisième greffe rénale et recevant un traitement immunosuppresseur de référence avec Octagam[®], avec le taux de rejet aigu du greffon rénal, confirmé par biopsie, dans un groupe témoin recevant un traitement immunosuppresseur de référence sans Octagam[®].

Les objectifs secondaires étaient de :

- a) Comparer, au bout de trois mois, le taux de rejet aigu du greffon rénal, confirmé par biopsie ou considéré comme tel et traité en conséquence, chez des patients opérés pour une seconde ou une troisième greffe rénale et recevant un traitement immunosuppresseur de référence avec Octagam[®], avec le taux de rejet aigu du greffon rénal, confirmé par biopsie ou considéré comme tel et traité en conséquence, dans un groupe témoin recevant un traitement immunosuppresseur de référence sans Octagam[®].
- b) Comparer, au bout de trois mois, le taux de reprise retardée de la fonction rénale après greffe (DGF, *Delayed Graft Function*, et SGF, *Slow Graft Function*).
- c) Comparer, au bout d'un an, le taux de rejet aigu du greffon rénal, confirmé par biopsie.
- d) Comparer, au bout d'un an, le taux de rejet aigu du greffon rénal, confirmé par biopsie ou considéré comme tel et traité en conséquence.
- e) Comparer, au bout d'un an, le taux de survie du greffon rénal.
- f) Comparer, au bout d'un an, le taux de survie des patients.
- g) Comparer, au bout d'un an, l'intensité moyenne des épisodes de rejet aigu (classification de Banff 1997).
- h) Comparer, au bout d'un an, le nombre moyen d'épisodes de rejet corticorésistants.
- i) Comparer, au bout d'un an, la fonction rénale (clairance de la créatinine calculée à l'aide de la formule de Cockcroft-Gault).
- j) Comparer, au bout de un, trois, six et douze mois, l'intensité de l'immunisation anti-HLA.

¹²³ LC. RACUSEN et al. (1999). The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int*;55(2):713-723.

- k) Comparer, au bout de 3 et 5ans, le taux de rejet aigu du greffon rénal, confirmé par biopsie.
- l) Comparer, au bout de 3 et 5ans, le taux de survie du greffon rénal.
- m) Comparer, au bout de 3 et 5ans, le taux de survie des patients.
- n) Comparer, au bout de 3 et 5ans, l'intensité moyenne des épisodes de rejet aigu (classification de Banff 2007).
- o) Comparer, au bout de 3 et 5ans, la fonction rénale (clairance de la créatinine calculée à l'aide de la formule de Cockcroft-Gault).

L'évaluation de la sécurité a été basée sur les événements indésirables et des événements indésirables graves ayant déclaré plus d'une année de suivi.

5. METHODES STATISTIQUES

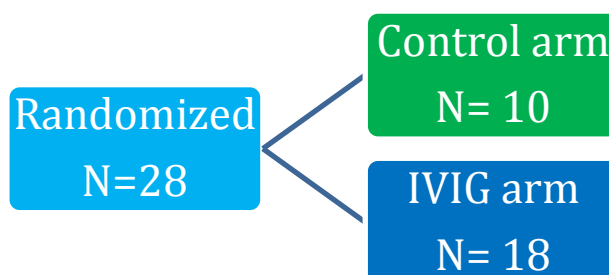
Des analyses descriptives ont été calculées pour les résultats quantitatifs et qualitatifs par groupes de traitement pour les variables d'efficacité et de sécurité. En raison du faible nombre dans les deux groupes, des tests non paramétriques (test exact de Fisher pour les terminaux binaires et test de Wilcoxon pour les terminaux quantitatifs) ont été utilisés pour comparer les groupes de traitement en ce qui concerne les principaux paramètres de l'étude. L'apparition des événements a été calculée en utilisant la méthode de Kaplan Meier et le test Logrank. L'erreur type a été fixée à 2,5%. Deux analyses ont été effectuées, une analyse en Intention de Traiter (ITT) analyse sur tous les patients randomisés et greffés, et une analyse en per protocole (identifié comme l'analyse d'efficacité primaire) sur le sous-groupe de patients répondant aux critères d'inclusion / non-inclusion et ayant reçu un traitement immunosuppresseur conforme au protocole.

C. RESULTATS

1. POPULATION PATIENTS

Les patients ont été recrutés dans six centres, 4 en France et 2 en Belgique, entre le 2 Juillet 2004 et le 21 Septembre 2005. Le dernier patient a terminé la dernière visite, le 12 Décembre 2006.

Vingt-huit patients ont été randomisés, 10 dans le bras contrôle (traitement immunosuppresseur seul) et 18 dans le groupe expérimental (Octagam).



Deux patients, sont décédés au cours de l'étude, un dans chaque bras. Trois patients du groupe de contrôle (30%) sont sortis prématurément de l'étude ; 2 en

raison de l'échec du traitement (transplantectomie dans les deux cas) et un patient, suite à des complications en post-transplantation (hémorragie abdominale). Aucun patient n'a arrêté prématurément l'étude dans le groupe expérimental.

Tous les patients ont été analysés dans l'analyse en intention de traiter (ITT). 11 patients, 5 (50%) dans le bras de contrôle et 6 (33,3%) dans le groupe expérimental ont été écartés de l'analyse (PP) selon le protocole. Les détails sur les motifs d'exclusion de l'analyse PP sont disponibles dans la figure 26. Les caractéristiques de base des 28 patients étaient les suivants: âge (moyenne +/- SD): 40,5 +/- 10,7 années (gamme: 24-59 ans), 16 (57,1%) chez les hommes. Tous les patients ont reçu une greffe d'un donneur décédé. L'âge du donneur était de 40,8 +/- 14,9 années (rang 13 à 68 ans). Le nombre moyen d'inadéquation était de 3,1 +/- 1,25 (plage: 1 à 5). Durée moyenne entre la précédente perte du greffon et la transplantation de la nouvelle greffe était de 16,2 +/- 6,5 années.

N	28
Age	40.8 +/- 14.9

Tableau 13. Moyenne d'âge des donneurs décédés

Average age at follow up	
N	28
Age	40.5 (+/- 10.7)
Sex	
Male	57.1% (16)
Female	42.9% (12)
Average time between previous and new graft	
Time (y)	16.2 (+/- 6.5)

Tableau 12. Caractéristiques de la population greffée

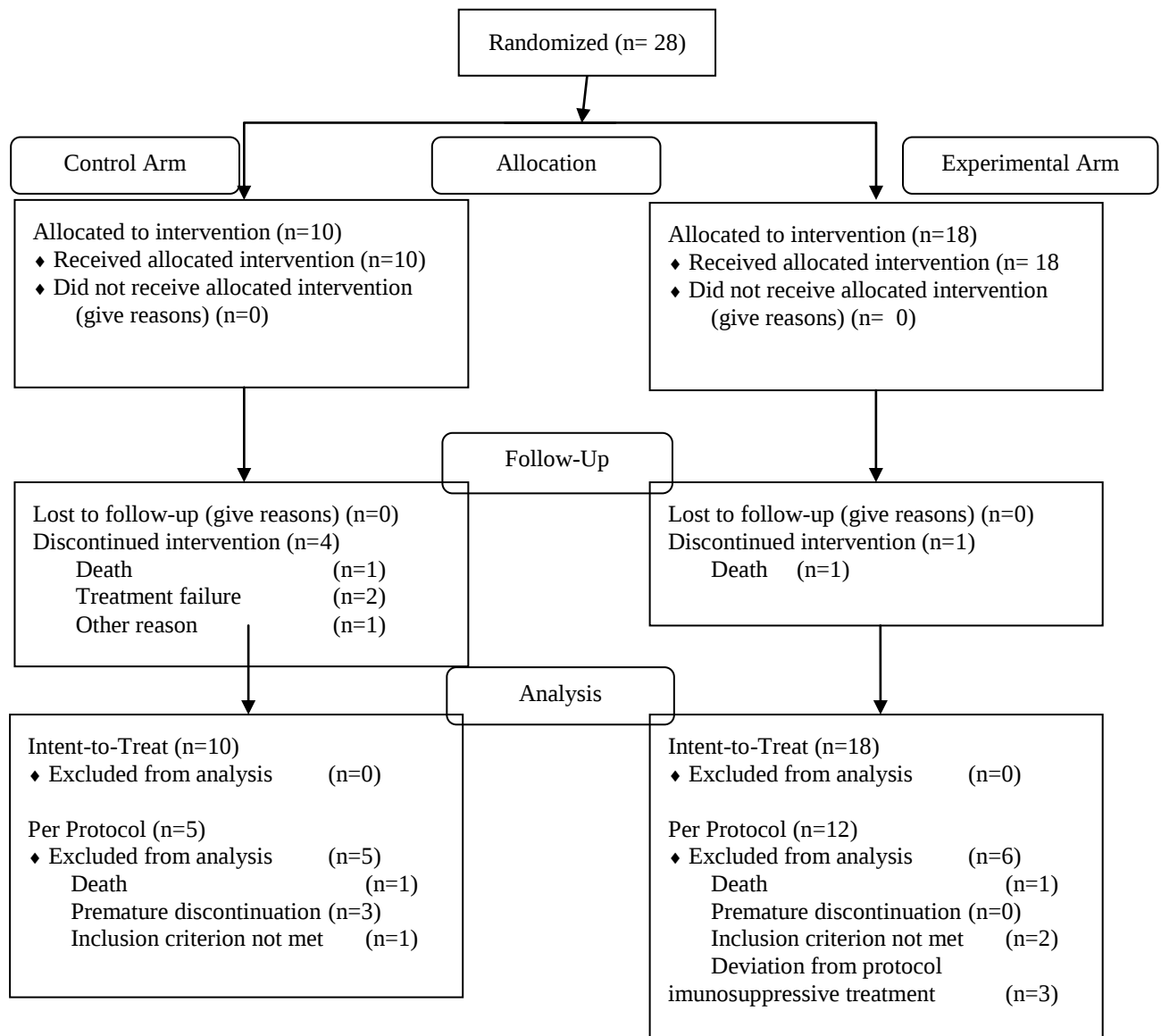


Figure 27. Patients Flow Diagram

Chaque patient du groupe expérimental a reçu trois injections d'Octagam® conformément au protocole. La dose cumulée reçue lors de l'étude ne dépasse pas 6 grammes.

À trois mois, l'incidence de la biopsie a confirmé (au moins un critère selon la classification de Banff 97) que l'incidence du rejet aigu était plus important dans la

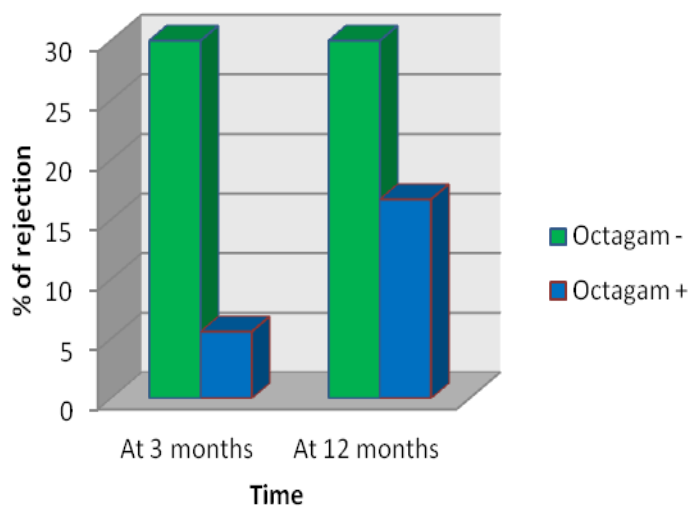


Figure 28. Incidence of the acute renal graft

population témoin que celle recevant des IgIV, avec aucun patient (0%, 95% IC: [0,0%, 26,4%]) ayant eu une épisode de rejet aigu dans le groupe IgIV contre 2 patients (40%, IC 95%: [5,3%, 85,3%]) dans le groupe de contrôle pour la population PP ($p = 0,074$) et 1 patiente (5,6%, IC 95%: [0,1%, 27,3%]) dans le groupe IgIV contre 3 patients (30%, IC 95%: [6,7%, 65,3%]) ayant connu 5 épisodes de rejet aigu (1 patient avec 3 épisodes et 2 patients avec 1 épisode) dans le groupe de contrôle pour la population ITT ($p = 0,116$).

Analyses complémentaires effectuées sur le rejet de greffe:

Les résultats des analyses du rejet aigu de greffe confirmés par biopsie à 12 mois et le rejet aigu à 3 et 12 mois sont présentés dans l'Annexe 1 et sont conformes aux résultats observés pour le critère primaire, favorisant le groupe expérimental sans atteindre la significativité statistique.

Apparition du premier rejet de greffe

Les estimations Kaplan-Meier pour la durée de survie sans rejet de greffe dans le bras expérimental et le bras contrôle étaient respectivement de 100% contre 60% à 3 mois ($p = 0,02$, test de Logrank) et 92% contre 60% à 12 mois ($p = 0,09$) dans la population PP. Dans la population ITT, figure ci-dessous), les estimations étaient de 94% contre 63% ($p = 0,058$) à 3 mois et 82% contre 63% à 12 mois ($p = 0,21$).

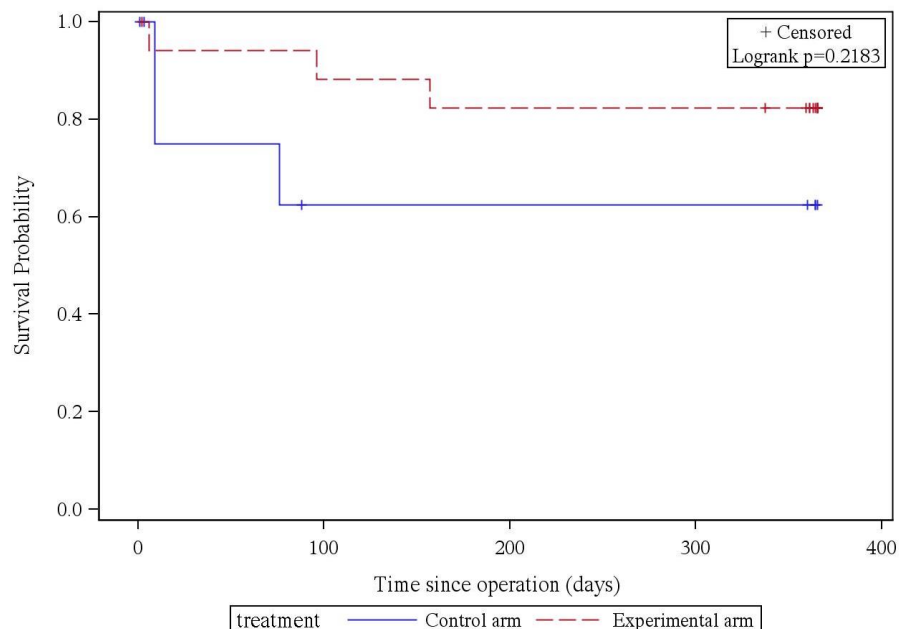


Figure 29. Time to first Acute Graft Rejection (confirmed by biopsy) – ITT Analysis

Dans la population ITT, 2 patients du groupe témoin ont bénéficié d'une néphrectomie ou sont retournés à la dialyse dans les 12 mois qui ont suivis la greffe *versus* aucun patient dans le groupe expérimental. Correspondant aux estimations de Kaplan-Meier la survie du greffon était de 76% et 100% respectivement, une différence statistiquement significative ($p = 0,04$, test de Logrank).

La survie des patients

Au cours des 12 derniers mois de suivi, un patient est décédé dans chaque bras (5,6% dans le groupe expérimental, 10,0% dans le groupe témoin).

Autres résultats d'efficacité:

L'intensité des épisodes de rejet aigu selon la classification BANFF 97 était similaire entre les deux bras. Aucune différence n'a été observée entre les groupes en ce qui concerne le taux de récupération retardée de la fonction rénale après greffe, le nombre de résistants corticoïdes épisodes de rejet aigu et l'immunisation anti-HLA. Après 1 an, la clairance de la créatinine mesurée n'étaient pas différente entre les groupes (61,4 +/- 19,2 ml / mn dans le groupe IgIV et 62,4 +/- 7,8 ml / mn dans le groupe de contrôle, la population ITT). Il n'y avait pas de différences significatives dans les PRA entre les deux bras de traitement à 1 mois, 3 mois, 6 mois et 12 mois.

2. LES EVENEMENTS INDESIRABLES

Les traitements pour les effets indésirables (EIAT) ont été signalés chez tous les patients du bras contrôle (91 chez 10 patients, 100%) et dans l'ensemble mais un patient dans le groupe expérimental (129 EIAT chez 17 patients, 94,4% des patients). Les effets indésirables liés au traitement les plus fréquents sont résumés dans l'annexe2. Dans l'ensemble, les EIAT les plus fréquents, présents chez au moins 3 des patients étaient: une anémie, une infection des voies urinaires, une hypertension artérielle, une reprise tardive du greffon, une ostéopénie, un rejet de greffe, une bronchite, une leucopénie, une nécrose tubulaire rénale, une infection à cytomégalovirus, une pancytopénie, une thrombose du greffon, un diabète sucré et une hypocalcémie. Aucune hyponatrémie, ou néphrose osmotique n'a été enregistrée dans le groupe témoin ou expérimental qui pourrait être considéré comme un trouble induit par le maltose. Les affections du rein et des voies urinaires ont été un peu plus fréquemment rapportées, dans l'ensemble, dans le bras de contrôle (6 patients, 60%) que dans le groupe expérimental (7 patients, 39%). La nécrose tubulaire rénale est plus souvent mentionnée dans le bras de contrôle (3 patients, 30%) que dans le groupe expérimental (2 patients, 11,1%), comme la sténose de l'artère

rénale (bras contrôle: 2 patients, 20% contre aucun dans le groupe expérimental), tandis que l'insuffisance rénale a été rapportée chez deux patients dans le traitement expérimental (11,1%) contrairement au groupe de contrôle qui n'en a pas déclaré. Des effets indésirables graves sont survenus chez respectivement 9 des 10 patients dans le bras contrôle (90%) avec 22 événements signalés et chez 12 des 18 patients dans le groupe expérimental (66,7%), avec 26 événements rapportés. L'annexe 3 résume les effets indésirables graves les plus fréquents. Il y a eu deux décès, un dans chaque bras de traitement (une mort subite, 3 mois après la transplantation dans le bras de contrôle, considérée comme non liée au traitement de l'étude et un œdème pulmonaire aigu fatal, 2 jours après la transplantation, dans le groupe expérimental, considérés comme possiblement liés au traitement à l'étude). Quatre autres effets indésirables graves ont été considérés comme liés au traitement de l'étude dans le groupe expérimental par l'investigateur: un cas d'anémie, un cas de reprise tardive, un cas de rejet de greffe et un cas d'œdème pulmonaire. Tous les autres effets indésirables graves ont été classés comme non liés ou peu probablement liés au traitement de l'étude.

En ce qui concerne la prévisibilité des événements indésirables graves observés dans le groupe expérimental, l'œdème pulmonaire (2 cas, dont un mortel) et l'insuffisance rénale aiguë (un cas) sont tous deux mentionnés dans le RCP Octagam^{®124} comme des effets indésirables très rares. Seulement un trouble du métabolisme et de la nutrition (hyperglycémie) a été signalé chez un patient dans le bras expérimental. Il était d'intensité modérée, résolu avec un traitement médical et a été jugé non lié au traitement.

D. DISCUSSION

Cette étude, menée sur 28 patients, suggère une meilleure efficacité des IgIV dans la prévention du rejet aigu de greffe rénale chez les patients immunisés, bénéficiant d'une deuxième ou une troisième greffe. Concernant le critère principal d'efficacité, l'incidence du rejet de greffe aigu après 3 mois, a montré un avantage des IgIV avec un taux de 5,6% (1 cas chez 1 patient) contre 30% (5 événements en 3 patients) dans le groupe contrôle, qui, néanmoins, n'a pas atteint la significativité statistique, en raison du faible nombre de patients inclus dans cette étude. Le test Logrank calculé pour confirmer le rejet de greffe aigu à 3 mois par biopsie a démontré un résultat statistiquement significatif en faveur du

¹²⁴ OCTAGAM® Summary of Product Characteristics Octapharma Ltd. Last updated 27-05-2009

groupe IgIV avec des taux de survie de 100% dans le bras IgIV contre 60% dans le bras contrôle ($p = 0,02$).

L'incidence du rejet de greffe aigu dans le groupe contrôle (30% de la population ITT et 40% dans la population PP) est conforme aux résultats de Hariharan et al⁹⁹, qui a rapporté une incidence de 35% dans la population américaine.

L'utilisation d'immunoglobuline (IgIV) dans les essais rétrospectifs et à long terme a montré un effet positif permettant aux patients immunisés de bénéficier d'une transplantation avec succès¹⁰⁸ et d'être associée à une meilleure survie à long terme chez les patients retransplantés⁹⁹. L'utilisation des IgIV chez les patients transplantés très immunisés a été étudiée par divers auteurs comparant ce traitement avec ou sans associations à d'autres médicaments^{107 125 126 127 128} suggérant l'efficacité et la sécurité des IVIG dans la réduction des épisodes de rejets de greffe, bien que la majorité des études étaient non comparatives et réalisées sur des petits échantillons de patients. Une étude rétrospective plus étendue sur 264 patients¹²⁹ a confirmé ces résultats. .

Dans cette étude, Octagam[®] était bien toléré. En particulier, aucun événement indésirable potentiellement imputable à la présence de maltose dans le produit n'a été identifié. Des publications font état d'une incidence plus élevée d'insuffisance rénale lors de l'utilisation des IgIV contenant du sucrose versus les IgIV n'en possédant pas¹¹⁷. La clairance de la créatinine moyenne était identique entre les deux bras après 1 an.

Ces résultats sur la tolérance d'Octagam[®] dans notre étude complètent les données de la littérature. La tolérance et la sécurité globale de l'utilisation d'Octagam[®], immunoglobuline intraveineuse, dans une étude observationnelle prospective de 10 ans dans le traitement de diverses immunodéficiences primaires et secondaires et les maladies auto-immunes ont été publiées par Debes et son équipe¹³⁰ montrant une faible fréquence des effets indésirables (0,35%) et une bonne tolérance dans la pratique clinique de routine. La fréquence rapportée dans notre étude des événements indésirables était plus élevée,

¹²⁵ S. JORDAN. (2006). IVIGs versus plasmapheresis for desensitization: which is better. *Am J Transplant* ;**6**:1510-1511.

¹²⁶ S. JORDAN et al. (2006). Intravenous gammaglobulin (IVIG): a novel approach to improve transplant rates and outcome in highly HLA-sensitized patients. *Am J transplant*; **6**:459-466.

¹²⁷ R. VALENTINI et al. (2007). Intravenous Immunoglobuline, HLA allele typing and HLAMatchmaking facilitate successful transplantation in highly sensitized paediatric renal allograft recipients. *Pediatric Transplant* ;**11**:77-81.

¹²⁸ VO et al. (2008). Rituximab and intravenous immuno globulin for desensitization during renal transplantation. *N Eng J Med*; **359**:242-251.

¹²⁹ MAI et al. (2009). Excellent renal allograft survival in donor-specific antibody positive transplant patients – Role of intravenous immunoglobulin and rabbit antyhymocyte globulin. *Transplantation* ;**87**:227-232.

¹³⁰ A. DEBES et al. (2007). Tolerability and safety of the intravenous immunoglobuline Octagam: a 10 year prospective study. *Pharmacoepideiol Drug Saf*; **16**(9):1038-1047.

comparativement au rapport Debes, reliée à la nature et à la gravité de la maladie étudiée (greffe rénale).

Notre travail est l'un des rares essais prospectifs, randomisés et comparatifs de l'efficacité et la sécurité des IgIV chez les patients immunisés bénéficiant d'une deuxième ou troisième transplantation rénale. Il semble confirmer les données existantes dans cette indication, malgré le faible nombre de patients inclus dans cet essai. En raison de l'accumulation des preuves favorables aux IgIV, il est peu probable, pour des raisons éthiques, que de telles études comparatives soient menées à l'avenir.

Les limitations sont principalement liées à la petite taille de l'étude, ce qui entraîne une puissance statistique insuffisante. L'étude n'a pas atteint la signification statistique sur son critère d'évaluation principal d'efficacité malgré une tendance favorable à IgIV. Néanmoins, la signification statistique a été atteinte sur certains critères de l'efficacité secondaire. Le critère ouvert ne doit pas être considéré comme une limitation, à partir du moment où le critère principal d'efficacité était le rejet aigu de greffe confirmé par biopsie, selon la classification de Banff 97¹²³ permettant une évaluation raisonnablement objective de l'efficacité primaire.

En résumé, l'objectif de ce travail était d'étudier si les immunoglobulines intraveineuses (Octagam[®]) permettaient, sans augmenter les effets indésirables, de renforcer l'action du traitement immunosuppresseur dans la prévention du rejet aigu de greffe rénale chez les patients immunisés ayant bénéficié d'une deuxième ou troisième greffe, patients qui étaient donc à un risque élevé de rejet. Les résultats obtenus sont en faveur du traitement par IgIV malgré le faible nombre de sujets inclus. Toutefois, il convient de préciser que les DSA n'étaient réalisés de façon systématique à l'époque de la mise en place et du suivi de cette étude. Ces mesures ont été réalisées rétrospectivement, mais n'ont pas pu être exploitées (sérum absent ou non suffisant, test ininterprétable, sérum des patients belges non accessibles). Aucune preuve d'insuffisance rénale dans le bras IgIV n'a été observée, et la tolérance globale a été similaire entre les deux groupes.

CONCLUSION

Les immunoglobulines sont des protéines essentielles au bon fonctionnement de notre organisme. Leur production industrielle dans le but d'un usage thérapeutique répond à un besoin croissant. Cette production par fractionnement du plasma humain, doit être parfaitement contrôlée, en particulier sur le plan de l'efficacité, la sécurité virale, et la bonne tolérance des IvIG. L'utilisation des immunoglobulines dans le cadre de la greffe rénale est largement reconnue à ce jour et représente un volume important de consommation en milieu hospitalier. Les immunoglobulines sont prescrites en France dans le cadre très réglementé des Protocoles Thérapeutiques Temporaires (PTT).

La transplantation rénale est le traitement de référence de l'insuffisance rénale chronique et représente un enjeu majeur face à l'augmentation constante des besoins en greffons. Afin de répondre à cette demande il est nécessaire :

- De poursuivre l'amélioration des méthodes de prélèvements des greffons afin de diminuer les lésions lors du prélèvement et maîtriser le phénomène d'ischémie/reperfusion.
- D'augmenter le nombre de donneurs : de nouvelles pistes sont explorées comme des critères élargis de prélèvements sur les donneurs vivants ainsi que sur les DDAC.
- De mieux maîtriser la compatibilité receveur-donneur par des méthodes plus performantes (Luminex)
- D'obtenir des traitements post et pré-greffe encore plus efficaces.

Toutefois, l'utilisation des immunoglobulines dans le cadre de la transplantation rénale reste encore discutée, au plan de leur efficacité et le mécanisme d'action. De nombreuses méta-analyses ont étudié l'efficacité des immunoglobulines utilisées seules dans les 3 situations thérapeutiques suivantes :

- En désensibilisation des patients (diminution des DSA en pré-greffe)
- En prophylaxie du rejet de la greffe (administration en pré-greffe)
- En curatif du rejet de la greffe (administration en post-greffe après rejet)

En revanche, en association avec d'autres thérapeutiques telle que la plasmaphérèse ou les Anti-CD20, les immunoglobulines ont démontré une baisse significative des anticorps anti-HLA. Les résultats de l'étude Gam FR02 décrite au sein de cette thèse suggèrent une efficacité d'Octagam 50 mg/mL sur la survie du greffon à trois mois. Ces résultats doivent

être confirmés à plus long terme. L'adaptation de la posologie et/ou un traitement prolongé pourraient être évalués. Egalement, l'administration par voie sous-cutanée pourrait représenter une alternative aux lviG en cas d'intolérance de la voie intraveineuse.

L'aspect économique du traitement est à prendre en considération : Le coût est élevé et doit être intégré à la réflexion portant sur l'ensemble des données afin de pouvoir comparer avec les autres thérapeutiques proposées. Les enjeux sont donc importants à plusieurs niveaux et ils sont aussi économiques pour les laboratoires. Ils devraient dès lors inciter ceux-ci à s'investir à travers les PTT et évaluer l'efficacité de ces produits ainsi que déterminer les nouvelles indications à venir.

BIBLIOGRAPHIE

1. H. JONES et al. (1928). The influence of James Blundell on the development of blood transfusion. *Ann Hist Med*, **101**, 242-248
2. K. LANDSTEINER. (1901). Agglutinationsererscheinungen normalen menschlichen blutes. 1901. *Wien Klin Wochenschr*, **14**: 1132-1134.
3. DECASTELLO et al. (1902). Under die isoagglutinine im serum gesunder und karnker menschen. *Munch Med Wochenschr*, **49**: 1090-1095.
4. GR. WARD. Transfusion of plasma. (1918). *BMJ*, **301**, March 9, 1918 (Correspondence)
5. C. TUI et al. (1944). Red cell reinfusion and frequency of plasma donations. *JAMA*, **124**: 331-336.
6. EJ. COHN et al. (1944). *Proteins, amino acids and peptides*. Reinhold Publishing Corp New York, USA, *J Clin Invest*, **23**: 417-432
7. Intravenous immunoglobulin (IVIG)- a global strategic business report 08/12. P2/3.
8. Loi du 4 Janvier 1993
9. BEAUPLET et al. (2013) Médecine transfusionnelle. Le modèle français. John Libbey eurotext, Paris.
10. L'Europe de la Transfusion 2012.p4 et 6
11. Arrêté du 12/01/2009 (JO du 18/01/09) Critères de sélection des donneurs de sang
12. EMA/CHMP/BWP/157481/2012 du 15/03/2012 Certificat PMF en vigueur.
13. RE-95 Blood Product. 2012
14. PMF en vigueur. 2.3 Contractual Arrangements with Plasma Suppliers. P4/15
15. Directive 2002/98/CE du parlement européen et du conseil du 27 janvier 2003
16. PMF en vigueur. Module 1.2.1.2 Precautionary Measures taken with regards to the Potential Risk for variant CJD. Module 1.2.1.3 Assessment of Epidemiological Data. p 4/9.
17. Article D-1221-1 du Code la Santé Publique
18. OMS. Consulté le 09/10/14
19. J. LEFRERE et al. (2011) Abrégés de Transfusion Sanguine. **4^{ème} Edition**. Elsevier Masson, Paris, P374
20. Article R-1221-5 du Code de la Santé Publique
21. PMF en vigueur. Module 2.1.3 Selection/exclusion criteria for blood donors/plasma donors. p1&2/2.

- 22.OMS. (2010)*Vers 100% des dons de sang volontaires*. P90-91
- 23.H. DICHTELMÜLLER. (2012). Ensuring virus safety of plasma products. Production of plasma proteins for therapeutic use. John Wiley & Sons, Inc.
- 24.PMF en vigueur. Module 2.2.2.1 General Information on Test Methods - Human Plasma for Fractionation. p2/13.
- 25.PMF en vigueur. 2.3.7.3 Contractual Arrangements with Plasma Suppliers. Component preparation p8/15
- 26.PMF en vigueur. 2.3.7.4 Contractual Arrangements with Plasma Suppliers. Plasma storage. p8/15
- 27.Procédures Octapharma en vigueur
- 28.PMF en vigueur. 2.3.7.6 Contractual Arrangements with Plasma Suppliers. Acceptance criteria for plasma. p10/15
- 29.BUCHACHER A et al.(2013). Intravenous Immunoglobulin G from human plasma purification concepts and important quality criteria. Production of Plasma Products for Therapeutic Use. **1st Edition**.P185-190.
- 30.Données internes Octapharma
- 31.PMF en vigueur. Module 2.2.2.1 General Information on Test Methods - Human Plasma for Fractionation. p2/13.
- 32.Immunoglobulins. Module 3.2.A.2.4.3 Summary Tables of Virus Validation Studies. p1-2/14
- 33.Facteur VIII. Method of preparation. 2.3 Flow Chart
- 34.Facteur VKD. Method of preparation. 2.3 Flow Chart
- 35.E.HETZL. (2012). The pharmaceutical Manufacturing Environment. Production of plasma proteins for therapeutic use. John Wiley & Sons, Inc.
- 36.A.BUCHACHER et al. (2012). Intravenous Immunoglobulin G from Human Plasma Purification Concepts and Important Quality Criteria. Production of plasma proteins for therapeutic use. John Wiley & Sons, Inc.
- 37.T. BURNOUF. (2007). Plasma fractionation in the world: Current status.
- 38.EMA. Guideline on plasma-derived medicinal products. EMA/CHMP/BWP/706271/2010.21/07/2011.
- 39.<http://www.imgt.org/IMGTEducation/Tutorials/IGandBcells/FR/DifferenciationB/figure1.html>. Consulté le 23/08/2014
- 40.L. THOMAS. (1998). Labor und Diagnoses (5th edition). TH Book Verlagsgesellschaft. Franckfurt.

41. M. M. KOLOPP-SARDA. (2009, Octobre). Les immunoglobulines et leurs fonctions. Laboratoire d'immunologie Centre de Biologie Lyon Sud, France
42. Global Intravenous Immunoglobulin (IVIg) Market : An Analysis. Koncept Analytics. January 2012
43. Résumé Caractéristiques Produit en vigueur Octagam® ® 50 mg/ml.
44. TE. BUNCHMAN et al. (1997). Beneficial effect of Sandoglobulin upon allograft survival in the pediatric renal transplant recipient. *Clin Transpl* **11** : 604-607.
45. MN. PERALDI et al. (1996) Long-term benefit of intravenous immunoglobulins in cadaveric kidney retransplantation. *Transplantation*; **62**:1670-1673.
46. N. SHEHATA et al. (2010). The use of Immunoglobulin Therapy for patients Undergoing Solid Organ Transplantation: An Evidence-Based Practice Guideline. *Transfus. Med. Rev.* **24**:S7-S19.
47. SC. JORDAN et al. (2014 Aug). Benefits of rituximab combined with intravenous immunoglobulin for desensitization in kidney transplant recipients. **98**(3):312-9.
48. SC. JORDAN et al. (2006). Intravenous gammaglobulin (IVIg): a novel approach to improve transplant rates and outcome in highly HLA-sensitized patients. *Am J transplant* ; **6**:459-466.
49. Point d'information de l'assurance maladie du 9 mars 2010 – « L'insuffisance rénale chronique en France : situation actuelle et enjeux ».
50. HAS. Évaluation médico-économique des stratégies de prise en charge de l'insuffisance rénale en France. 2010
51. Agence de Biomédecine. Plan greffe 2012-2016.
52. Rapport annuel 2012 de l'Agence de la biomédecine.
53. Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. Recommandations pour la pratique clinique. Diagnostic de l'insuffisance rénale chronique chez l'adulte.(2002).
54. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease evaluation classification and stratification. National Kidney Foundation. Am J. Kidney Dis. 51-266. (2002)
55. Agence de la Biomédecine. DIU de néphrologie pédiatrique. La greffe rénale quel donneur pour quel receveur ? 2010-2011.
56. Décret Conseil d'Etat 2 décembre 1996
57. Conférence d'expert. Recommandations de bonnes pratiques 1998.
58. KOOTSTAR et al. (1995). Categories of non-heart-beating donors. *Transplant Proc*; **27** : 2893-2894.

- 59.S. GAGANDEEP et al. (2006). Expanding the donor kidney pool : utility of renal allografts procured in a setting of uncontrolled cardiac death. *AM J Transplant*, **6** : 1682-1688.
- 60.NV. BROOK et al. (2003). None heart beating kidney donation : current practice and feature developments. *Kidney Int*, **63** : 1516-1529.
- 61.C. KOKKINOS et al. (2007). Outcome of kidney transplantation from non heart-beating versus heart-beating cadaveric donors. *Transplantation*, **83**: 1193-1199.
- 62.YW. CHO et al. (1998). The newtransplantation of kidneys from donors whose hearts have stopped beating. *N Engl J Med*, 338, **4** : 221-225
- 63.Evaluation and selection of donors :living kidney donors. *Neprol Dial Transplant*, 2000, 15 (Suppl.7) : 47-51
- 64.Recommandations formalisées d'experts sur le prélèvements et la greffe à partir de donneurs vivants. Paris Editions MEDITEXT, 2009.
- 65.(2008). The declaration of Istanbul on Organ trafficking and transplant tourism. *Transplantation*; **86** : 1013-1018
- 66.ME. ROLAND et al. (2003). Review of solid organ transplantation in HIV-infected patients. *Transplantation*; **75**: 425-9
- 67.SC. JORDAN et al. (2011). Clinical Aspects of Intravenous Immunoglobulin Use in Solid Organ Transplant Recipients. **11** : 196-202.
- 68.C. LEFAUCHEUR et al. (2014). Système HLA et transplantation.
- 69.CESBRON et al. (2012) Système HLA In : *La transplantation rénale*. Lavoisier. Paris.
- 70.AK. ABBAS et al. (2009) *Les bases de l'immunologie fondamentale clinique*. 3. Elsevier. Paris.
- 71.CESBRON et al. (2007). Le système HLA. *Encyclo Méd CHir(Paris), Hématologie*, 13-000-M53
- 72.M. HOURMANT et al. (2005). Frequency and clinical implications of development of donor specific and non donor specific HLA antibodies after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*, **16** : 2804-2812
- 73.N. DEGAUQUE et al. (2012). Récepteur des lymphocytes T et allo réactivité In : *La transplantation rénale*. Lavoisier. Paris.
- 74.O. THAUNAT. (2012) Lymphocytes B et anticorps In : *La transplantation rénale*. Lavoisier. Paris.
- 75.<http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/25026/ch02.html>. Consulté le 08/08/14.
- 76.<http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/25026/ch02.html>. Consulté le 09/10/14.

- 77.KP. MOLLEN et al. (2006). Emerging paradigm: toll-like receptor 4-sentinel for the detection of tissue damage. *Shock* **26** : 430-437.
- 78.CA. JANEWAY et al. (2002). Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*, **20** : 197-216.
- 79.DF. LAROSA et al. (2007). The innate immune system in allograft rejection and tolerance. *J Immunol*, **178** : 7503-7509.
- 80.J. CAI et al. (2005a). Humoral theory of transplantation: mechanism, prevention, and treatment. *Hum Immunol* , **66** : 334-342
- 81.J. CAI et al. (2005b). Human leukocyte antigen antibodies for monitoring transplant patients. *Surg Today*, **35** : 605-612
- 82.M. MARKS et al. (2006). Biologics in the prevention and treatment of graft rejection. *Springer Semin Immunopathol*, **27** : 457-476
- 83.Réussir l'ECN. (2007). Néphrologie.3 :Ellipses Edition. Paris
- 84.J. LEGENDRE et al.(2007). Immunosuppression en transplantation rénale. *Annales d'Urologie*. **41** :276-84.
- 85.CNHIM. (Février 2011). Place des Immunoglobulines humaines dans la prise en charge des rejets humoraux de la transplantation rénale.. XXX II, 1.
- 86.AB. COLLINS et al. (2002). Complement activation in acute humoral renal allograft rejection :diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* ; **13** :1091-1009.
- 87.JM. VAN DEN ELSEN et al. (2002). X-ray crystal structure of the C4d fragment of human complement component C4. *J Mol Bio*; **322**(5) :1103-15.
- 88.http://www.merckmanuals.com/professional/immunology_allergic_disorders/biology_of_the_immune_system/complement_system.html#v992763. Consulté le 13/11/14.
- 89.C. LEFAUCHEUR et al. (2008). Rejet aigu médié par anticorps. *Néphrologie & Thérapeutique*; **5** :188-191.
- 90.M. BASTA et al. (1989). High dose intravenous immunoglobulin modifies complement mediated in vivo clearance. *Blood*; **74** :326-33.
- 91.M. BASTA et al. (1994). High Dose intravenous immunoglobulin exerts its beneficial effect in patients with dermatomyositis by blocking endomysial deposition of activated complement fragments. *J Clin Invest*; **94** :1729-35.
- 92.JM. DWYER. (1992). Manipulating the immune system with immune globulin. *N Engl J Med*; **326** : 107-16

- 93.Y. SULTAN et al. (1984). Anti-idiotypic suppression of autoantibodies to factor VIII by high dose intravenous immunoglobulin. *Lancet* ;**2** :765-8.
- 94.VIARD et al. (1998). Inhibition of toxic epidermal necrolysis by blockade of CD95 with human intravenous immunoglobulin. *Science*;**282** : 490-3.
- 95.NK PRASAD et al. (1998). Therapeutic preparations of normal polyspecific IgG (IvIG) induce apoptosis in human lymphocytes and monocytes : A novel mechanism of action of IvIG involving the Fas apoptic pathway. *J Immunol* ; **161** :3781-90.
- 96.G. GORROCHOV et al. Les immunoglobulines polyvalentes. <http://www.assim.refer.org/colleges/colleges/styled/files/page80-l3.11.igiv.pdf>. Consulté le 21/11/14.
- 97.PJ MORRIS. (1999). Renal transplantation. In: Ginns LC, Cosimi AB, Morris PJ, eds. Transplantation. Malden: *Blackwell Science*: 285-311.
- 98.JP. SOULILLOU. (2001). Immune monitoring for rejection of kidney transplant. *New Engl J Med*;**344**(13):1006-1007.
- 99.S. HARIHARAN et al. (2000). Improved graft survival after renal transplantation in the United States 1988 to 1996. *N Engl J Med* ;**342**:605-612.
100. JM. CECKA. The UNOS scientific renal transplant registry. In: Cecka JM, Terasaki PI, eds.
101. S. JORDAN. (2010). Advances in diagnosing and managing antibody-mediated rejection. *Ped. N* **25**:2035-2048 DOI 10.1007/s00467-009-1386-4.
- 102.ZEVI. (2006). HLA Antibody Analysis. Sensitivity, Specificity, and Clinical Significance in Solid Organ Transplantation. *Immunologic Research*; **36/1-3**:255-264.
- 103.AM. HARPER et al. (2000). The UNOS OPTN waiting list, 1988-1998. In: Cecka JM, Terasaki PI,eds. Clinical transplants 1999. Los Angeles: UCLA Immunogenetics Center;71-82.
- 104.MD. KAZATCHKINE et al. (2001). Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin. *N Engl J Med*;**345**(10):747-755.
- 105.Dossier du CNHIM XXXII,1 Février 2011 2010;24(1Suppl1):S7-S19
- 106.R. MONTGOMERY et al. (2000). Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match positive recipients. *Transplantation*; **70** (6) :887-895.

- 107.S. JORDAN et al.(2004). Evaluation of Intravenous Immunoglobulin as an agent to Lower allosensitization and Improve Transplantation in Highly Sensitized Adult Patients with end-stage Renal disease: Report of the NIH IG02 Trial. *J Am Soc Nephrol*; **15**: 3256-62.
- 108.VO et al. (2010). Use of Intravenous Immune Globulin and rithuximab for desensitization of highly HLA-sensitized patients awaiting kidney transplantation. *Transplantation*; **89** (9) : 1095-102.
- 109.ANGLICHEAU et al. (2007). Post-transplant prophylactic Intravenous Immunoglobulin in Kidney transplant Patients at High Immunological Risk: A pilot study. *Am J Transplant*; **7** (5): 1185-92.
- 110.D. GLOTZ et al. (2002). Desensitization and subsequent kidney transplantation of patients using intravenous immunoglobulins (IVIg). *Am J Transplant*; **2**(8):758-760.
- 111.J. SLATINSKA et al. (2009). Plasmapheresis and Intravenous immunoglobulin in early antibody-mediated rejection of the renal allograft : a single-center experience. *Ther Apher Dial*; **13**(2): 108-12.
- 112.R.LERICH et al. (2005). Intravenous immunoglobulin and Plasmapheresis in acute humoral rejection: experience in renal allograft transplantation. *Hum Immunol*; **66**(4) : 350-8.
- 113.C.LEFAUCHEUR et al. (2009). Comparison of combinaison Plasmapheresis/IVIg/Anti CD 20 vs high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection. *AM J Transplant*; **9** (5): 1099-107.
- 114.S. FERRARI-L et al. (2006). Anti-HLA antibody repertoire after IVIg infusion in highly sensitized patients waiting for kidney transplantation. *Sw Med Wkly*; **136**:696-702.
- 115.LOUPY et al. (2010). Combined post-transplant prophylactic IVIg/anti-CD 20/plasmapheresis in kidney recipients with performed donor-specific antibodies. A pilot study. *Transplantation* ; **89** (11): 1403-10.
- 116.ZARKHIN et al. (2008). A randomized, prospective trial of rithuximab for acute rejection in Pediatric renal transplantation. *Am J Transplant*; **8**(12): 2607-17.
- 117.Référentiel national de bon usage des immunoglobulines IV. HAS, AFFSAPS Mars 2011 .
- 118.J. DANTAL et al. (2013). Intravenous Immunoglobulins: In Depth Review of Excipients and Acute Kidney Injury Risk. *Am J Nephrol*.
- 119.UE NYDEGGER et al. (1999). Adverse effects of intravenous immunoglobulin therapy. *Drug Saf* ;**21**(3):171-185.

- 120.CPMP/BWP/269/95 rev.3
- 121.World Medical Association Declaration Of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects - Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964 and amended by the: 29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, 35th WMA General Assembly, Venice, Italy, October 1983, 41st WMA General Assembly, Hong Kong, September 1989, 48th WMA General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa, October 1996, 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000
- 122.ICH Harmonised Tripartite Guideline - Guideline For Good Clinical Practice E6(R1), Federal Register, 9 May 1997, Vol. 62, No. 90, p. 25691-25709
- 123.LC. RACUSEN et al. (1999). The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int*; **55**(2):713-723.
- 124.OCTAGAM® Summary of Product Characteristics Octapharma Ltd. Last updated 27-05-2009
- 125.S. JORDAN. (2006). IVIGs versus plasmapheresis for desensitisation: which is better. *Am J Transplant* ;**6**:1510-1511.
- 126.S. JORDAN et al. (2006). Intravenous gammaglobulin (IVIG): a novel approach to improve transplant rates and outcome in highly HLA-sensitized patients. *Am J transplant*; **6**:459-466.
- 127.R. VALENTINI et al. (2007). Intravenous Immunoglobuline, HLA allele typing and HLAMatchmaking facilitate successful transplantation in highly sensitized paediatric renal allograft recipients. *Pediatric Transplant* ;**11**:77-81.
- 128.VO et al. (2008). Rituximab and intravenous immunoglobulin for desensitization during renal transplantation. *N Eng J Med*; **359**:242-251.
- 129.MAI et al. (2009). Excellent renal allograft survival in donor-specific antibody positive transplant patients – Role of intravenous immunoglobulin and rabbit antithymocyte globulin. *Transplantation* ;**87**:227-232.
- 130.A. DEBES et al. (2007). Tolerability and safety of the intravenous immunoglobulin Octagam: a 10 year prospective study. *Pharmacotherapy Drug Saf* ;**16**(9):1038-1047.
- 131.51^{ème} Congrès ERA-EDTA, Amsterdam 2014, abstract 14-A-914

ANNEXES

ABSTRACT¹³¹

We investigated the efficacy and safety of IV immunoglobulins (IVIg) in the prevention of acute kidney graft rejection in sensitized patients undergoing a second or third kidney graft.

Twenty-eight patients were randomized to standard immunosuppressant treatment with or without IV human immunoglobulin (Octagam[®]) and followed-up for 12 months.

The incidence of acute graft rejection in the per protocol population was 40% in the control group and 0% in the IVIg group at 3 months ($p=0.074$) and 40% versus 8.3% at 12 months ($p=0.19$). In the ITT population it was 30.0% in the control group versus 5.6% in the IVIg group at 3 months and 30% versus 16.7% at 12 months. 48 serious adverse events were reported in 9 out of 10 patients in the control arm and 12 out of 18 patients in the IVIg arm, including two deaths, one in each treatment group. Adverse event was recorded in any treatment group which could be considered a maltose induced disorder. Renal and thromboembolic adverse events occurred with similar incidences in the two groups. Most adverse events were not or unlikely related to treatment with IVIg. The nature and severity of the adverse events was related to the nature and severity of the disease and not to the treatment with IVIg.

This study reinforces the available evidence of efficacy and safety of the use of IVIg in highly sensitized transplant patients to improve transplant rate and reduce graft rejection episodes demonstrated in small patient populations studies.

¹³¹ 51^{ème} Congrès ERA-EDTA, Amsterdam 2014, abstract 14-A-914

EFFICACY AND SAFETY OF INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULINS IN THE PREVENTION OF REJECTION OF A SECOND OR THIRD KIDNEY GRAFT

D. GLOTZ¹, L. ROSTAING², J. SQUIFFLET³, P. MERVILLE⁴, C. BELMOKHTAR⁵, J. CRAVES⁶, G. LE NY⁵, Y. LEBRANCHU⁶

INTRODUCTION

Intravenous Immunoglobulins (IVIg) are used to reinforce the existing anti-rejection protocols in kidney transplant. However a limited number of retrospective and long term trials have been carried out. The objective of this trial was to address the efficacy and tolerability of high-dose IVIg in the prevention of acute rejection of a kidney graft in sensitized patients undergoing a second or third graft, who are therefore at a high risk of rejection.

OBJECTIVE

The objective of this trial was to investigate if Mg OCTAGAM treatment reinforce the action of immunosuppressive agents without increasing adverse events rate in preventing acute kidney graft rejection in sensitized patients undergoing a second or third graft.

MATERIAL AND METHODS

Patients selection and characteristics

Control		Graft	
Antilymphocyte serum 1.0 to 1.7 mg/kg/day during 1 week		Tacrolimus 0.2 mg/kg/day	
Methylprednisolone one 500 mg bolus		Prednisone 1 mg/kg/day	
		Mycophenolate Mofetil 1.5 g/day	
IVIg		Graft	
Antilymphocyte serum 1.0 to 1.7 mg/kg/day during 1 week		Tacrolimus 0.2 mg/kg/day	
Methylprednisolone one 500 mg bolus		Prednisone 1 mg/kg/day	
		Mycophenolate Mofetil 1.5 g/day	
		IVIg	IVIg
			IVIg

Efficacy assessments

The primary efficacy criterion was the 3 months acute rejection rate, confirmed by biopsy according to the Banff 97 classification⁽²⁾

Safety assessments

Safety assessment was based on adverse events and serious adverse events reporting over the one year follow-up

Statistical methodology and sample size

Due to the low number in both groups, non-parametric tests (Fisher exact test for binary endpoints and Wilcoxon test for quantitative endpoints) were used to compare treatment groups with regards to the main study endpoints. Time to events analyses used the Kaplan Meier method and the Logrank test. The type-one error was fixed to 2.5% one-sided. Two analyses were conducted, an Intention to Treat (ITT) analysis on all randomized and grafted patients, and a per-protocol analysis (identified as the primary efficacy analysis) on the subgroup of patients fulfilling the inclusion/non-inclusion criteria and having received an immunosuppressive treatment compliant with the protocol.

RESULTS

Subjects characteristics

The population of patients whose medical files were selected for this study was of 28 individuals, who were randomized, 10 in the control arm (immunosuppressive treatment alone) and 18 in the experimental arm.

Figure 1: Study population



The demographic data are detailed on the Table 1 and 2:

Table 1: Baseline characteristics of the receiver

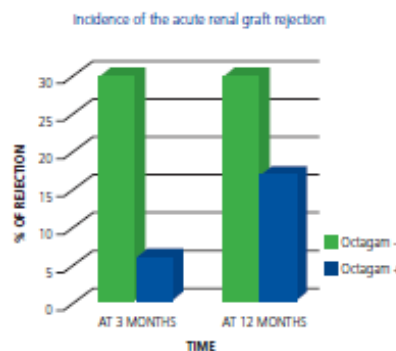
Average age at follow up	
N	28
Age	40.5 (±10.7)
Sex	
Male	57.1% (16)
Female	42.9% (12)
Average time between previous and new graft	
Time (y)	16.2 (±6.5)

Table 2: Baseline characteristics of the donors

Average age of the deceased donor	
N	28
Age	40.8 ±14.9

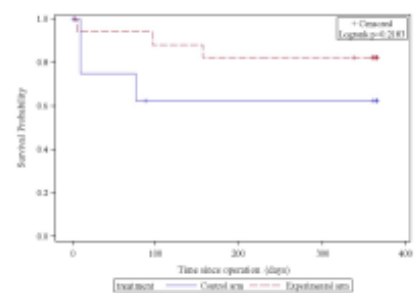
Analysis of efficacy

At three months the incidence of biopsy confirmed acute renal rejection was highly in favor of Octagam® in both analysis populations, with 1 patient (5.6%, 95% CI: [0.1%, 27.3%]) in the Octagam® group versus 3 patients (30%, 95% CI: [6.7%, 65.3%]) having experienced 5 acute rejection episodes (1 patient with 3 episodes and 2 patients with 1 episode) in the control group for the ITT population (p= 0.116). Incidence at 12 months was 16.7% (95% CI: [3.6%, 41.4%]) in the group treated by Octagam and unchanged 30% (95% CI: [6.7%, 65.3%]) in the group not treated by Octagam (ITT population analysis)



Kaplan-Meier estimates for survival time without graft rejection in the experimental and control were respectively 100% vs. 60% at month 3 (p=0.02, Logrank test) and 92% vs. 60% at month 12 (p=0.09) in the PP population. In the ITT population (figure 2), the estimates were 94% vs. 63% (p=0.058) at 3 months and 82% vs. 63% at 12 months (p=0.21).

Figure 1: Time to first Acute Graft Rejection (confirmed by biopsy) – ITT Analysis



Analysis of tolerance

Treatment Emergent Adverse Events (TEAEs) were reported in all patients of the control arm (91 TEAEs in 10 patients, 100%) and in all but one patient in the experimental arm (129 TEAEs in 17 patients, 94.4% of patients). Serious Treatment Emergent Adverse Events occurred in 9 out of 10 of the patients in the control arm (90%) with 22 events reported and in 12 out of 18 of the patients in the experimental arm (66.7%), with 26 events reported. There were two deaths, one in each treatment arm.

CONCLUSION

In summary, the objective of this work was to study if intravenous immunoglobulins (Octagam®) were able, without increasing adverse events, to reinforce the action of immunosuppressive treatment in the prevention of acute rejection of a kidney graft in sensitized patients undergoing a second or third graft, who were therefore at a high risk of rejection. The results obtained are clearly in favour of treatment with IVIg despite the low number of subjects included. No evidence of increased renal impairment over the control arm was observed, and the overall safety was similar between the two groups. The positive findings of the use of Octagam® in the prevention of second or third kidney graft compared to other therapies is thus supported by this study and confirms available data from the scientific literature.

- 1 Transplantation and Nephrology department, Hôpital Saint-Louis, Paris, FRANCE
- 2 Transplantation and Nephrology department, Hôpital de Rangueil, Toulouse, FRANCE
- 3 Transplantation and Nephrology department, Cliniques universitaires Saint-Luc, Bruxelles, BELGIUM
- 4 Nephrology department, CHU-Hôpital Pellegrin, Bordeaux, FRANCE
- 5 Octapharma France, Boulogne-Billancourt, FRANCE
- 6 Nephrology department, Hôpital Bretonneau, Tours, FRANCE

Annexe 3: Table 1: Incidence of acute graft rejection at 3 and 12 months.

	Control Arm (No IVIg)	Experimental Arm (IVIg)	p-value (Fisher exact test)
ITT population	N=10	N=18	
Acute graft rejection confirmed by biopsy (*)			
Month 3	5 / 3 30.0% [6.7%, 65.3%]	1 / 1 5.6% [0.1%, 27.3%]	0.12
Month 12	5 / 3 30.0% [6.7%, 65.3%]	5 / 3 16.7% [3.6%, 41.4%]	0.64
Acute graft rejection (**)			
Month 3	11 / 5 50.0% [18.7%, 81.3%]	7 / 5 27.8% [9.7%, 53.5%]	0.41
Month 12	11 / 5 50.0% [18.7%, 81.3%]	12 / 8 44.4% [21.5%, 69.2%]	1.00
PP population	N=5	N=12	
Acute graft rejection confirmed by biopsy (*)			
Month 3	2 / 2 40.0% [5.3%, 85.3%]	0 / 0 0% [0%, 26.5%]	0.074
Month 12	2 / 2 40.0% [5.3%, 85.3%]	1 / 1 8.3% [0.2%, 38.5%]	0.19
Acute graft rejection (**)			
Month 3	7 / 3 60.0% [14.7%, 94.7%]	3 / 3 25.0% [5.5%, 57.2%]	0.28
Month 12	7 / 3 60.0% [14.7%, 94.7%]	8 / 5 41.7% [15.2%, 72.3%]	0.62

Numbers in cells are number of episodes / number of patients with percentage of patients and 95% CI of percentage (exact confidence interval calculated using the Clopper-Pearson method)

(*) at least degree I according to Banff 97 classification

(**) according to investigator and treated as such

Annexe 4: Table 2.1-1-a: Incidence of acute rejection ITT				
Description	Not treated by Octagam® (N=10)	Treated by Octagam® (N=18)	All (N=28)	P-Value
Incidence of the acute rejection of renal graft at 3 months (confirmed by biopsy)	3 (30.0)	1 (5.6)	4 (14.3)	0.1158 (Fisher)
95% confidence interval	[6.7%, 65.2%]	[0.1%, 27.3%]	[4.0%, 32.7%]	
Incidence of the acute rejection of renal graft at 3 months	5 (50.0)	5 (27.8)	10 (35.7)	0.4119 (Fisher)
95% confidence interval	[18.7%, 81.3%]	[9.7%, 53.5%]	[18.6%, 55.9%]	
Incidence of the acute rejection of renal graft at one year (confirmed by biopsy)	3 (30.0)	3 (16.7)	6 (21.4)	0.6345 (Fisher)
95% confidence interval	[6.7%, 65.2%]	[3.6%, 41.4%]	[8.3%, 41.0%]	
Incidence of the acute rejection of renal graft at one year	5 (50.0)	8 (44.4)	13 (46.4)	1.0000 (Fisher)
95% confidence interval	[18.7%, 81.3%]	[21.5%, 69.2%]	[27.5%, 66.1%]	
Table 2.1-1-b: Incidence of acute rejection				

PP				
Description	Not treated by Octagam® (N=5)	Treated by Octagam® (N=12)	All (N=17)	P-Value
Incidence of the acute rejection of renal graft at 3 months (confirmed by biopsy)	2 (40.0)	0 (0.0)	2 (11.8)	0.0735 (Fisher)
95% confidence interval	[5.3%, 85.3%]	[0.0%, 26.5%]	[1.5%, 36.4%]	
Incidence of the acute rejection of renal graft at 3 months	3 (60.0)	3 (25.0)	6 (35.3)	0.2801 (Fisher)
95% confidence interval	[14.7%, 94.7%]	[5.5%, 57.2%]	[14.2%, 61.7%]	
Incidence of the acute rejection of renal graft at one year (confirmed by biopsy)	2 (40.0)	1 (8.3)	3 (17.6)	0.1912 (Fisher)
95% confidence interval	[5.3%, 85.3%]	[0.2%, 38.5%]	[3.8%, 43.4%]	
Incidence of the acute rejection of renal graft at one year	3 (60.0)	5 (41.7)	8 (47.1)	0.6199 (Fisher)
95% confidence interval	[14.7%, 94.7%]	[15.2%, 72.3%]	[23.0%, 72.2%]	

Annexe 4:1.2: Table 2 Most frequent treatment emergent AEs by MedDRA preferred term (ITT Population)

Event	Control Arm (No IVIg) (N=10)	Experimental arm (N=18)	ALL (N=28)
Any TEAE	10 (100.0%) [91]	17 (94.4%) [129]	27 (96.4%) [220]
Anaemia	6 (60.0%) [7]	11 (61.1%) [14]	17 (60.7%) [21]
Urinary tract infection	3 (30.0%) [6]	6 (33.3%) [7]	9 (32.1%) [13]
Hypertension	2 (20.0%) [3]	5 (27.8%) [5]	7 (25.0%) [8]
Delayed engraftment	1 (10.0%) [1]	5 (27.8%) [5]	6 (21.4%) [6]
Osteopenia	1 (10.0%) [1]	5 (27.8%) [5]	6 (21.4%) [6]
Transplant rejection	2 (20.0%) [2]	4 (22.2%) [7]	6 (21.4%) [9]
Bronchitis	2 (20.0%) [2]	3 (16.7%) [3]	5 (17.9%) [5]
Leukopenia	3 (30.0%) [3]	2 (11.1%) [2]	5 (17.9%) [5]
Renal tubular necrosis	3 (30.0%) [3]	2 (11.1%) [2]	5 (17.9%) [5]
Cytomegalovirus infection	1 (10.0%) [2]	2 (11.1%) [2]	3 (10.7%) [4]
Diarrhoea	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Dyspepsia	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Oedema peripheral	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Human polyomavirus infection	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Hyperglycaemia	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Tremor	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Anxiety	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Renal impairment	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Lung disorder	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Pancytopenia	2 (20.0%) [2]	1 (5.6%) [1]	3 (10.7%) [3]
Graft thrombosis	2 (20.0%) [3]	1 (5.6%) [1]	3 (10.7%) [4]
Diabetes mellitus	2 (20.0%) [2]	1 (5.6%) [1]	3 (10.7%) [3]
Hypocalcaemia	3 (30.0%) [3]	0 (0.0%) [0]	3 (10.7%) [3]
Hypokalaemia	2 (20.0%) [2]	0 (0.0%) [0]	2 (7.1%) [2]
Fluid overload	2 (20.0%) [2]	0 (0.0%) [0]	2 (7.1%) [2]
Oral fungal infection	2 (20.0%) [2]	0 (0.0%) [0]	2 (7.1%) [2]
Blood creatinine increased	2 (20.0%) [2]	0 (0.0%) [0]	2 (7.1%) [2]
Renal artery stenosis	2 (20.0%) [2]	0 (0.0%) [0]	2 (7.1%) [2]

Annexe 5: Table 3: Treatment Emergent Serious Adverse Event by MedDRA SOC (and Preferred Term) (ITT Population)

SOC Preferred Term	Control Arm (No IVIg) (N=10)	Experimental arm (IVIg) (N=18)	ALL (N=28)
Any Treatment Emergent Serious Adverse Event	9 (90.0%) [22]	12 (66.7%) [26]	21 (75.0%) [48]
Immune system disorders	3 (30.0%) [4]	6 (33.3%) [8]	9 (32.1%) [12]
Graft thrombosis	2 (20.0%) [2]	1 (5.6%) [1]	3 (10.7%) [3]
Transplant rejection	2 (20.0%) [2]	4 (22.2%) [6]	6 (21.4%) [8]
Renal and urinary disorders	4 (40.0%) [4]	4 (22.2%) [4]	8 (28.6%) [8]
Renal tubular necrosis	1 (10.0%) [1]	1 (5.6%) [1]	2 (7.1%) [2]
Infections and infestations	3 (30.0%) [3]	3 (16.7%) [5]	6 (21.4%) [8]
Respiratory, thoracic and mediastinal disorders	1 (10.0%) [1]	3 (16.7%) [3]	4 (14.3%) [4]
Lung disorder	0 (0.0%) [0]	2 (11.1%) [2]	2 (7.1%) [2]
Injury, poisoning and procedural complications	1 (10.0%) [1]	2 (11.1%) [2]	3 (10.7%) [3]
Blood and lymphatic system disorders	1 (10.0%) [1]	1 (5.6%) [1]	2 (7.1%) [2]
Cardiac disorders	1 (10.0%) [1]	1 (5.6%) [1]	2 (7.1%) [2]
Vascular disorders	0 (0.0%) [0]	1 (5.6%) [1]	1 (3.6%) [1]
Metabolism and nutrition disorders	3 (30.0%) [3]	0 (0.0%) [0]	3 (10.7%) [3]
General disorders and administration site conditions	2 (20.0%) [2]	0 (0.0%) [0]	2 (7.1%) [2]
Investigations	2 (20.0%) [2]	0 (0.0%) [0]	2 (7.1%) [2]
Blood creatinine increased	2 (20.0%) [2]	0 (0.0%) [0]	2 (7.1%) [2]
	0 (0.0%) [0]	1 (5.6%) [1]	1 (3.6%) [1]

Nom - Prénoms : LE NY Guillaume

Titre de la thèse : Utilisation des immunoglobulines dans la greffe rénale chez les patients immunisés

Résumé de la thèse :

La greffe de rein est le traitement de choix chez les patients atteints d'insuffisance rénale avancée. En dépit des progrès réalisés dans les techniques chirurgicales ainsi que dans la prévention et le contrôle des phénomènes de rejet, l'apparition de troubles de la fonction rénale dans les 6 mois après la transplantation ne sont pas rares. Sur la base des propriétés de immunomodulatrices et anti-inflammatoires des immunoglobulines intraveineuses plusieurs essais in vitro et in vivo, pour la plupart non-randomisées, ont été menées pour déterminer si les immunoglobulines intraveineuses pourraient renforcer les mesures immunosuppressives existantes adoptées dans la transplantation et pourrait être efficace sur le rejet aigu médié par les anticorps ainsi que sur la survie des patients.

MOTS CLÉS GREFFE, REIN, IMMUNOGLOBULINES

JURY

PRÉSIDENT : Pr Stéphane BIRKLE, Professeur d'Immunologie fondamentale et Clinique, Biotechnologies et Biothérapies, Faculté de Pharmacie de Nantes

ASSESEURS :

Pr Jean-Michel ROBERT, Professeur de Chimie Organique et Chimie Thérapeutique, Faculté de Pharmacie de Nantes

Pr Jacques DANTAL, Service de Néphrologie et Immunologie clinique
CHU de Nantes - Hôtel Dieu

Dr Jean-Charles CRAVE, Directeur Médical, Octapharma

Dr Samir SAHEB, Responsable aphérèse thérapeutique, Centre
Clinique d'Hémobiothérapie, Pitié-Salpêtrière

Adresse de l'auteur : Guillaume LE NY