

Université de Montréal

**Facteurs associés à l'infection au virus Epstein-Barr (VEB)
post-greffe chez les enfants recevant des greffes de cellules
souches hématopoïétiques (GCSH)**

par

Pascal Roland ENOK BONONG

Département de Médecine Sociale et Préventive
École de Santé Publique

Thèse présentée à la faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Ph.D. en santé publique Option épidémiologie

Août, 2020

© Pascal Roland ENOK BONONG, 2020

Université de Montréal
Département de Médecine Sociale et Préventive
École de Santé Publique

Cette thèse intitulée

Facteurs associés à l'infection au virus Epstein-Barr (VEB) post-greffe chez les enfants recevant des greffes de cellules souches hématopoïétiques (GCSH)

Présentée par

Pascal Roland ENOK BONONG

A été évalué(e) par un jury composé des personnes suivantes

Marie-Pierre Sylvestre : Présidente-rapporteuse

Helen Trottier : Directrice de recherche

Carolina Alfieri : Codirectrice de recherche

Michaël Chassé : Membre du jury

Louis Flamand : Examineur externe

Résumé

La greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) constitue une avancée thérapeutique considérable dans le traitement de maladies hématologiques et non hématologiques. Toutefois, malgré qu'elle sauve des vies, elle n'est pas sans risque. Le syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (SLPT) est l'une des complications qui peut survenir après ce type de greffe avec un risque de mortalité pouvant atteindre 80% en l'absence de traitement. Par ailleurs, les traitements disponibles pour limiter le développement de ce syndrome ne sont pas sans effets néfastes. Le SLPT est surtout une conséquence d'une primo-infection ou d'une réactivation non-contrôlée du virus d'Epstein-Barr (VEB). Au moins 90% des adultes sont porteurs du VEB alors que ce pourcentage est d'environ 50-70% chez les enfants. Il est important de bien comprendre les facteurs de risque de l'infection active du VEB et du SLPT pour une meilleure gestion des greffés. Cette thèse a pour objectif de contribuer aux connaissances quant aux déterminants du VEB et du SLPT chez les greffés pédiatriques de CSH.

Dans un premier temps, une revue systématique combinée à une méta-analyse a été réalisée pour élaborer un portrait exhaustif des facteurs de risque connus du VEB et du SLPT chez les greffés adultes et pédiatriques de CSH. Ensuite, à l'aide d'une étude de cohorte prospective multicentrique canadienne qui a enrôlé 156 patients pédiatriques greffés de CSH, le lien entre la transfusion de produits sanguins et l'infection VEB post-greffe a été analysé. Finalement, l'étude de cohorte multicentrique a aussi permis d'explorer des nouveaux facteurs de risque des événements liés au VEB allant de l'ADNémie VEB à la suspicion du SLPT.

Les résultats de la revue systématique et de la méta-analyse ont montré que l'utilisation de la globuline antithymocyte (ATG) pour prévenir la maladie du greffon contre l'hôte est le principal facteur impliqué dans la survenue post-greffe des infections actives du VEB et du SLPT. La forte hétérogénéité entre les études a limité la comparaison des résultats et très peu d'études portaient exclusivement sur les patients pédiatriques. D'autre part, l'analyse statistique au sein de la cohorte multicentrique n'a pas révélé une augmentation statistiquement significative du risque d'infection du VEB post-greffe associé à la transfusion. Toutefois, une analyse de génotypage du virus a

indiqué que la transfusion serait très probablement liée à la primo-infection VEB d'un patient séronégatif, et ce malgré la leucoréduction (qui élimine virtuellement la présence des virus associés aux composantes cellulaires des produits sanguins). Par ailleurs, nos analyses dans la cohorte multicentrique ont corroboré l'association entre l'ATG et les évènements liés au VEB post-greffe et mis en relief deux nouvelles associations. Le mycophénolate mofétil, un médicament utilisé pour prévenir la maladie du greffon contre l'hôte, limiterait le risque des évènements liés au VEB par son action antiproliférative des lymphocytes T et B (incluant ceux infectés par le VEB), tandis que les filles seraient plus à risque des formes relativement sévères de l'infection du VEB post-greffe que les garçons. Le rationnel autour de cette dernière association n'est pas connu. Des nouvelles recherches permettront d'apprécier la reproductibilité de ces résultats.

Mots-clés : Virus d'Epstein-Barr (VEB), transfusion, greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH), pédiatrique/enfant, cohorte prospective, génotypage, facteurs de risque, syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (SLPT)

Abstract

Hematopoietic stem cell transplantation (HSC) constitutes a notable therapeutic advance in the treatment of hematological and non-hematological diseases. However, despite saving lives, it is not without risk. Post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) is one of the complications that can occur after this type of transplant with a mortality risk of up to 80% if left untreated. Moreover, the treatments available to limit the development of this disease are not without harmful effects on transplant recipients. PTLD is predominantly a consequence of primary infection or uncontrolled reactivation of Epstein-Barr virus (EBV). At least 90% of adults are carriers of EBV, compared to around 50-70% in the pediatric population. It is important to understand the risk factors for active EBV infection and PLTD in order to better manage transplant recipients. This thesis aims to contribute to knowledge on the determinants of active EBV infection and PTLD in pediatric HSC transplant recipients.

First, a systematic review combined with a meta-analysis was carried out to develop a comprehensive portrait of the known risk factors for EBV and PTLD in adult and pediatric HSC transplant recipients. Then, using a Canadian multicenter prospective cohort study that enrolled 156 pediatric HSC transplant patients, the link between blood product transfusion and post-transplant EBV infection was analyzed. Finally, the multicenter cohort study also explored new risk factors for EBV-related events ranging from EBV DNAemia to suspicion of PTLD.

The results of the systematic review and the meta-analysis revealed that the use of anti-thymocyte globulin (ATG) to prevent graft-versus-host disease is the main factor implicated in the post-transplant occurrence of active EBV infection and PTLD. The high heterogeneity between studies limited the comparison of results and very few studies focused exclusively on pediatric patients. On the other hand, statistical analysis within the multicenter cohort did not reveal a significant increase in the risk of post-transplant EBV infection associated with transfusion. However, genotyping analysis of viral strains from blood donors of an EBV-negative patient who received an EBV-negative graft indicated that one of the blood donors was the source of the primary EBV infection in the patient, despite leukoreduction (which virtually eliminates the

presence of cell-associated viruses in blood products). Furthermore, our analyses in the multicenter cohort corroborated the association between ATG and post-transplant EBV-related events, and highlighted two new associations. First, mycophenolate mofetil, a drug used to prevent graft-versus-host disease, is believed to reduce the risk of EBV-related events through its antiproliferative action on T and B lymphocytes (including EBV-infected B cells). Second, girls are more at risk of relatively severe forms of post-transplant EBV infection than boys. The rationale behind this latter association is unknown. New research will make it possible to assess the reproducibility of these results.

Keywords: Epstein-Barr virus (EBV), transfusion, hematopoietic stem cell transplant (HSCT), pediatric/child, prospective cohort, genotyping, risk factors, post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD)

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	v
Table des matières	vii
Liste des tableaux	xii
Liste des figures	xiv
Liste de sigles et abréviations	xvi
Dédicace	xxi
Remerciements	xxii
Introduction	1
1. Rationnel	1
1.1 La greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) : Une avancée dans le traitement des maladies hématologiques et non hématologiques.....	1
1.2 Le virus d'Epstein-Barr (VEB)	2
1.3 Facteurs de risque de l'infection à VEB post-greffe et du SLPT	4
2. Objectifs et questions de recherche.....	7
2.1 Objectif 1 : Faire une revue systématique et une méta-analyse des facteurs de risque à l'infection active du VEB et du SLPT chez les enfants et les adultes ayant reçu une greffe de CSH	7
2.2 Objectif 2 : Évaluer le lien entre les produits sanguins déleucocytés transfusés et l'infection à VEB chez les enfants ayant reçu une GCSH	7
2.3 Objectif 3 : Déterminer les facteurs de risque de l'infection active du VEB post-greffe chez les enfants ayant reçu une GCSH.....	7
3. Organisation de la thèse	8
Chapitre 1 : État des connaissances et lacunes	10
1.1 Sources de l'infection primaire à VEB	10
1.2 Sérologie du VEB.....	11
1.3 Latence et réactivation du VEB dans le contexte de la transplantation	12
1.4 Infection à VEB chez les greffés de CSH et définitions de ses issues	13

1.5 La maladie du greffon contre l'hôte (en anglais : Graft-versus-host disease, en abrégé GvHD)	14
1.6 Facteurs de risque de l'infection active du VEB et du SLPT	16
1.6.1. Les Prophylaxies/traitements contre la GvHD	16
1.6.2. La GvHD	22
1.6.3. Le diagnostic primaire	25
1.6.4. Le type de régime de conditionnement	26
1.6.5. Le type de greffe/donneur	27
1.6.6. L'âge du receveur/donneur de greffe	29
1.6.7. Le genre du receveur/donneur de greffe	30
1.6.8. Les sérologies VEB du receveur/donneur de greffe	30
1.6.9. L'infection/réactivation du cytomégalovirus (CMV)	31
1.6.10. Le contenu du greffon	32
1.6.11. Le niveau immunitaire post-transplantation	33
1.6.12. Les facteurs génétiques	34
1.6.13. Les produits sanguins transfusés	34
1.6.14. Autres facteurs	35
1.7 Synthèse et lacunes	36
Chapitre 2 : Méthodes	38
2.1 Faire une revue systématique et une méta-analyse des facteurs de risque à l'infection active du VEB et du SLPT chez les enfants et les adultes ayant reçu une greffe de CSH	38
2.1.1 Critères d'inclusion/exclusion des publications	38
2.1.2 Concepts et mots clés	38
2.1.3 Recherche et sélection des articles	39
2.1.4 Extraction des données et évaluation de la qualité des études	40
2.1.5 Synthèse des données et interprétation des résultats	41
2.2 Matériels et méthodes : parties communes aux objectifs 2 et 3	43
2.2.1 Devis de recherche	43
2.2.2 Sites de l'étude	43
2.2.3 Population de l'étude	43
2.2.4 Base de données de l'étude	44

2.3 Matériels et méthodes pour l'objectif 2 (Évaluer l'association entre les produits sanguins déleucocytés transfusés et l'infection à VEB chez les enfants ayant reçu une GCSH)	47
2.3.1 Rationnel de l'analyse de l'association entre la transfusion sanguine et l'infection VEB post-greffe	47
2.3.2 Graphes des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre les produits sanguins transfusés et l'infection du VEB post-greffe.	52
2.3.3 Variables de l'étude.....	54
2.3.4 Analyse statistique.....	55
2.3.4.1 Statistique descriptive et inférentielle	55
2.3.4.2 Modélisation statistique.....	56
2.3.5 Génotypage VEB.....	59
2.4 Matériels et méthodes pour l'objectif 3 (Déterminer les facteurs de risque de l'infection active du VEB post-greffe et du SLPT chez les enfants ayant reçu une GCSH).....	60
2.4.1 Rationnel de l'analyse des facteurs de risque des évènements liés au VEB post-greffe	60
2.4.2 Graphes des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre les variables ATG, MMF et les issues considérées.....	63
2.4.3 Variables de l'étude.....	65
2.4.4 Analyse statistique.....	66
2.4.4.1 Statistique descriptive et inférentielle	66
2.4.4.2 Traitement des données manquantes.....	66
2.4.4.3 Modélisation statistique.....	67
2.4.5 Analyses complémentaires.....	69
2.4.5.1 Modèle de Cox combiné avec l'estimateur IPW (IPW-Cox).....	70
2.4.5.2 Modèle semi-paramétrique de risque additif.....	71
2.4.5.3 Régression logistique et modèle de Fine et Gray	72
2.4.5.4 Modèle d'Andersen-Gill (AG) et modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré selon le processus de comptage (PWP-CP)	72
2.4.5.5 Imputation multiple par équations chaînées.....	74
2.5 Approbations éthiques.....	75
Chapitre 3 : Articles.....	76

1. Premier article de la thèse	77
2. Deuxième article de la thèse.....	159
3. Troisième article de la thèse.....	190
Chapitre 4 : Résultats complémentaires	221
4.1 Article 2 : Infection par le virus d'Epstein-Barr (VEB) liée à la transfusion: une étude de cohorte prospective multicentrique chez des receveurs pédiatriques de greffes de cellules souches hématopoïétiques (étude TREASuRE).....	222
4.1.1 Résultats de l'estimation des associations entre les volumes totaux de produits sanguins et l'infection du VEB post-greffe obtenus en utilisant la régression logistique	222
4.1.2 Statistiques descriptives des poids stabilisés des modèles marginaux structurels de l'article 2	223
4.2 Article 3 : Facteurs de risque de l'infection active du Virus d'Epstein-Barr post-transplantation chez les receveurs pédiatriques de greffes de cellules souches hématopoïétiques	223
4.2.1 Résultats de l'estimation du modèle IPW-Cox pour les variables d'exposition ATG et MMF.....	223
4.2.2 Résultats de l'estimation du modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni	227
4.2.3 Résultats des estimations du modèle de Cox, du modèle de risque compétitif de Fine et Gray, et de la régression logistique	231
4.2.4 Résultats des estimations du modèle d'Andersen-Gill (AG) et du modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré selon le processus de comptage (PWP-CP).....	235
4.2.5 Résultats des estimations avec les données manquantes remplacées par la méthode d'imputation multiple par équations chaînées.....	237
4.2.6 Conclusions des résultats supplémentaires	240
Chapitre 5 : Discussion et Conclusion	243
5.1 Article 1 : Facteurs associés à l'infection active du virus d'Epstein-Barr et au syndrome lymphoprolifératif post-transplantation chez les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques : Revue systématique et méta-analyse	243

5.2 Article 2 : Infection par le virus d'Epstein-Barr (VEB) liée à la transfusion : une étude de cohorte prospective multicentrique chez des receveurs pédiatriques de greffes de cellules souches hématopoïétiques (étude TREASuRE).....	247
5.3 Article 3 : Facteurs de risque de l'infection active du Virus d'Epstein-Barr post-transplantation chez les receveurs pédiatriques de greffes de cellules souches hématopoïétiques	251
5.4 Conclusion générale	262
Bibliographie.....	266
Annexes	283
Annexe 1 : Maquette du tableau d'extraction des informations dans les articles pour la revue systématique	283
Annexe 2 : Formulaire de collecte des données de l'étude TREASuRE.....	284
Annexe 3 : Approbation éthique TREASuRE.....	277

Liste des tableaux

Chapitre 2 : Méthodes

Tableau 1 : Variables collectées dans l'étude TREASuRE	45
Table 1: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review	112
Table 2: Summary of risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD in the studies using multivariate analysis	115
Table S1: Search equation used in Medline and EMBASE	120
Table S2a: COMPONENT RATINGS OF STUDY (a modified version of the Effective Public Health Practice Project (EPHPP) Quality Assessment Tool for Quantitative Studies [24,25])...121	
Table S2b: Results of the quality evaluation of the 77 articles included in this systematic review	123
Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review	126
Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies	141
Table 1: Baseline characteristics of HSCT recipients of TREASuRE study	179
Table 2: Pre- and post-transplant transfusion	180
Table 3: Estimates of association between blood products transfused after transplant and time to first occurrence of post-transplant EBV event	181
Table 4: Summary results including serology of blood donors, plasma EBV DNA presence, cell line derivation and EBNA3b/LMP1 sequence analyses from blood (B) or in vitro-derived cell line (L)	182
Table S1: Description of EBV qPCR and serology testing according to study site	187
Table 1: Characteristics of HSCT recipients according to outcome definitions	211
Table 2: Adjusted estimates of risk factors for post-transplant EBV events in pediatric HSCT recipients obtained by Cox proportional hazards assumption model[‡]	212
Table 3: Unadjusted and adjusted estimates of risk factors of recurrence of post-transplant EBV DNAemia in pediatric HSCT recipients obtained by Prentice-Williams-Petersen gap time (PWP-GT) model	213

Table S1: Unadjusted estimates of risk factors for post-transplant EBV events in pediatric HSCT recipients obtained by Cox proportional hazards assumption model.....	218
Table S2: Confounding variables considered in each Cox proportional hazards assumption model and in each Prentice-Williams-Petersen gap time (PWP-GT) model.....	219
Tableau 1: Résultats de l'estimation des associations entre la racine carrée des volumes totaux de produits sanguins et l'infection VEB post-transplantation obtenus en utilisant la régression logistique et le modèle de risque proportionnel de Cox	222
Tableau 2 : Statistiques descriptives des poids stabilisés des modèles marginaux structurels de l'article 2.....	223
Tableau 3 : Estimations ajustées des facteurs de risque des évènements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle de Cox et le modèle IPW-Cox[‡]	225
Tableau 4 : Différences moyennes standardisées avant et après la pondération	226
Tableau 5 : Résultats de l'estimation des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni[‡]	228
Tableau 6 : Estimations ajustées des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle de risque compétitif de Fine et Gray et la régression logistique [‡].....	234
Tableau 7 : Estimations brutes et ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque de la récurrence de l'ADNémie VEB post-greffe chez les patients pédiatriques GCSH obtenues en utilisant le modèle d'AG et le modèle de PWP-CP	236
Tableau 8 : Estimations ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenus par le modèle de risque proportionnel de Cox selon la méthode d'imputation des données manquantes considérées[‡]	239
Tableau 9 : Estimations brutes et ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque de la récurrence de l'ADNémie VEB post-greffe chez les patients pédiatriques GCSH obtenues en utilisant le modèle de Prentice-Williams-Petersen avec échelle de temps par intervalles (PWP-GT) [‡]	240

Liste des figures

Chapitre 1 : État des connaissances et gaps

Figure 1 : Distinction d'une primo-infection à VEB d'une infection passée	12
Figure 2 : Dynamique de la charge virale VEB.....	13
Figure 1 : Corrélations bivariées entre les variables (Coefficient V de Cramer).....	52
Figure 2 : Graphe des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre la transfusion des globules rouges et l'infection du VEB post-greffe	53
Figure 3 : Graphe des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre la transfusion des plaquettes et l'infection du VEB post-greffe.....	54
Figure 4 : Graphe des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre l'utilisation de l'ATG et les issues de l'étude	64
Figure 5 : Graphe des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre l'utilisation du MMF et les issues de l'étude.....	65
Figure 6 : Historique des résultats des tests PCR et intervalles de risque de 5 patients définis en utilisant l'échelle de temps par intervalles.....	68
Figure 7 : Historique des résultats des tests PCR et intervalles de risque de 5 patients en considérant le temps mesuré depuis la date de la transplantation	73
Figure 1: Search strategy flowchart	107
Figure 2: Summary of some characteristics of the studies included in the systematic review	108
Figure 3: Summary of risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the studies that controlled for confounding.....	109
Figure 4: Forest plots for the association between ATG use and post-transplant EBV infection according to studies estimating adjusted HR/SHR and adjusted OR.....	110
Figure 5: Forest plots for the association between ATG use and post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD)	111
Figure 1: Timeline for data collection	183
Figure 2: Cumulative incidence (%) of post-transplant EBV infection among HSCT pediatric	184

recipients according to pre-transplant EBV serostatus.....	184
Figure 3: Cumulative incidence (%) of post-transplant EBV infection among HSCT	185
pediatric recipients according to EBV serostatus of donor/recipient pairs.....	185
Figure 4: Post-transplant EBV PCR testing results, transfusion history and clinical complications for suspected case of EBV infection through transfused platelets	186
Figure S1: Patient vs Blood Donor EBV LMP1 Sequence Comparison	188
Figure S2: Patient vs Blood Donors EBV EBNA3b Sequence Comparison	189
Figure 1: Proportion of patients EBV seropositive by age at transplant.....	215
Figure 2: Cumulative incidence of post-transplant EBV events among HSCT pediatric recipients according to the definition of events	216
Figure 3: Summary of statistically significant adjusted estimates of risk factors for post-transplant EBV outcomes in pediatric HSCT recipients according to outcomes	217
Figure 1 : Différences des moyennes standardisées avant et après la pondération	226
Figure 2 : Fonctions de régression cumulatives estimées avec leurs intervalles de confiance point-par-point à 95% des variables avec des effets variant dans le temps, obtenus en utilisant le modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni.....	231
Figure 3 : Estimations ajustées des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle de Cox, le modèle de risque compétitif de Fine et Gray et la régression logistique	233
Figure 4 : Estimations ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque de la récurrence de l'ADNémie VEB post-greffe chez les patients pédiatriques GCSH obtenues en utilisant le modèle d'AG, le modèle de PWP-CP et le modèle PWP-GT	236
Figure 5 : Estimations ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-greffe chez les patients pédiatriques GCSH selon la méthode d'imputation des données manquantes utilisée	238

Liste de sigles et abréviations

A	adults
AIC	Akaike information criterion
ADN/ DNA	acide désoxyribonucléique /deoxyribonucleic acid
Ag	antigen
AG	Andersen-Gill model
aGvHD	acute graft versus host disease/forme aigue de la maladie du greffon contre l'hôte
AL	acute leukemia
ALG	antilymphocyte globulin
ALL	acute lymphocytic leukemia
Allo	allogeneic
AML	acute myeloid leukemia
ANC	absolute neutrophil count
ASC/AUC	aire sous la courbe/area under curve
ATG	anti-thymocyte globulin / globuline antithymocyte
auto-HSCT	autologous hematopoietic stem cell transplantation
BEAM	carmustine with etoposide, cytarabine and melphalan
BM	bone marrow
BMT	bone marrow transplant
Bu	busulfan
C	children
C & A	children & adults
CB	cord blood
CBS	Canadian Blood Services/ Société Canadienne du Sang
CCR5	C-C chemokine receptor type 5/récepteur à C-C chimiokine de type 5
CFU-GM	granulocyte-macrophage colony-forming unit
cGvHD	chronic graft-versus-host disease

CHUSJ	Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine
CIBMTR	Center for International Blood and Marrow Transplant Research
CIC	conventional-intensity conditioning
CIHR	Canadian Institutes of Health Research
CLL	chronic lymphocytic leukemia
CMV	cytomégalovirus/cytomegalovirus
CsA	cyclosporine A
CSH/SCT	cellules souches hématopoïétiques/stem cell transplant
CSM/MSC	cellules stromales mésenchymateuses/ mesenchymal stromal cells
CV-VEB/EBV-VL	charge virale du VEB/ EBV viral load
Cy	cyclophosphamide
D+	donneur VEB séropositif
D-	donneur VEB séronégatif
D/R	donor/recipient
D+/R+	donor and recipient EBV serostatus positive
D-/R-	donor and recipient EBV serostatus negative
D+/R-	donor EBV serostatus positive and recipient EBV serostatus negative
D-/R+	donor EBV serostatus negative and recipient EBV serostatus positive
DMS	Différence absolue des moyennes standardisées
EA	early antigens/antigènes précoces
EBNA	EB nuclear antigens/antigènes nucléaires
EBV/VEB	Epstein-Barr virus/Virus Epstein-Barr
EBMT	European Group for Blood and Marrow Transplantation
Eq/mL	Equivalent/milliliter
ESPUM	École de Santé Publique de l'Université de Montréal
FC	full chimeras
FFP	fresh-frozen plasma
FHCRC	Fred Hutchinson Cancer Research Center
Flu	fludarabine
FRQ-S	Fonds de la recherche du Québec en santé

GCSH/ HSCT	greffe de cellules souches hématopoïétiques/hematopoietic stem cell transplants
GvHD	graft versus host disease/maladie du greffon contre l'hôte
Gy	gray
HHV-4	herpesvirus humain de type 4/ human herpes virus-4
HL	Hodgkin lymphoma
HLA	human leukocyte antigen/antigènes leucocytaires humains
HLAIDSIB	HLA identical sibling
HQ	Héma-Québec
HR	Hazard ratio
IBMTR	International Bone Marrow Transplant Registry
IC/CI	intervalles de confiance/ confidence intervals
IFNG γ	gamma interferon gene /gène interféron- γ
IgA	immunoglobuline A
IgG	immunoglobuline G
IgM	immunoglobuline M
IPTW	inverse of probability of treatment weighting
IQR	interquartile range
IRSC	Instituts de recherche en santé du Canada
LFI	limited field irradiation
LMP-1	latent membrane protein 1
MAC	myeloablative conditioning /conditionnement myéloablatif
MAR	missing at random/manquantes au hasard
MC	mixed chimeras
MCAR	missing completely at random/ manquantes complètement au hasard
MDS	myelodysplastic syndrome
MeI	melphalan
MeSH	Medical Subject Heading
MFD	matched family donor
mg/kg	milligramme par kilogramme

MICE	multiple imputation by chained equations/ imputation multiple par équations chaînées
mL	milliliter
MM	multiple myeloma
MMF	mycophenolate mofetil/ mycophénolate mofétil
MMFD	mismatched family donor
MMRD	mismatched related donor
MMUD	mismatched unrelated donor
MNC	mononuclear cells
MoAb	monoclonal antibody
MPA	mycophenolic acid
MPD	myeloproliferative disease
MRD	matched related donor
MRF	Medical Report Form
MTX	Methotrexate/ Méthotrexate
MUD	matched unrelated donor
NA	non applicable/not applicable
ng/ml	nanograms per millilitre
NHL	non-Hodgkin lymphoproliferative disease
NI	not included
NK	natural killer cells
NMAC	nonmyeloablative conditioning /conditionnement non myéloablatif
NR	not reported
NS	not significant
NST	needing systemic therapy
OR	Odds ratio/rapports de cotes
p	p-value
PBMC	peripheral blood mononuclear cells
PBSC	peripheral blood stem cells
PCR	polymerase chain reaction/amplification en chaîne par polymérase
PID	primary immunodeficiency

PLT	platelets
PMN	polymorphonuclears
PWP-CP	Prentice-Williams-Petersen counting process model
PWP-GT	Prentice-Williams-Petersen gap time model
qPCR	quantitative PCR/ PCR quantitative
R+	receveur VEB séropositif
R-	receveur VEB séronégatif
RBC	red blood cell
RIC	reduced-intensity conditioning /conditionnement à intensité réduite
RR	risk ratio/risque relatif
SD	standard deviation
SIB	sibling
SLPT/PTLD	syndrome lymphoprolifératif post-transplantation/post-transplant lymphoproliferative disease
SHR	subhazard ratio
SRBC	sheep red blood cell
TBI	total body irradiation
TCD	T-cell depletion
TGDE	Technicien en Gestion des Dossiers Étudiants
TLC	total lymphocyte count
TNC	total nucleated cells
TREASuRE	Transfusion-related EBV Infection Among Allogeneic Stem Cell Transplant Pediatric Recipients
UCB	umbilical cord blood
UCBT	umbilical cord blood transplant
µg	microgrammes
VCA	viral capsid antigen /antigène de capsid virale
VIF	Variance inflation factor/facteur d'inflation de la variance
VP16	etoposide
vs	versus

Dédicace

À mon épouse!

Tu es très brave Irène!

Merci pour ton soutien permanent!

Remerciements

Mes sincères remerciements vont en premier au Dr Helen Trottier qui m'a fait confiance pour cette aventure, qui comme l'indiquait très justement Guy Breton, ancien recteur de l'Université de Montréal, lors de la 92^{ème} collation des doctorats de 3^{ème} cycle, « ...s'apparente à l'exploration d'une forêt vierge sans carte et sans GPS... ». Vous avez été pour moi ce GPS et cette carte. Vous m'avez apporté l'encadrement scientifique adéquat et le soutien financier suffisant pour mener à bien ce projet de recherche. Pour ce soutien indéfectible et incommensurable, je vous dis simplement MERCI!

J'adresse ma profonde reconnaissance au Dr Carolina Alfieri qui a accepté se joindre au Dr Helen Trottier pour superviser cette thèse. A chaque fois que nous avons eu une discussion, j'ai toujours appris quelque chose de nouveau. Votre implication a été un tournant décisif pour la réalisation de ce travail. Merci pour votre apport technique indispensable, Merci pour votre soutien financier, Merci pour votre disponibilité, Merci pour vos encouragements.

Je remercie sincèrement les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail et de partager avec moi leur océan de connaissance.

J'exprime ma gratitude à Louise Laporte qui est pour moi la "Bibliothèque" du projet TREASuRE qui a permis la réalisation de ce travail de recherche. Louise, depuis que j'ai intégré le Laboratoire du Dr Helen Trottier vous avez répondu toujours avec promptitude à toutes mes sollicitations administratives et techniques. Vous êtes un Exemple de professionnalisme ! Aussi, un grand Merci pour la relecture de tous les documents qui ont été produits dans le cadre de cette thèse.

Je remercie Dr Michel Duval et Dr Chantal Buteau, vos apports respectifs ont été déterminants pour la compréhension des variables cliniques et l'interprétation des résultats. Merci pour votre disponibilité à chacune de mes sollicitations malgré vos emplois de temps très surchargés.

Je remercie sincèrement tous les co-auteurs des articles qui ont été rédigés dans le cadre de cette thèse. Chacun de vous a apporté sa pierre précieuse à l'édifice. Vos commentaires et suggestions ont substantiellement amélioré les contenus des différents articles.

J'exprime ma profonde reconnaissance à l'Université de Montréal et au Centre de Recherche du CHU Sainte Justine pour les différentes bourses que j'ai reçues durant mon parcours doctoral.

J'adresse ma gratitude au Pr Michèle Rivard qui m'a offert la possibilité de l'accompagner pendant plusieurs années dans deux de ses cours à savoir : « Introduction à la biostatistique » et « Atelier de biostatistique ». J'ai beaucoup appris de ces expériences.

Je remercie tous les collègues du Laboratoire du Dr Helen Trottier en l'occurrence Monica, Joseph, Mohammed, Cathérine, Jean Claude, Andrea, Soukeyna. Vos présentations et les discussions lors des rencontres du Laboratoire ont contribué à bonifier ce travail. Mention spéciale à Monica qui m'a accompagné dans la réalisation de la revue systématique et la méta-analyse.

Je remercie mes enseignants de l'École de Santé Publique de l'Université de Montréal (ESPUM) pour la qualité des enseignements reçus.

Je remercie le personnel administratif de l'ESPUM et de manière singulière les Technicienne en Gestion des Dossiers Étudiants (TGDE) pour le soutien administratif.

J'adresse un merci spécial à ma chère mère qui n'a jamais cessé de me soutenir depuis le début de mon aventure sur la terre.

Je remercie tous mes amis, frères et sœurs qui m'ont soutenu et ont veillé sur ma famille tout au long de cette formation. Je pense particulièrement à Jean Paul, Ghislaine, Bruno, Olivier, Thérèse, Tatiana, Odile, Aline, Éliane, Joseph, Éric, Narcisse, Serge, Raoul, Salissou. Une mention spéciale à Jean Paul et à Ghislaine pour tout le soutien.

Je remercie toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de ma formation, mais qui n'ont pas été citées nommément.

Introduction

1. Rationnel

1.1 La greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) : Une avancée dans le traitement des maladies hématologiques et non hématologiques

La greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) incluant la greffe de sang du cordon, de moelle osseuse ou de sang périphérique consiste à remplacer les cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui sont détériorées à cause des agents chimio-thérapeutiques, une radiothérapie ou un cancer par des CSH saines. Les trois principaux types de greffes de cellules souches sont : la greffe allogénique (le donneur est soit un membre de la famille du patient, soit un volontaire); la greffe syngénique (les cellules souches de remplacement proviennent d'un jumeau identique); et la greffe autologue (les cellules souches de remplacement sont issues de la moelle osseuse ou du sang du patient).^{1,2} Cette pratique initiée en 1957^{2,3} est actuellement utilisée pour pallier les problèmes de santé liés aux troubles hématologiques et non hématologiques^{2,4} comme par exemple : la leucémie, le lymphome, les troubles de cellules plasmatiques, l'aplasie médullaire.⁵ Entre 2006 et 2014, les données relatives à l'activité de GCSH collectées par l'organisation "Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation" auprès de plus de 70 pays de cinq continents ont mis en lumière une augmentation importante du nombre de GCSH réalisées au cours du temps.^{3,5} De manière précise, selon les données rapportées par 72 pays⁵, un total de 146 808 GCSH avaient été réalisées au cours de la période 2006-2008. Ces greffes se répartissaient en 45% d'allogéniques et 55% d'autologues. Le cumul du nombre de GCSH réalisées et rapporté par 1516 centres de greffe de 75 pays entre 2006 et 2012 était de 953 621 (42% d'allogéniques et 58% d'autologues).³ Cette augmentation vertigineuse s'explique par le fait que la GCSH est désormais un traitement de choix pour de nombreux patients atteints de troubles congénitaux sévères définis ou acquis du système hématopoïétique. Aussi, l'on a observé une expansion des registres des donneurs non apparentés permettant d'inclure plus de 20 millions de donneurs volontaires de type antigène leucocytaire humain dans le monde. Par ailleurs, le succès de la greffe nécessite le contrôle d'un ensemble de

facteurs susceptible d'accroître la morbidité et la mortalité post-greffe. C'est le cas des infections et notamment de celle causée par le virus Epstein-Barr (VEB).

1.2 Le virus d'Epstein-Barr (VEB)

Le VEB aussi appelé herpèsvirus humain de type 4 (HHV-4) a été découvert en 1964 par Epstein et Barr dans les cellules dérivées de lymphome de Burkitt.⁶ Il fait partie de la famille de huit *Herpesviridae* [Virus Herpès simplex types 1 et 2 (HSV-1, HSV-2); Virus de la varicelle et du zona (VZV); Cytomégalovirus (CMV); herpèsvirus humain 6 (HHV-6); herpèsvirus humain 7 (HHV-7); herpèsvirus humain 8 (HHV-8)].⁷ Le VEB est un virus omniprésent avec une séroprévalence d'environ 50 à 70% dans la population pédiatrique vivant dans des pays développés et qui atteint 90 à 99% au milieu de l'âge adulte.^{8,2,9-11} Chez les enfants, les pics de séroconversion s'observent entre 1-6 et 14-20 ans.^{10,12,13} Il n'y a pas de différence significative de la séroprévalence selon le sexe chez les enfants et les mauvaises conditions socioéconomiques favorisent l'infection primaire en jeune âge.¹⁴ Il existe deux génotypes différents (VEB de type 1 et 2) avec multiples souches. Le type 1 est le plus fréquent. Toutefois, le type 2 est plus présent dans des régions telles que l'Afrique centrale, la Papouasie Nouvelle Guinée et l'Alaska.¹⁴ Il n'est pas rare de trouver plusieurs souches du virus chez les individus, c'est le cas par exemple des hémophiles et les immunodéprimés.¹⁵⁻²¹ Les manifestations cliniques des différentes souches semblent similaires.¹⁴ L'infection primaire survient après un premier contact avec le virus et est généralement asymptomatique (ou avec des symptômes mineurs) lorsqu'elle est contractée pendant la petite enfance.¹⁴ Chez les adolescents, l'infection primaire cause la mononucléose dans plus de 50% des cas.¹⁴ La période d'incubation de l'infection est de 4 à 7 semaines chez les adultes^{14,22} et 1 à 2 semaines chez les enfants.²² Une fois l'infection contrôlée, le virus se loge dans les cellules B de manière latente²³ et peut se réactiver en présence d'une baisse du niveau immunitaire.²⁴ En plus de la mononucléose, l'infection à VEB est aussi associée à une multitude de manifestations cliniques plus ou moins sévères comme l'hépatite, des complications neurologiques, le syndrome de Guillain-Barré.^{25,26} Ce virus a été également mis en cause dans le développement des cancers tels que le lymphome de Burkitt, le carcinome du nasopharynx, le lymphome de Hodgkin et le carcinome gastrique.^{27,28} En 2010, on estimait que ce virus oncogène était responsable de 1,8% du total des décès liés au cancer. Par rapport à la situation en 1990, on a constaté, en 2010, une augmentation de 14,6% du poids de ces maladies dans la mortalité due aux cancers.²⁸

En outre, les greffés de cellules souches qui ont une infection primaire (nouvelle infection) à VEB ou une réactivation post-greffe de ce virus sont susceptibles de développer un syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (SLPT).²⁹⁻³⁶ Le SLPT est un groupe hétérogène de maladies résultant de la prolifération néoplasique incontrôlée des cellules lymphoïdes ou plasmocytaires survenant dans le contexte de greffe d'organes solides ou de GCSH.³⁷ Comparativement au contexte de greffe d'organes solides, la majorité des cas de SLPT après une GCSH a été associée au VEB.³⁷ Le nombre de cas de SLPT dus au VEB est estimé à plus de 80%.^{28,38} L'incidence du SLPT peut atteindre 24% dépendamment des facteurs de risque présents.³⁹⁻⁴¹ L'incidence la plus élevée du SLPT est observée au cours des 6 premiers mois après la GCSH, la majorité des cas se produisant pendant la première année après la transplantation.^{32,34,40,42,43} L'on note que les enfants sont généralement plus à risque car ils sont le plus souvent naïfs au VEB avant la transplantation.⁴⁴ En l'absence de traitement, la mortalité due à cette maladie avoisinerait 80%.^{2,28,35,45,46} Dans le même ordre d'idées, un risque plus important des décès liés à la greffe a été rapporté chez les personnes ayant une charge virale du VEB (CV-VEB) élevée comparativement à celles dont les valeurs de la CV-VEB étaient faibles.³²

Par ailleurs, l'augmentation rapide et soutenue de la CV-VEB dans le sang peut être utilisée pour identifier les patients à haut risque d'évolution vers le SLPT.⁴⁷ Par conséquent, la pratique actuelle recommande la surveillance régulière de la CV-VEB post-transplantation en utilisant le test quantitatif de réaction en chaîne par polymérase (qPCR) afin d'anticiper la progression vers le SLPT.^{48,49} Cependant, il n'y a pas de consensus sur le niveau de la CV-VEB à partir duquel un patient présente un haut risque de développer le SLPT.^{32,35,50} Cette situation s'explique partiellement par l'absence de normes universelles pour les tests d'acide nucléique.³⁷ Une réduction de l'intensité de l'immunosuppression⁵¹ ou un traitement avec un monoclonal anti-CD20 (rituximab)^{37,52} peut être utilisé pour freiner l'augmentation de la CV-VEB et par conséquent empêcher la survenue du SLPT.^{37,51,52} L'utilisation du rituximab est l'option la plus recommandée chez les patients ayant reçu une GCSH.³⁵ Le succès de sa réponse varie de 55% à 100%.³⁴ Toutefois, chacune de ces alternatives pour réduire la CV-VEB présente des inconvénients importants. En effet, la réduction de l'intensité de l'immunosuppression peut augmenter le risque de la maladie due à la réaction du greffon contre l'hôte (Graft versus host disease, en abrégé GvHD).³⁴ De plus, cette pratique ne permet pas généralement d'obtenir le résultat escompté lorsqu'elle est réalisée dans un voisinage très proche de la date de la transplantation en raison de

l'état d'immunosuppression profond des patients. Le système immunitaire en régénération n'est pas en mesure de se restaurer assez rapidement pour détruire les cellules malignes.² Quant au rituximab, son utilisation pourrait avoir des conséquences néfastes pour les patients déjà immunodéprimés, en favorisant notamment la survenue d'autres infections fatales. En effet, en plus de détruire les lymphocytes B infectés par le VEB, le rituximab détruit les cellules B matures, supprimant ainsi la production d'immunoglobulines antimicrobiennes.³⁴ D'autre part le rituximab devrait être utilisé avec précaution car son effet sur les compartiments des cellules B peut aller au-delà de 6 mois après le traitement.² Soulignons par ailleurs que l'infection à VEB post-greffe augmente les coûts de la prise en charge à travers notamment la prolongation de la durée d'hospitalisation, l'utilisation des médicaments onéreux pour faire baisser la charge virale VEB (CV-VEB), les radiologies et autres soins médicaux.⁵³

En somme, l'infection du VEB post-greffe constitue un problème de morbidité très important chez les greffés. Il est important d'approfondir l'analyse de ces déterminants afin d'améliorer les stratégies de prise en charge et de prévention de la SLPT.

1.3 Facteurs de risque de l'infection à VEB post-greffe et du SLPT

Plusieurs décennies après la découverte du VEB, la question sur les sources exactes de transmission de ce virus reste d'actualité.¹⁴ On pense tout de même que la majorité des cas de transmission se fait via la salive.^{12,14} Parmi les autres potentielles sources de transmission du VEB, il y a le contact génital.^{14,54-56} Toutefois, la difficulté évoquée pour cette dernière source est de pouvoir faire la distinction entre la transmission par voie génitale, la transmission par un contact orogénital et la transmission par des baisers.¹⁴ Quelques cas de transmission via le placenta et le lait maternel ont par ailleurs été signalés.¹⁴ La transmission du VEB via les produits sanguins transfusés a été montrée dans certaines études,⁵⁷⁻⁶³ cependant cette source de transmission fait l'objet de débats depuis l'universalisation de la leucoréduction des produits sanguins (plaquettes et globules rouges) autour des années 2000.⁶⁴ Cette méthode consiste à filtrer les produits sanguins avant qu'ils ne soient transfusés afin de détruire plus de 99,9% de la quantité résiduelle des globules blancs, présents dans les plaquettes et les globules rouges des dons de sang, qui sont responsables d'effets indésirables notamment les infections.^{65,66} Toutefois, les études post introduction de la leucoréduction n'ont pas permis de clore ce débat. En effet, même si l'efficacité de la leucoréduction à éliminer le signal du test PCR (polymerase chain reaction ou amplification en chaîne par polymérase) du VEB dans des poches de sang infectées a été mise en évidence, celle-ci

n'est pas toujours égale à 100%.^{63,66-68} Ainsi, l'hypothèse de transmission du VEB via les produits sanguins déleucocytés ne peut pas être rejetée dans l'absolu. Par ailleurs, deux études récentes ont montré la présence du VEB dans des poches de sang déleucocité (Qu et al.⁶⁶ et Trottier et al.⁶³) Aussi, une relation positive entre le volume des produits sanguins transfusés et l'infection à VEB post-greffe a été mise en relief précédemment.⁶² La question de la transmission potentielle de VEB par l'entremise des produits sanguins reste matière à débat et fait l'objet d'un des objectifs de cette thèse.

Par ailleurs, l'ensemble des déterminants de l'infection VEB reste à étudier spécialement dans la population pédiatrique. Il convient d'abord de dire que l'infection VEB chez les greffés peut être le résultat d'une infection primaire ou d'une réactivation mais cette distinction n'est généralement pas faite dans les différentes études de la littérature. Toutes les définitions utilisées sont principalement basées sur la charge virale sanguine du VEB obtenue par un test PCR sans distinction de l'infection primaire ou de la réactivation.^{32,49,52,53,69-74} Malgré cela, le terme le plus souvent utilisé pour définir l'infection est la réactivation même s'il n'y a de façon de la distinguer sur la base du PCR. Dans cette thèse, on fera référence à l'infection active.

Plusieurs facteurs associés à l'infection au VEB post-greffe ont été identifiés par quelques études portant exclusivement sur des enfants^{53,62,75-79} ou sur des échantillons composés intégralement d'adultes^{32,46,52,72,73,80,81} ou encore par des études réalisées sur des échantillons mixtes (enfants et adultes).^{49,70,82-92} L'utilisation de l'anti-thymocyte globuline (ATG) comme prophylaxie ou traitement contre la maladie due à la réaction du greffon contre l'hôte (graft-versus-host disease en anglais, en abrégé GvHD)^{46,70,73,75,76,87,92} et la GvHD^{46,53,75,78,79,86,89,90} sont les facteurs de risque de l'infection avec le VEB les plus souvent trouvés. Les autres facteurs associés à la réactivation du VEB qui ont été mis en lumière dans certaines études sont : le diagnostic primaire^{49,83,84}, l'âge du patient⁸², le sexe du donneur de greffe^{87,88} le type de régime de conditionnement,^{75,84,92} la sérologie VEB du donneur et du receveur de greffe⁸⁶, la réactivation du CMV,⁵² la compatibilité HLA du donneur,⁹⁰ le contenu du greffon (CD3⁺, CD3⁺CD8⁺, CD34⁺),^{70,80} l'utilisation des corticostéroïdes⁸⁷ l'utilisation de la cyclosporine A comme prophylaxie contre la GvHD,⁸⁰ l'épuisement des lymphocytes T,^{77,91} la reconstitution immunitaire (quantité de lymphocyte CD4⁺ à +1 mois après GCSH, le nombre de cellules Vδ2⁺ T à 30 jours post-greffe),^{32,81} le volume de plaquettes transfusé,⁶² la présence du génotype IFNG 3/3⁸⁵ et la présence d'une mutation de délétion CCR5.⁸² Les études ayant mis en évidence les facteurs associés à l'infection

avec le VEB susmentionnés sont hétérogènes non seulement en termes de définition de l'infection avec le VEB mais aussi en termes de facteurs de risque examinés, de modèles statistiques utilisés, de taille d'échantillon et de méthodes de sélection des variables pour le modèle statistique final. Cette situation complexifie la comparaison des résultats des différentes études. D'autre part, ces études se sont limitées à l'identification des facteurs associés à la première occurrence du VEB post-transplantation, bien que pendant le suivi un patient pourrait avoir plusieurs épisodes de réactivation (récurrence).^{49,93} La prise en compte de la récurrence des épisodes de réactivation dans les analyses pourrait contribuer à une meilleure compréhension du phénomène.

D'autre part, des facteurs associés au SLPT ont été mis en exergue par plusieurs études portant soit sur un échantillon composé d'enfants et d'adultes,^{4,39,43,70,84,94-97} soit sur un échantillon constitué exclusivement d'adultes.^{72,98} Ces facteurs sont: l'utilisation de l'ATG comme prophylaxie ou traitement contre la GvHD,^{39,43,94,95,98} le type de régime de conditionnement,^{4,39,84,94,98} la GvHD,^{4,43,96} l'âge du receveur de greffe,⁴³ la sérologie du VEB du donneur et du receveur de greffe,⁴ l'épuisement des lymphocytes T,⁴³ la compatibilité HLA du donneur,⁴ la restauration immunitaire (nombre de cellules CD8⁺ à 30 jours après GCSH, nombre d'immunoglobuline M à 30 jours après GCSH),⁹⁷ la réactivation du Cytomégalovirus (CMV),⁹⁷ la splénectomie,⁴ le traitement des cellules stromales mésenchymateuses (MSC)⁷⁰ et l'augmentation progressive de la CV-VEB de 1 log.⁷⁰ Il ressort de tout ce qui précède un besoin en informations sur les facteurs de risque de l'infection à VEB post-greffe ainsi que sur ceux du SLPT et ce spécialement chez les enfants qui reçoivent les GCSH car la majorité des études sur ces questions ont été réalisées sur des échantillons composés d'enfants et d'adultes. De plus, selon le type de greffe, la restauration immunitaire par reconstitution des cellules T après la transplantation peut être différente entre les enfants et les adultes.⁹⁹ Il en ressort aussi que nous n'avons pas une bonne compréhension des déterminants de l'infection avec le VEB en fonction des différentes définitions (occurrence de la virémie, récurrence de la virémie ou des issues plus sévères comme l'augmentation de la charge virale ou le développement de SLPT).

Pour contribuer à l'amélioration de la prise en charge des enfants recevant des GCSH, ce travail de recherche aborde quelques préoccupations susmentionnées. Il a été question notamment de consolider et d'étendre la littérature existante en termes de facteurs de risque de l'infection active du VEB chez les receveurs de GCSH et d'apporter de l'évidence supplémentaire sur les

déterminants de cette infection en faisant un focus sur un ensemble de facteurs de risque possibles incluant la transfusion de produits sanguins déleucocytés.

2. Objectifs et questions de recherche

Cette thèse avait pour objectif général de mettre en relief les facteurs de risque de l'infection active à VEB dans la période post-transplantation chez les enfants ayant reçu une GCSH. Les objectifs spécifiques sont déclinés ci-dessous.

2.1 Objectif 1 : Faire une revue systématique et une méta-analyse des facteurs de risque à l'infection active du VEB et du SLPT chez les enfants et les adultes ayant reçu une greffe de CSH

Les questions de recherche qui ont été examinées étaient les suivantes :

- i. Quels sont les facteurs de risque connus de l'infection active du VEB chez les enfants et les adultes ?
- ii. Quels sont les facteurs de risque connus du SLPT chez les enfants et les adultes ?
- iii. Quels sont les lacunes en informations à combler par des nouvelles études pour une meilleure compréhension de l'infection active du VEB et du SLPT chez les enfants recevant une greffe de CSH ?

2.2 Objectif 2 : Évaluer le lien entre les produits sanguins déleucocytés transfusés et l'infection à VEB chez les enfants ayant reçu une GCSH

Les questions de recherche qui ont été adressées étaient les suivantes :

- i. Y-a-t-il une augmentation du risque d'infection à VEB due à la réception de transfusion de globules rouges ?
- ii. Y-a-t-il une augmentation du risque d'infection à VEB due à la réception de transfusion des plaquettes ?
- iii. Peut-on faire le lien entre les receveurs infectés et les donneurs de sang ?

2.3 Objectif 3 : Déterminer les facteurs de risque de l'infection active du VEB post-greffe chez les enfants ayant reçu une GCSH

Les questions de recherche qu'on cherchait à répondre pour cet objectif étaient les suivantes :

- i. Quels sont les facteurs de risque de l'ADNémie VEB post-transplantation ?
- ii. Quels sont les facteurs de risque de la récurrence des épisodes d'ADNémie VEB post-transplantation ?
- iii. Quels sont les facteurs de risque d'une montée significative de la charge virale du VEB post-transplantation ?
- iv. Quels sont les facteurs de risque du SLPT ?
- v. Existe-t-il une différence entre les facteurs de risque en lien avec l'occurrence de l'ADNémie VEB, la récurrence de l'ADNémie VEB et l'occurrence des issues sévères associés au VEB dont une montée significative de la charge virale VEB et le SLPT ?

3. Organisation de la thèse

Cette thèse par article a été rédigée en cinq chapitres. La recension des écrits pour mettre en lumière l'état des connaissances respectivement sur les sources de transmission de l'infection primaire du VEB, sur les facteurs de risque connus de l'infection à VEB post-greffe ainsi que sur les facteurs de risque du SLPT fait l'objet du premier chapitre. Le deuxième chapitre présente les éléments méthodologiques qui ont été utilisés pour réaliser chaque objectif de la thèse. Le troisième chapitre est constitué de trois articles scientifiques qui répondent spécifiquement aux trois objectifs de la thèse. Le premier article, qui est complémentaire au premier chapitre, est une revue systématique couplée à une méta-analyse. Celui-ci dresse un panorama exhaustif des facteurs de risque connus de l'infection active du VEB post-greffe ainsi que ceux du SLPT chez les greffés de CSH. Le deuxième article est centré sur l'analyse de l'association entre les produits sanguins déleucocytés transfusés et l'infection à VEB post-greffe. Il repose sur la première étude de cohorte prospective TREASuRE construite pour mesurer le lien entre les produits sanguins transfusés et l'infection à VEB chez les greffés pédiatrique de CSH. Le troisième article examine les facteurs associés à l'infection active du VEB post-greffe au sein de la cohorte TREASuRE dans la perspective de consolider et d'étendre la littérature existante.

Le quatrième chapitre présente des résultats supplémentaires qui n'ont pas été présentés au chapitre 3. On y retrouve les résultats des analyses de sensibilité et du calcul de la puissance statistique empirique.

Le cinquième chapitre présente la discussion générale des résultats de chaque objectif de la thèse y mettant en exergue les points forts et les limites du travail ainsi que les perspectives en termes de recherche.

Chapitre 1 : État des connaissances et lacunes

Ce chapitre est consacré à la revue de la littérature. La première section met en lumière les sources de l'infection primaire à VEB, les définitions de l'infection active du VEB et du SLPT et donne un aperçu de la GvHD. Les facteurs de risque connus de l'infection active du VEB et du SLPT sont présentés au quatrième point et le chapitre est bouclé par une synthèse mettant en relief les lacunes à adresser par des nouvelles recherches. Il est important de préciser qu'il y a une similitude entre ce chapitre et le 1^{er} article présenté au troisième chapitre qui est une revue systématique et une méta-analyse des facteurs de risque de l'infection du VEB post-transplantation et du SLPT.

1.1 Sources de l'infection primaire à VEB

L'infection primaire (primo-infection) à VEB est la détection du virus chez un individu antérieurement séronégatif. La salive est considérée comme la principale source de transmission du VEB.^{12,14} Ce virus peut aussi être transmis via le contact génital,^{14,54-56} le placenta et le lait maternel,¹⁴ ainsi que par produits sanguins.⁵⁷⁻⁶³ Pour ce qui est des produits sanguins, Gerber et al.⁵⁸ ainsi que Henle et al.⁵⁹ ont rapporté respectivement quatre et trois cas de séroconversion chez des patients ayant subi une opération du cœur. Tous ces patients étaient séronégatifs au VEB avant l'opération et ont tous reçu des produits sanguins. C'est à la suite de l'apparition des signes de mononucléose que le diagnostic de l'infection à VEB a été posé. Dans la même veine, Alfieri et al.⁵⁷ ont documenté un cas de transmission du VEB lié à la transfusion sanguine chez un enfant séronégatif au VEB au moment de la greffe et ayant reçu une greffe de foie VEB-négative. La souche du virus détecté chez cet enfant correspondait à celle de l'un des donneurs du sang qui a été transfusé à l'enfant. Ce donneur de sang avait développé une mononucléose 15 mois avant le don du sang. Il est important de préciser cependant que ces cas rapportés dans la littérature couvrent la période avant l'universalisation de la leucoréduction implantée vers l'année 2000.⁶⁴ La leucoréduction est une méthode de filtrage des produits sanguins qui vise à détruire potentiellement plus de 99,9% de la quantité résiduelle des globules blancs, présents dans les plaquettes et les globules rouges des dons de sang, qui sont responsables d'effets indésirables notamment les

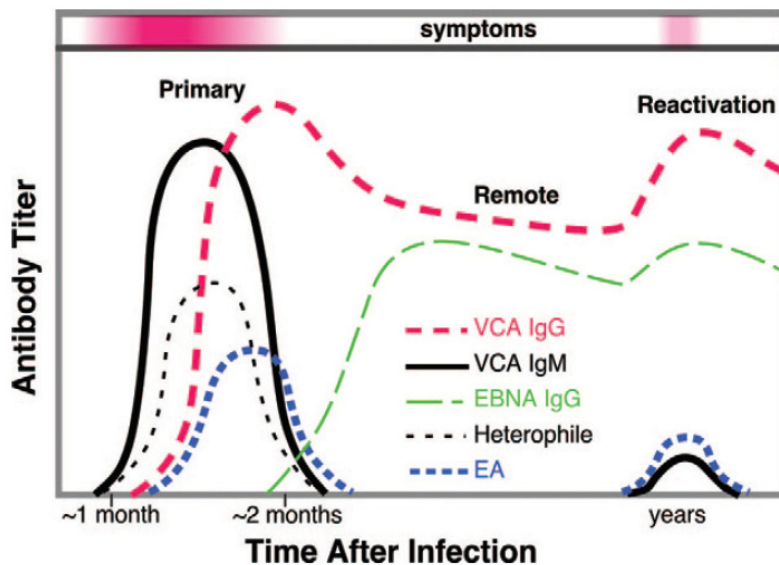
infections.^{65,66} Cependant, selon les études rapportées dans la littérature, la possibilité de transmission du VEB via la transfusion des produits sanguins déleucocytés reste plausible. De leur côté, Qu et al.⁶⁶ ont évalué, en 2005, la capacité de la leucoréduction à éliminer le signal du VEB dans les globules rouges en utilisant un échantillon de 16 poches de sang. Avant la mise en œuvre du processus de filtrage, le test PCR (polymerase chain reaction) de détection du VEB a mis en évidence 14 poches de sang positives au VEB. Après la leucoréduction, une seule poche de sang a été détectée positive au VEB par le test PCR. Celle-ci se caractérisait par une charge virale VEB élevée (72630 génomes VEB) avant la leucoréduction. Un résultat similaire a été mis en lumière, en 2016, par Trottier et al.⁶³ qui ont détecté le VEB (en forte charge virale) dans une unité de plaquettes sur un total de 100 unités testées ayant subi le processus de leucoréduction. Wagner et al.⁶⁷ ont par contre soutenu que la leucoréduction était suffisante pour éliminer le risque de transmission du VEB via les produits sanguins. En effet, d'après leur étude, la leucoréduction a éliminé le signal PCR pour le VEB dans 15 unités de sang sur 16 contaminées par le VEB et que les 15 enfants qui ont reçu les 15 unités de sang n'ont pas connu de séroconversion au bout de 11 semaines. Par ailleurs, l'étude de Qu et al.⁶⁸ a mis en relief l'efficacité de la leucoréduction qui a éliminé le signal PCR de quatre poches de plaquettes positives au VEB. Au regard des résultats susmentionnés, la leucoréduction est efficace pour réduire le risque de transmission du VEB via les produits sanguins mais ne réduit pas le risque à zéro. En effet, la présence du VEB dans les produits sanguins déleucocytés a été montrée dans certaines études et ce notamment lorsque la charge virale du VEB dans le sang du donneur est élevée. Cependant, même s'il semble clair que l'on puisse détecter de l'ADN du VEB dans le sang déleucocyté ce n'est pas pour autant que le virus a la capacité de se répliquer une fois le sang transfusé dans un contexte clinique. Il est donc important d'étudier dans une cohorte de patients transfusés, particulièrement dans des bassins à risque comme des patients immunosupprimés, le risque de transmission et les conséquences potentielles de ce virus pouvant être transmis par transfusion. Par ailleurs, une étude de cohorte prospective qui permettrait le génotypage des différentes souches de VEB trouvés chez les donneurs de sang et les greffés infectés apporterait sans doute une réponse claire à la question de la transmission du VEB par l'entremise des produits sanguins déleucocytés.

1.2 Sérologie du VEB

La Figure 1 représente la cinétique de la réponse en anticorps contre le virus Epstein-Barr lors d'une infection primaire qui évolue en infection passée ('remote') et qui peut ensuite se

réactiver chez certains individus. L'évolution des courbes d'anticorps est en fonction de la symptomatologie. L'utilisation d'un panel d'essais sérologiques permet de différencier l'infection primaire (aiguë), l'infection passée ('remote') et l'infection réactivée. Lors d'une infection primaire par le VEB, les premiers anticorps à paraître sont des immunoglobulines M (IgM) contre les antigènes de la capsid virale (VCA). L'apparition de signes cliniques concorde avec la production d'anticorps hétérophiles qui agglutinent les globules rouges d'autres espèces de mammifères. Ceux-ci sont suivis par la production des anticorps immunoglobulines G (IgG) dirigés contre le VCA et les antigènes précoces (EA). Cependant, la réponse humorale aux antigènes nucléaires (EBNA) apparaît plus tardivement, lors de l'atteinte de la phase de convalescence. Cette phase se caractérise par une baisse dramatique des titres anti-EA et des titres IgM anti-VCA, et une hausse des titres IgG anti-EBNA. Les IgG anti-VCA et anti-EBNA persistent à vie.

Figure 1 : Distinction d'une primo-infection à VEB d'une infection passée



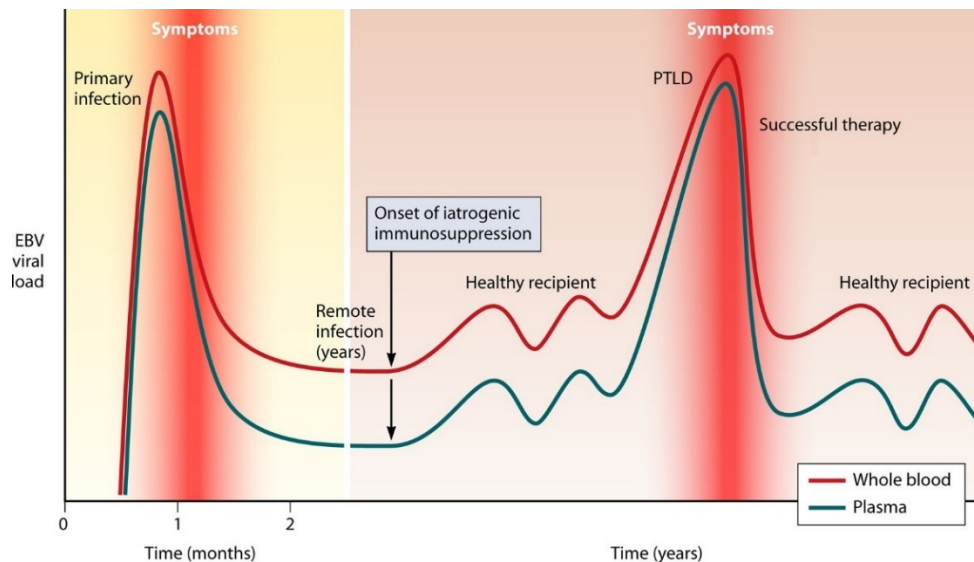
Source : ML Gulley and W Tang¹⁰⁰ (Figure reproduite avec permission de l'Elsevier, License 4996001101386)

1.3 Latence et réactivation du VEB dans le contexte de la transplantation

L'infection primaire est généralement caractérisée par une augmentation de la CV-VEB jusqu'à ce que celle-ci soit maîtrisée par le système immunitaire.²⁴ Dès lors, le VEB établit une infection latente dans les cellules B.^{23,24,101} Chez les individus immunocompétents, l'infection latente est généralement bien contrôlée par le système immunitaire tout au long de la vie. Cependant, une réactivation peut être observée en présence d'une baisse du niveau immunitaire.²⁴

Ainsi, l'affaiblissement du système immunitaire étant un élément clé dans le processus de la greffe, notamment pour prévenir le rejet du greffon, et le VEB étant un virus omniprésent, le risque de réactivation du VEB est élevé chez les greffés dans la période post-transplantation. À travers la Figure 2, Gulley et Tang²⁴ ont illustré la dynamique de la charge virale du VEB lors d'une infection primaire, après l'application de l'immunosuppression et suite au succès d'une thérapie visant prévenir ou traiter le SLPT.

Figure 2 : Dynamique de la charge virale VEB



Source : Gulley et Tang²⁴ (Figure reproduite avec permission de l'American Society for Microbiology)

1.4 Infection à VEB chez les greffés de CSH et définitions de ses issues

Il n'y a pas une définition consensuelle de l'infection active du VEB post-greffe. Cela est en lien avec l'absence d'une technique PCR standardisée permettant de détecter l'ADN VEB dans le sang.¹⁰² Les tests PCR pour la détection de l'ADN VEB dans le sang sont principalement utilisés avec du sang total,^{32,52,53,74,77,83,86,103-105} du sang périphérique^{69,71,73,76,80-82,85,88,90,106-109} ou du plasma.^{70,72,84,87,91,92,94,110,111} La sensibilité des tests PCR n'est pas significativement différente lorsqu'on utilise le sang total ou le sang périphérique, mais celle-ci est moins élevée avec le plasma.¹¹² Dans les études disponibles dans la littérature, la réactivation du VEB est généralement définie par une valeur de la charge virale sanguine du VEB (CV-VEB) supérieure ou égale à un seuil fixé. Cette valeur seuil varie d'une étude à une autre. Ci-après quelques seuils considérés dans les études: >50 g Eq/mL,^{70,91,105} ≥ 100 copies/mL,⁸⁰ >200 copies/mL,⁴⁹ ≥ 500 copies/mL,^{46,52,71,83,86,92,94,104,111} ≥ 1000 copies/mL,^{72,73,103,110} ≥ 10000 copies/mL,^{32,74} ≥ 40000

copies/mL,⁵³ >300 copies/μg DNA.⁷⁷ Dans les études susmentionnées, la réactivation du VEB englobe généralement à la fois la réactivation des souches endogènes, la réinfection par des nouvelles souches^{113,114} ainsi que l'infection primaire^{80,91} sans distinction du statut sérologique des patients. Dans la suite de ce travail, nous utiliserons le terme infection active du VEB post-greffe pour désigner l'ensemble des infections incluant l'infection primaire, la réinfection ou la réactivation.

Pour ce qui est du SLPT, il s'agit d'un groupe hétérogène de maladies résultant de la prolifération néoplasique incontrôlée des cellules lymphoïdes ou plasmocytaires survenant dans le contexte de greffe d'organes solides ou de GCSH.³⁷ Comparativement au contexte de greffe d'organe, le SLPT dans le contexte de GCSH est en général lié au VEB.³⁷ À cet effet, la pratique actuelle recommande la surveillance régulière de la CV-VEB post-transplantation en utilisant le test quantitatif de réaction en chaîne par polymérase (qPCR) afin d'anticiper sur la progression vers le SLPT.^{48,49} Cependant, il n'y a pas de consensus sur le niveau de la CV-VEB à partir duquel un patient devient à haut risque de développer le SLPT.^{32,35} Cette situation pourrait s'expliquer par l'absence de normes universelles sur les tests de détection de l'ADN VEB dans le sang.³⁷ Ci-après quelques seuils de CV-VEB qui ont été proposés dans la littérature: >1000 copies/ml ; >5000 copies/ml ; >10000 copies/ml ; >20000 copies/ml; >37525 copies/ml ; >40000 copies/ml.^{32,73,93,115} Par ailleurs, un cas probable du SLPT est caractérisé par une lymphadénopathie significative (ou autre maladie des organes terminaux) avec une CV-VEB élevée, en l'absence d'autres facteurs étiologiques ou de maladies établies.³⁵ Un cas confirmé du SLPT est identifié par la détection du VEB sur un organe par biopsie ou autres procédures invasives avec un test ayant une sensibilité et une spécificité appropriées ainsi que des symptômes et/ou des signes de l'organe affecté.³⁵ Pour prévenir la survenue du SLPT, une action qui peut être menée pour baisser la CV-VEB est la réduction de l'intensité de l'immunosuppression. Cependant, celle-ci est susceptible d'augmenter le risque de la GvHD³⁴ qui est l'un des obstacles au succès de la GCSH.^{116,117} Elle accroît notamment le risque de décès lié à la greffe.^{117,118}

1.5 La maladie du greffon contre l'hôte (en anglais : Graft-versus-host disease, en abrégé GvHD)

La GvHD est l'une des complications majeures pouvant survenir après une greffe allogénique de cellules souches.^{119,120} Elle se caractérise par le fait que les cellules souches du greffon ont tendance à détruire les tissus et organes sains du patient car elles les considèrent comme

des corps étrangers. La GvHD aiguë (aGvHD) se développe classiquement dans les 100 premiers jours de la transplantation ou peut survenir au-delà de 100 jours avec des symptômes persistants, récurrents ou d'apparition tardive.¹¹⁶ Elle a été catégorisée en 4 grades allant de I (réaction légère) à IV (réaction sévère).^{116,117,121} Quant à la GvHD chronique (cGvHD), il n'y a pas un délai limité pour l'apparition des symptômes et peut émerger à la suite d'une aGvHD.¹¹⁶ Celle-ci est catégorisée en trois grades (pas sévère, modérée et sévère).¹¹⁶ L'incidence de la aGvHD chez les enfants oscille entre 19% et 85%, selon les facteurs de risque présents.¹²² La disparité entre antigènes leucocytaires humains (HLA) du donneur et du receveur de greffe est le principal facteur de risque de la aGvHD.¹²² Aussi, l'âge avancé du donneur et une greffe venant d'un donneur de sexe féminin ont été mis en relief comme facteurs prédictifs de la aGvHD.¹²³ Pour ce qui est de la cGvHD, sur un échantillon de 696 enfants, Zecca et al.,¹¹⁸ ont rapporté que 173 patients (25%) ont développé cette maladie à une médiane de 116 jours après la transplantation (étendue: 80-600 jours). Dans cette étude, un risque plus élevé de la cGvHD chronique a été observé chez les patients de 15 ans ou plus, chez les patients recevant des greffes venant des donneurs âgés de 5 ans ou plus, chez les garçons recevant les greffes de donneurs filles, lorsque l'irradiation corporelle totale a été utilisée dans le cadre du régime de conditionnement, chez les patients souffrant de maladies hématologiques malignes et chez les patients ayant eu une aGvHD de grade \geq II.¹¹⁸ Dans le même ordre d'idées, selon l'étude de Eisner et al.¹²³, une incidence plus élevée a été observée chez les patients ayant eu une aGvHD, chez les patients recevant des greffes de donneurs avec un âge avancé et lorsque le donneur et le receveur n'étaient pas de même sexe. Par ailleurs, une méta-analyse incluant des études sans restriction d'âge a mis en évidence des risques plus élevés de la aGvHD et de la cGvHD chez les patients qui ont reçu une greffe du sang périphérique comparativement à ceux qui ont reçu une greffe de la moelle osseuse.¹²⁴ Toutefois, l'association entre la greffe du sang périphérique et la aGvHD n'a pas été corroborée par l'étude de Eapen et al.,¹²⁵ postérieure à la méta-analyse susmentionnée et, portant exclusivement sur les enfants. Celle-ci a rapporté une incidence de la aGvHD similaire dans le groupe de patients ayant reçu une greffe du sang périphérique comparativement au groupe de patients ayant reçu une greffe de la moelle osseuse.

La prévention et le traitement de la GvHD représentent aujourd'hui un enjeu majeur dans un contexte marqué par une augmentation du nombre de greffes de donneurs alternatifs (non apparentés et/ou non appariés).¹¹⁷ Le traitement de la GvHD est difficile une fois qu'elle survient.¹²⁰ Ainsi la prévention est l'option à privilégier bien qu'elle ne soit pas également sans

conséquences. En effet, la déplétion des lymphocytes T du greffon est une approche efficace pour prévenir la GvHD. Cependant, elle peut entraîner une augmentation de l'échec de la greffe et un effet du greffon contre la leucémie plus faible.^{119,126} Comme alternative, plusieurs centres pédiatriques de greffe ont opté pour l'utilisation des médicaments immunosuppresseurs.¹¹⁹ Plusieurs immunosuppresseurs tels que la cyclosporine A (CsA), le méthotrexate (MTX), le mycophénolate mofétil (MMF), le tacrolimus, la globuline antithymocyte (ATG), l'alemtuzumab et les corticostéroïdes sont généralement administrés seul ou en combinaison aux patients bénéficiant d'une GCSH pour prévenir ou traiter la GvHD.^{116,119,122,127-134} Cependant, l'affaiblissement de la réponse immunitaire des patients dû à l'utilisation de ces immunosuppresseurs peut favoriser la survenue des nouvelles infections ou réactiver des infections latentes.^{24,135-137}

1.6 Facteurs de risque de l'infection active du VEB et du SLPT

En ce qui concerne les facteurs de risque connus de l'infection active du VEB et du SLPT, une présentation détaillée fait l'objet du 1^{er} article scientifique présenté au chapitre 3. Ces facteurs étudiés comprennent : les prophylaxies/traitements contre la GvHD, la GvHD, le diagnostic primaire, le type de régime de conditionnement, le type de greffe, l'âge du receveur de greffe, le genre du donneur, la sérologie VEB du receveur/donneur de greffe, la réactivation du cytomégalovirus (CMV), le contenu du greffon; le niveau immunitaire post-greffe, les facteurs génétiques, les produits sanguins transfusés et autres facteurs. Les différentes associations significatives trouvées sont décrites ci-dessous.

1.6.1. Les Prophylaxies/traitements contre la GvHD

- **Cas de l'infection active du VEB**

L'ATG est un immunosuppresseur efficace pour réduire le risque de GvHD.^{133,134,138-141} Cependant, son utilisation a été identifiée par les précédentes études comme le principal immunosuppresseur associé au risque d'infection active du VEB post-greffe. En effet, une augmentation statistiquement significative du risque d'infection active du VEB consécutive à l'utilisation de l'ATG a été montrée chez les patients pédiatriques par Cesaro et al.⁷⁶ (HR=13,0 [IC à 95% : 2-96]), Kullberg-Lindh et al.⁷⁵ (coefficient de la régression linéaire=1,34; p=0,004). En revanche Chiereghin et al.,⁷⁴ avec un échantillon de 28 patients pédiatriques, ont rapporté une association non-statistiquement significative entre la déplétion des cellules T en utilisant l'ATG et

l'infection active du VEB ($p=0,081$, analyse univariée). Un défaut de puissance statistique pourrait justifier cette absence de lien significatif. D'autre part, avec des échantillons composés à la fois de patients pédiatriques et adultes, Fan et al.⁸⁷ (OR=7,69 [IC à 95% : 1,17-50,49]), Liu et al.⁹² (HR=14,08 [IC à 95% : 6,02-32,92]), Van Esser et al.⁷⁰ (HR=3,4 [IC à 95% : 1,6-7,1]), Gao et al.¹⁴² (HR=6,3 [IC à 95% : 1,6-24,0]) ont mis en lumière un risque d'infection active du VEB post-greffe plus élevé chez ceux qui ont reçu l'ATG. Toutes les études susmentionnées ont comparé les individus ayant reçu de l'ATG à ceux qui n'en ont pas reçu, à l'exception de celle de Van Esser et al.⁷⁰ qui a rapporté le risque d'infection active du VEB chez les patients recevant des greffes déplétées en lymphocytes T en utilisant l'ATG par rapport aux patients recevant des greffes non déplétées en lymphocytes T. Dans cette étude, c'est l'utilisation de l'ATG qui semble essentielle dans l'association mise en évidence car le risque d'infection active du VEB n'était pas statistiquement différent entre les patients recevant des greffes appauvries en lymphocytes T sans utilisation de l'ATG et les patients recevant des greffes non appauvries en lymphocytes T (HR=1,5 [IC à 95% : 0,8-2,9]). De leur côté, Lin et al.¹⁴³ ont montré une augmentation du risque d'infection active du VEB avec la dose de l'ATG. En effet, le risque d'infection active du VEB était plus élevé chez les patients pédiatriques/adultes qui ont reçu l'ATG avec le dosage de 10,0 mg/kg comparativement à ceux dont le dosage était de 7,5 mg/kg (HR=2,02 [IC à 95% : 1,37-2,97]). Soulignons par ailleurs qu'avec des échantillons composés à la fois de patients pédiatriques et adultes, Hoshino et al.¹⁰⁷ ($p=0,0005$), Islam et al.¹⁰⁵ (OR=0,286; $p=0,04$) ainsi que D'Aveni et al.¹⁰³ ($p=0,005$) ont rapporté des résultats d'analyses univariées mettant en exergue des associations statistiquement significatives non-ajustées entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB post-greffe. Par ailleurs, chez les patients adultes Juvonen et al.⁴⁶ (HR=5,78 [IC à 95% : 2,47-13,5]) et Peric et al.⁷³ (subhazard ratio (SHR)=4,9 [IC à 95% : 1,1-21,0]) avec des analyses statistiques multivariées et Auger et al.⁷¹ avec une analyse univariée ont mis en lumière des associations statistiquement significatives entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB post-greffe. Contrairement à toutes les études sus évoquées, quelques-unes n'ont pas mis en évidence des associations statistiquement significatives entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB post-greffe. En effet, avec un échantillon de 128 patients pédiatriques, Cohen et al.⁷⁸ ont mis en relief une augmentation non statistiquement significative du risque d'infection active du VEB chez ceux qui ont reçu l'ATG comparativement à ceux qui ont reçu le l'alemtuzumab (OR=2,09 [IC à 95% : 0,83-5,29]). Christopheit et al.⁸⁰ quant à eux ont indiqué une propension d'avoir une infection

active du VEB moins élevée mais non statistiquement significative chez les patients adultes qui ont reçu l'ATG comparativement à ceux qui ne l'ont pas reçu (OR=0,83 [IC à 95% :0,17-4,01]). Laberko et al.⁸⁶ avec un échantillon de 182 patients pédiatriques, n'ont pas mis en lumière des associations statistiquement significatives entre l'infection active du VEB et l'utilisation de l'ATG provenant du cheval (HR=2,47 [IC à 95% :0,95-6,38]) ou l'utilisation de l'ATG provenant du lapin (HR=1,22 [IC à 95% :0,47-3,18]).

L'histoire naturelle de l'association entre l'utilisation de l'ATG et l'augmentation du risque d'infection active du VEB post-greffe pourrait plausiblement s'expliquer ainsi ce qui suit : L'ATG a un effet immunosuppresseur multifactoriel qui n'est pas encore totalement connu.¹³³ Toutefois, son utilisation peut retarder la reconstitution immunitaire post-greffe.^{133,134,136,141,144-147} Cette situation serait inhérente au mécanisme à travers lequel cet immunosuppresseur protégerait les patients contre la GvHD. En effet, l'ATG peut persister dans l'organisme du receveur de greffe pendant des semaines voir des mois, éliminant les lymphocytes T du greffon pendant une période relativement longue.¹³³ L'ATG détruit également les lymphocytes T du receveur qui ont survécu au régime de conditionnement.¹³⁶ Cette réduction des cellules T est susceptible de limiter la capacité du receveur de greffe à développer une réponse immunitaire appropriée contre les agents infectieux.¹³⁶

Par ailleurs, en analysant l'association entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB post-greffe, il est important de considérer la possibilité de présence d'un biais de confusion par indication car plusieurs facteurs influencent la décision d'utilisation de cet immunosuppresseur. En effet, chez les patients adultes, lorsqu'un régime de conditionnement myéloablatif est utilisé, la prophylaxie contre la GvHD la plus courante est l'association cyclosporine A (CsA) + méthotrexate (MTX) ou son «équivalent» tacrolimus + MTX. Quand le régime de conditionnement à intensité réduite est considéré ou s'il s'agit d'une greffe de sang de cordon, c'est l'association CsA + mycophénolate mofétil (MMF) qui est recommandée.¹²⁰ En ce qui concerne les patients pédiatriques, les prophylaxies GvHD les plus courantes sont la CsA seule, l'association CsA + MTX, l'association MMF + Inhibiteur de la calcineurine pour les patients recevant un régime de conditionnement myéloablatif, tandis que chez ceux qui reçoivent un régime de conditionnement à intensité réduite, CsA + MTX, Tacrolimus + MTX, CsA + MMF et CsA seule sont les prophylaxies les plus fréquentes.^{122,148} En complément à ces prophylaxies, chez les patients pédiatriques ou adultes, l'ajout de l'ATG est recommandé lorsque les antigènes leucocytaires

humains (HLA) du donneur et du receveur sont compatibles mais le donneur et le receveur ne sont pas apparentés ou lorsque les HLA des deux sont incompatibles.^{116,120,148} L'Alemtuzumab est parfois utilisé comme alternative à l'ATG.^{116,122} Par ailleurs, la prise en compte de l'indice de risque de la maladie, qui permet de quantifier le risque de rechute, devrait également être considérée au moment du choix d'introduire l'ATG dans le traitement prophylactique contre la GvHD.¹³⁶ D'autre part, le dosage de l'ATG peut dépendre du type de donneur.¹³⁹ Aussi, il a été rapporté que la reconstitution immunitaire est plus lente chez les patients recevant des doses élevées de l'ATG.¹⁴⁴ Tous ces paramètres qui précèdent devraient être pris en compte pour l'analyse de l'association entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB post-greffe car certains ont été identifiés par des précédentes études comme étant associés à l'infection active du VEB post-greffe. Par exemple plusieurs études ont rapporté une augmentation du risque de l'infection active du VEB post-greffe chez les patients qui ont reçu une greffe venant d'un donneur non apparenté ou lorsque les HLA du donneur et du receveur étaient incompatibles.^{89,90,149-152} D'autre part, selon une étude randomisée multicentrique les patients recevant des fortes doses d'ATG seraient plus à risque de l'infection active du VEB post-greffe que ceux recevant des doses moins élevées.¹⁴³ Pour ce qui est de l'indice de risque de la maladie, plusieurs études ont analysé l'effet de ce paramètre sur le survenue de l'infection active du VEB post-greffe mais aucune association statistiquement significative n'a été trouvée.^{46,70,72,73,79,106} Ces résultats pourraient bien être dus à un défaut de puissance statistique. Par rapport aux résultats présentés plus haut concernant l'association entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB, il est important de souligner que le type de donneur a été pris en compte dans le processus d'élaboration des modèles statistiques multivariés de toutes les études qui ont mis en relief des associations statistiquement significatives. Aussi, dans la majorité de ces études l'indice de risque de la maladie a été exploré lors de la construction du modèle statistique^{46,70,73,76,92,142} et le dosage de l'ATG a été indiquée dans quelques-unes.^{73,92,142} Ainsi, il convient de conclure que dans toutes ces études le biais de confusion par indication a probablement été réduit par la prise en compte de ces variables dans les différents modèles multivariés. Toutefois à l'instar des autres méthodes statistiques telles que la restriction, les scores de propension et les variables instrumentales qui peuvent être utilisées pour adresser la problématique du biais de confusion par indication, l'ajustement ne garantit pas toujours la résolution du problème et surtout si certains facteurs de confusion n'ont pas été mesurés. Il serait par ailleurs intéressant que des nouvelles études portant sur cette association explorent l'utilisation

des autres méthodes susmentionnées notamment les scores de propension. Étant donné que dans le contexte des greffes de cellules souches, les études portent en général sur des échantillons de tailles relativement petites, cette dernière approche pourrait être une très bonne alternative à la méthode d'ajustement classique lorsque le ratio événement par variable est <8-10.^{153,154}

Pour les autres types d'immunosuppresseurs, Fan et al.⁸⁷ avec un échantillon de 44 patients pédiatriques et adultes ont montré une propension d'infection active du VEB plus élevée chez les patients qui ont reçu les corticostéroïdes comparativement aux autres (OR=23,68 [IC à 95%: 1,92-291,45]). Ce résultat n'est pas corroboré par l'étude de Liu et al.⁹⁴ (p=0,773) et de Comoli, 2007¹⁵⁵ (analyse univariée, estimé non rapporté) qui ont été réalisées avec des échantillons composés à la fois des patients pédiatriques et adultes. Aussi, avec un échantillon de 406 patients adultes, Juvonen et al.⁴⁶ ont trouvé qu'il n'y avait pas une différence significative du risque d'infection active du VEB entre les patients qui avaient reçu des doses de stéroïdes ≥ 2 mg/kg/jour comparativement à ceux qui avaient reçu des doses <2 mg/kg/jour (HR=0.73 [IC à 95% : 0.25-2.08]). Par ailleurs, Christopheit et al.⁸⁰ ont calculé l'aire sous la courbe (ASC) des niveaux de cyclosporine entre les 1^{er} et 30^{ème} jours post-greffe en utilisant la règle trapézoïdale linéaire. En considérant une ASC égale à 6000 ng / ml x jours comme seuil pour discriminer les forts et faibles niveaux de cyclosporine A, ces auteurs ont mis en relief une propension plus grande d'infection active du VEB chez les patients adultes avec des niveaux élevés de cyclosporine A (OR=6,07 [IC à 95%: 1,11-33,23]). D'autres associations entre l'infection active du VEB et les immunosuppresseurs ont été explorées mais aucune n'était statistiquement significative : (CsA versus CsA+autre) [estimé non rapporté]⁷⁶, (CsA versus CsA+MMF versus CsA+MTX) [analyse univariée, p=0,85]⁷³, (CsA + MMF, CsA + prednisone) [estimé non rapporté]⁸⁴, (CsA/MTX vs. CsA/MMF) [3.67 (IC à 95%: 0,35-38,03)]⁸⁰, (tacrolimus vs. CsA) [analyse univariée, p=0,643]¹⁰⁷, alemtuzumab (oui versus non) [analyse univariée, p=0,172].¹⁵⁶

En outre, Bordon et al.⁷⁷, avec un échantillon de 80 patients pédiatriques, ont montré une association statistiquement significative entre la déplétion des cellules T et l'infection active du VEB (p=0,04). Ce résultat n'est pas corroboré par deux études portant sur des patients pédiatriques menées par Cohen et al.⁷⁸ (OR=0,40 [IC à 95% : 0,08-2,01], n=128) et Hiwarkar et al.⁵³ (estimé du risqué non rapporté, n=278). Dans le même ordre d'idées, Zallio et al.⁵², avec un échantillon de 100 patients adultes, et Sirvent-von Bueltzingsloewen et al.,⁹⁰ avec un échantillon composé à la fois de 85 patients pédiatriques et adultes, n'ont pas mis en exergue des associations statistiquement

significatives entre la déplétion des cellules T et l'infection active du VEB. Par ailleurs, Torre-Cisneros et al.⁹¹ ont montré avec un échantillon composé à la fois de patients pédiatriques et adultes (n=100) que l'utilisation des greffes ayant été déplétées de CD4⁺ augmentait la propension d'avoir une infection active du VEB (OR=11,5 [IC à 95%: 5,8-22,8]).

- **Cas du SLPT**

D'autre part, l'augmentation du risque du SLPT due à l'utilisation de l'ATG a été mise en évidence par Landgren et al. (Risque relatif (RR)=3,8 [IC à 95% : 2,5-5,8], n=26901)⁴³, Xuan et al. (HR=13.03 [IC à 95% :1,67-101,58], n=263)³⁹ ainsi que par Van der Velden et al. (OR=2,4 [IC à 95% :1,3-4,2], n=273)⁹⁸. Aussi, Liu et al. (p=0,038, n=172)⁹⁴ ont trouvé une association statistiquement significative entre l'utilisation de l'ATG et la survenue du SLPT. Par ailleurs, dans la seule étude menée avec exclusivement des patients pédiatriques, un risque moins élevé du SLPT, mais non statistiquement significatif, avait été observé en analyse univariée chez les patients qui avaient reçu l'alemtuzimab comparativement à ceux qui avaient reçu l'ATG (OR=0,56 [IC à 95% : 0,15-2,05]).⁷⁸ La relation entre l'utilisation de l'ATG et le SLPT trouve son explication dans les mêmes raisons évoquées plus haut concernant l'association entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB post-greffe. En effet, le SLPT survient généralement à la suite d'une augmentation rapide et soutenue de la CV-VEB dans le sang.⁴⁷ Cette situation peut être favorisée par la capacité de l'ATG à ralentir la reconstitution immunitaire post-greffe du receveur^{133,134,136,144,145} à travers son action prolongée de destruction des lymphocytes T du greffon¹³³ et aussi par la déplétion des lymphocytes T du receveur qui ont survécu au régime de conditionnement.¹³⁶ La prise en compte du type de donneur de greffe dans les différents modèles statistiques a potentiellement réduit le biais de confusion par indication. Les limites et perspectives d'analyse qui ont été présentées pour l'association entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB post-greffe sont à considérer ici.

Concernant les autres immunosuppresseurs, Liu et al. (p=0,433)⁹⁴ n'ont pas trouvé d'association statistiquement significative entre l'utilisation des stéroïdes et le SLPT. Aussi, Sanz et al.⁸⁴, avec un échantillon incluant 288 patients pédiatriques et adultes, n'ont pas mis en exergue une différence significative du risque du SLPT entre les patients qui avaient reçu la combinaison CsA+MMF comparativement à ceux qui avaient reçu l'association CsA+prednisone. En outre, Uhlin et al.⁴ ont trouvé que le risque du SLPT n'était pas significativement différent entre les

patients adultes/pédiatriques qui avaient reçu la combinaison CsA+MTX par opposition aux autres patients. Dans la même étude, un risque plus élevé de SLPT a été constaté chez les patients ayant reçu des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) (SHR=3,05 [IC à 95% : 1.25-7.48], n=1021).⁴

1.6.2. La GvHD

- **Cas de l'infection active du VEB**

Concernant l'association entre la GvHD et l'infection active du VEB, celle-ci a été examinée par plusieurs études portant sur les patients pédiatriques^{53,74-76,78,79} ou à la fois sur les patients pédiatriques et adultes^{83,84,86,88-92,155} ainsi que uniquement sur les patients adultes.^{32,46,52,72,73}

Chez les patients pédiatriques, un risque plus élevé d'infection active du VEB chez les personnes ayant eu une aGvHD indépendamment du grade a été mis en évidence par Elmahdi et al.⁷⁹ (HR=3,29 [IC à 95% : 1,26-8,58], n=37) et Cohen et al.⁷⁸ (OR=2,20 [IC à 95% : 2,12-15,08], n=128). En revanche, Kullberg-Lindh et al.⁷⁵ ont trouvé une charge virale maximale du VEB en moyenne plus élevée mais non statistiquement significative chez les patients pédiatriques ayant eu une aGvHD comparativement aux autres (Coefficient du modèle de régression linéaire=0,48; p=0,34, n=47). Par ailleurs, Hiwarkar et al.⁵³ ont montré un risque plus élevé d'infection active du VEB chez les patients pédiatriques ayant eu une aGvHD de grade \geq II (estimé non rapporté, n=278). Ce résultat n'est pas corroboré par les études de Cesaro et al.⁷⁶ (analyse univariée, p=1,0, n=79) et Chiereghin et al.⁷⁴ (analyse univariée, p=0,846, n=28) qui a considéré une catégorisation de la variable aGvHD légèrement différente (absence versus grade I versus grade \geq II). D'autre part, Kullberg-Lindh et al.⁷⁵ ont mis en exergue une charge virale du VEB maximale en moyenne moins élevée chez les patients qui ont eu une cGvHD (Coefficient du modèle de régression linéaire =-1,12; p=0,023, n=47). Cependant, Cohen et al.⁷⁸ (OR=1,38 [IC à 95%: 0,34-5,63], estimé non ajusté, n=128), Cesaro et al.⁷⁶ (analyse univariée, p=0,8, n=79) et Chiereghin et al.⁷⁴ (analyse univariée, p=0,369, n=28) n'ont pas mis en lumière des associations statistiquement significatives entre la survenue d'une cGvHD et l'infection active du VEB. En outre, Laberko, 2017⁸⁶ ont montré un risque plus élevé d'infection active du VEB chez les patients pédiatriques qui ont eu une GvHD indépendamment du type (HR= 1,97 [IC à 95% : 1,04-3,72], n=182).

En ce qui concerne les études ayant été réalisées avec des échantillons composés à la fois des patients pédiatriques et adultes, Sirvent-von Buelzingsloewen et al.⁹⁰ ont trouvé que les

patients ayant eu une aGvHD de grade \geq II avaient une propension plus élevée à avoir une infection active du VEB que les autres (OR=3,4 [IC à 95% : 1,2-9,7], n=85). Aussi, Omar et al.⁸⁹ ont indiqué une association statistiquement significative entre la survenue d'une aGvHD indépendamment du grade et le niveau moyen de la charge virale du VEB (régression linéaire multivariée, p=0,009, n=131). Toutes autres études ayant exploré l'association entre la GvHD et l'infection active du VEB en considérant la aGvHD^{83,84,88,91,92,105,155} ou la cGvHD^{84,92,105} n'ont pas mis en évidence des effets statistiquement significatifs.

S'agissant des études portant exclusivement sur des patients adultes, Juvonen et al.⁴⁶ a mis en relief un risque plus élevé d'infection active du VEB patients ayant eu une aGvHD de grade Grade \geq III (HR=1,70 [IC 95 % : 1,11-2,62], n=406). Dans toutes les autres études ayant examiné l'association entre l'infection active du VEB et la aGvHD^{32,72,73} ou la cGvHD³² ou encore avec GvHD sans distinction du type⁵², aucun effet statistiquement significatif n'a été mis en évidence.

Il est important de préciser que la variabilité dans les définitions des catégories de la variable GvHD aiguë d'une étude à une autre ne facilite pas l'appréciation de la reproductibilité des résultats de l'association entre ce facteur et le risque d'infection active du VEB post-greffe. Par ailleurs, l'explication de la plausibilité biologique des associations statistiquement significatives susmentionnées n'est pas triviale. En effet, la GvHD est une complication à médiation immunitaire de la GCSH dans laquelle les cellules T du greffon initient un processus alloréactif qui provoque finalement la destruction des tissus de l'hôte.¹⁵⁷ Toutefois, sa physiopathologie est assez complexe.¹⁵⁸ Des études portant sur des animaux ont montré que les cellules T CD4⁺ du donneur, stimulées par les cellules présentatrices d'antigène de l'hôte, stimulaient à leur tour les cellules B du receveur, qui produisaient des auto-anticorps.¹⁵⁸ Les lymphocytes T et B seraient également impliqués dans la physiopathologie de la GvHD chez l'homme.¹⁵⁸ Cependant, le mécanisme liant les lymphocytes B et la GvHD n'est que partiellement connu.¹⁵⁹ En analysant de manière factuelle les études qui ont rapporté une association statistiquement significative entre la survenue d'une GvHD et l'infection active du VEB post-greffe, il apparaît un doute sur l'effectivité de cette relation. En effet, parmi toutes ces études, seule celle de Juvonen et al.⁴⁶ a réalisé un ajustement relativement «acceptable» de la confusion. Dans cette étude les patients qui ont eu une GvHD aiguë ont reçu de la méthylprednisolone comme traitement de 1^{ère} ligne et en cas d'échec l'ATG a été donnée comme traitement de 2^{ème} ligne. Ces deux traitements ont été considérés comme des variables dépendant du temps dans le modèle multivariable. La même approche thérapeutique a été

utilisée pour les patients ayant eu une GvHD aiguë dans l'étude de Sirvent-von Buelzingsloewen et al.⁹⁰ mais ces deux variables n'ont pas été prises en compte dans le modèle multivariable. Dans les autres études, aucune information n'a été donnée sur les traitements administrés aux patients qui ont eu une GvHD et aucune variable liée au traitement de la GvHD n'a été considérée dans le modèle multivariable. Il est difficile de réfuter l'hypothèse suivant laquelle les résultats des études qui n'ont pas pris en compte les traitements administrés contre la GvHD seraient entachés d'un biais de confusion. Concernant l'étude de Juvonen et al.,⁴⁶ il est difficile de dissocier l'effet de la GvHD et celles des immunosuppresseurs dans l'association qui a été mise en évidence. En effet, l'incompatibilité des HLA du donneur et du receveur représente le principal facteur de risque de la GvHD aiguë.¹²² L'ATG qui est un facteur de risque de l'infection active du VEB post-greffe est généralement administré comme prophylaxie contre la GvHD aux patients qui reçoivent ce type de greffe. De plus, les traitements reçus en cas de GvHD détériorent davantage le système immunitaire du patient qui avait déjà été anéanti par les prophylaxies contre la GvHD notamment l'ATG. Il y a donc potentiellement un problème de biais de confusion par indication dans l'association qui a été mise en relief. Comme évoqué plus haut, l'ajustement ne résout pas toujours le problème du biais de confusion par indication. D'autres études avec un meilleur contrôle de la confusion sont nécessaires pour élucider cette association.

- **Cas du SLPT**

En ce qui concerne le SLPT, un risque accru lié à la survenue d'une aGvHD de grade ≥ 2 a été mis en évidence par Landgren et al. (Risque relative (RR)=1,7 [IC à 95%:1,2-2,5], n=26901)⁴³ et par Uhlin et al. (SHR=2,65 [IC à 95% : 0,32-5,35], n=1021).⁴ Cependant, aucune association statistiquement significative n'a été identifiée dans d'autres études^{39,72,78,84,94,97,98} qui ont exploré l'association entre aGvHD et SLPT. Dans la quasi-totalité de ces études, les estimés ponctuels du risque et les résultats de l'inférence statistique n'ont pas été rapportés. Par ailleurs, parmi les quatre études^{39,43,84,94} qui ont analysé l'association entre cGvHD et SLPT, seule l'étude de Landgren et al. (RR=2,0 [IC à 95% :1,1-3,2])⁴³ a révélé une association positive statistiquement significative. En revanche, l'étude de Kalra et al.⁹⁶ a montré un risque plus faible de PTLD chez les patients avec aGvHD de grade ≥ 2 ou cGvHD nécessitant un traitement systémique (SHR=0,47; p=0,04, n=554). Cette dernière association devrait être considérée avec précaution car elle pourrait être non valide si les traitements, corticostéroïdes avec ou sans autres immunosuppresseurs, administrés aux

patients qui ont eu une GvHD aiguë de grade \geq II ou une GvHD chronique nécessitant un traitement avaient été pris en compte dans le modèle multivariable. En revanche dans les deux autres études les variables décrivant les traitements reçus par les patients en cas de survenue d'une GvHD ont été considérés dans les modèles multivariés.^{4,43} De manière spécifique, dans l'étude de Landgren et al.,⁴³ l'ATG a été utilisée à la fois comme prophylaxie et traitement contre la GvHD, tandis que dans l'étude de Uhlin et al.,⁴ la thérapie par cellules stromales mésenchymateuses (MSC) a été utilisée au moment de la greffe comme prophylaxie contre la GvHD ou comme traitement de sauvetage de la GvHD. Soulignons que les réserves qui ont été mises plus haut sur l'effectivité de l'association entre la survenue de la GvHD et l'infection active du VEB post-greffe sont transposables à l'association entre la GvHD et le SLPT.

1.6.3. Le diagnostic primaire

L'association entre le diagnostic primaire et l'infection active du VEB a été examinée dans plusieurs études portant sur les patients pédiatriques,^{53,74,78,106} ou réalisées avec des échantillons à la fois composés des patients pédiatriques et adultes^{49,82-84,86,155} ou encore exclusivement des patients adultes.^{32,71,73} Les définitions des catégories du facteur de risque sont assez variables d'une étude à une autre. S'agissant des études qui ont été réalisées avec des échantillons pédiatriques, aucune association statistiquement significative n'a été mise en exergue. Un résultat statistiquement significatif en analyse univariée a toutefois été rapporté par Chiereghin et al.⁷⁴ ($p=0,027$, $n=28$) en comparant les patients ayant une leucémie lymphoblastique aiguë versus anémie aplasique sévère versus leucémie myéloïde aiguë versus autres. Par ailleurs, à l'instar des patients pédiatriques, aucune étude réalisée avec un échantillon composé exclusivement des patients adultes n'a révélé une association statistiquement significative entre le diagnostic primaire et l'infection active du VEB post-greffe. Les études qui ont mis en évidence des associations statistiquement significatives entre le diagnostic primaire et l'infection active du VEB ont été réalisées avec des échantillons composés à la fois des patients pédiatriques et adultes.^{49,83,84} En effet, selon Carpenter et al.,⁴⁹ le risque d'infection active du VEB était plus élevé chez les patients atteints du lymphome hodgkinien (HR=3,53 [IC à 95%: 1,51-8,25]) ou chez ceux atteints de leucémie lymphoïde chronique (HR=3,77 [95% CI: 1,38-10,32]) comparés aux patients atteints de leucémie myéloïde aiguë ($n=111$). Dans le même ordre d'idées, Sanz et al.⁸⁴ ont montré que le risque d'infection active du VEB était plus élevé chez les patients atteints de la maladie de Hodgkin par rapport aux autres patients (subhazard ratio (SHR)=11,6 [IC à 95%: 3,4-40,0], $n=288$). De leur

côté, Burns et al.⁸³ avaient constaté que le risque d'infection active du VEB était plus faible chez les patients atteints de lymphome non hodgkinien par opposition aux patients atteints de leucémie myéloïde aiguë / syndrome myélodysplasique (HR= 0.18 [IC à 95%: 0,05-0,57], n=186).

Par ailleurs aucune association statistiquement significative n'a été mise en évidence entre le diagnostic primaire et la survenue du SLPT dans les études réalisées chez les patients pédiatriques,⁷⁸ adultes⁹⁸ ou encore dans les études réalisées avec des échantillons composés à la fois des patients pédiatriques et adultes.^{4,84,97}

1.6.4. Le type de régime de conditionnement

Il y a trois types de régimes de conditionnement qui peuvent être utilisés dans le processus de préparation de la greffe. Le conditionnement myéloablatif ou conditionnement standard (MAC), le conditionnement non myéloablatif (NMAC) et le conditionnement à intensité réduite (RIC).^{160,161} L'objectif principal de ces conditionnements est d'accroître la probabilité de prise de la greffe. Le conditionnement à intensité réduite est moins toxique et à faible risque de complication par rapport au conditionnement myéloablatif.¹²¹ Ce dernier semble toutefois associé à un risque plus élevé d'infection active du VEB et du SLPT.

- **Cas de l'infection active du VEB**

L'utilisation d'un régime de conditionnement à intensité réduite (RIC) a été mise en évidence comme facteur de risque de l'infection active du VEB par Sanz et al.⁸⁴ (SHR=6,0 [IC à 95%: 2,0-17,6], n=288). Aussi, Liu et al.⁹² ont constaté que par rapport au régime de conditionnement myéloablatif (MAC) standard, le MAC intensifié augmentait le risque d'infection active du VEB (HR=1,72 [IC à 95% : 1,03-2,88], n=251). Ces deux études susmentionnées ont été réalisées avec des échantillons composés à la fois des patients pédiatriques et adultes. Chez les patients pédiatriques, Cohen et al.⁷⁸ ont rapporté en analyse univariée une propension d'infection active du VEB plus élevée pour les patients ayant reçu un RIC comparativement à ceux qui ont reçu un MAC (OR=5.66 [IC à 95% : 2.00-15.99], n=128). En comparant les mêmes groupes de patients, Chiereghin et al.⁷⁴ ont rapporté une association statistiquement significative avec une analyse univariée (p=0,013, n=28). Dans le même ordre d'idées, Hiwarkar et al.⁵³ ont indiqué que l'utilisation du RIC n'était pas significativement associée à l'infection active du VEB (estimé non rapporté, n=278) bien que le risque de cet événement semblait plus élevé dans ce groupe selon

l'analyse univariée (OR=2,1; $p<0,05$). Par ailleurs, Kullberg-Lindh et al.⁷⁵ ont montré à l'aide d'une régression linéaire multivariée qu'en moyenne la charge virale maximale post-greffe du VEB était plus élevée chez les patients pédiatriques dont le régime de conditionnement comprenait l'irradiation corporelle totale (coefficient de régression=1,60; $p=0,001$, $n=47$). De leur côté, Cesaro et al.¹⁰⁶ ont rapporté une analyse univariée indiquant que l'utilisation de l'irradiation corporelle totale n'était pas significativement associée à l'infection active du VEB ($p=0,1$, $n=89$). D'autres études ayant exploré l'association entre le type de régime de conditionnement et l'infection active du VEB chez les patients adultes^{32,46,71,72,80,109} ou avec des échantillons composés des patients pédiatriques et adultes^{69,82,83,88,92,107,155} n'ont pas mis en lumière des effets statistiquement significatifs. Dans ces études, les catégories du régime de conditionnement sont assez variables.

- **Cas du SLPT**

En ce qui concerne l'association entre le régime de conditionnement et le SLPT, Sanz et al. (SHR=5,5 [IC à 95%: 1,8-17,1], $n=288$)⁸⁴ et Uhlin et al. (SHR=3,25 [IC à 95%: 1,53-6,89], $n=1021$)⁴ ont montré un risque plus élevé de SLPT chez les patients qui ont reçu un RIC comparativement aux autres patients. Les études de Buyck et al. (HR=5,00 [IC à 95%: 0,75-33,30], $n=87$)⁹⁵, Fujimoto et al. (HR=0,82 [IC à 95%: 0,60-1,12], $n=40195$)¹⁶² et Garcia-Cadenas et al. ($p=0,97$, analyse univariée, $n=93$)⁷² ne corroborent pas ces résultats. Par ailleurs, Xuan et al. (HR=4,46 [IC à 95%: 1,20-16,61], $n=263$)³⁹ et Liu et al. ($p=0,018$, $n=175$)⁹⁴ ont trouvé que le risque de SLPT était significativement différent entre les patients qui avaient reçu un MAC standard par opposition à ceux qui avaient reçu un MAC intensifié. D'autre part, les études ayant exploré l'association entre l'utilisation de l'irradiation corporelle totale,^{4,72} le busulfan⁴ ou encore le fludarabine³⁹ et le SLPT n'ont pas trouvé des relations statistiquement significatives. Les études susmentionnées ont été réalisées avec des patients adultes⁷² ou avec des échantillons composés à la fois des patients pédiatriques et adultes.^{4,39,84,94,95}

1.6.5. Le type de greffe/donneur

- **Cas de l'infection active du VEB**

L'association entre le type de greffe et l'infection active du VEB a été examinée par plusieurs études portant soit sur des patients pédiatriques,^{53,74,76,78,79,151,163,164} soit sur des patients adultes^{32,46,52,71,73,80} ou encore réalisées avec des échantillons composés à la fois de patients

pédiatriques et adultes.^{49,69,70,82-84,86-92,107,142} Dans ces études, la définition des catégories du facteur de risque est assez variable d'une étude à une autre. C'est soit le caractère apparié/non-apparié des HLA^{53,69,78,79,83,84,87,88,90-92,107} qui a été considéré, soit le caractère apparenté/non-apparenté entre le donneur et le receveur^{32,46,70,76,78,83,92,151} ou la combinaison de ces deux caractères.^{49,52,73,80,82,86,88,89,142} Parmi toutes les études ayant été menées auprès des patients pédiatriques, celle de Tsoumakas et al.¹⁵¹ est la seule qui a montré une association statistiquement significative entre le type de greffe (donneur apparenté versus donneur non-apparenté) et l'infection active du VEB (HR=0,38 [IC à 95%: 0,15-0,98], n=165). Par ailleurs, aucune association statistiquement significative n'a été mise en lumière par des études réalisées avec exclusivement des patients adultes. Parmi les études menées avec des échantillons composés à la fois des patients pédiatriques et adultes deux associations statistiquement significatives entre le type de greffe et l'infection active du VEB ont été trouvées. Sirvent-von Buelzingsloewen et al.⁹⁰ ont mis en évidence une propension plus élevée d'infection active du VEB chez les patients dont les HLA du receveur et du donneur étaient incompatibles (OR=5 [IC à 95%: 1,5-16,4], n=85). Aussi, dans l'étude de Omar et al.⁸⁹ une charge virale moyenne du VEB plus élevée a été trouvée chez les patients qui ont reçu une greffe d'un donneur non apparenté ou non compatible avec la famille comparativement à ceux qui ont reçu une greffe d'un donneur compatible.

- **Cas du SLPT**

Parmi toutes les études qui ont examiné l'association entre le SLPT et la compatibilité de HLA,^{4,39,78,84,94,96,97} Uhlin et al.⁴ étaient les seuls à avoir trouvé un risque plus élevé de SLPT chez les patients recevant une greffe avec HLA non compatibles (SHR=5,89 [IC à 95%: 2,43-14,3], n=1021). Aussi, aucune des études qui ont considéré le caractère apparenté ou non apparenté entre le receveur et le donneur n'a montré d'association statistiquement significative.^{39,78,94,165} D'autre part, deux associations statistiquement significatives entre le type de greffe et le SLPT^{43,162} ont été mises en évidence parmi toutes les études dans lesquelles le type de greffe a été défini en combinant la compatibilité de HLA et le caractère non apparenté/apparenté du receveur et du donneur.^{43,95,96,142,162} Fujimoto et al.¹⁶² ont constaté que les patients ayant reçu une greffe d'un donneur non apparié mais apparenté (HR=4,39 [IC à 95% : 2,39-8,07]), d'un donneur apparié mais non apparenté (HR=4,08 [IC à 95% : 2,39-6,99]), d'un donneur non apparié et non apparenté (HR=3,20 [IC à 95% : 1,58-6,47]) ou une greffe du sang de cordon (HR=8,03 [IC à 95%: 4,72-

13,7]) présentait un risque plus important de SLPT que ceux qui avaient reçu une greffe d'un donneur apparié et apparenté. De leur côté, Landgren et al.⁴³ ont rapporté un risque plus élevé de SLPT chez les patients recevant une greffe avec degré d'incompatibilité de HLA ≥ 2 , apparentée ou non apparentée, recevant l'ATG et/ou une déplétion sélective des lymphocytes T par opposition à ceux qui ont reçu une greffe de type apparenté, d'un donneur de même parent ou une greffe d'un degré d'incompatibilité de HLA égal à 1 (RR=3,8 [IC à 95%: 2,4-6,1]). La seule étude réalisée auprès de patients pédiatriques⁷⁸ n'avait pas trouvé d'association statistiquement significative, en analyse univariée, entre l'incompatibilité de HLA et le SLPT (OR=1,49 [IC à 95%: 0,39-5,59]).

1.6.6. L'âge du receveur/donneur de greffe

- **Cas de l'infection active du VEB**

L'association entre l'âge du receveur de greffe et l'infection active du VEB a été explorée dans plusieurs études.^{32,49,70,73,75,79,82-84,86,88,90,92,104,106,143} La définition du facteur de risque est assez variable d'une étude à une autre. Parmi ces études, quatre ont été réalisées chez les patients pédiatriques^{75,79,104,106} et deux de ces quatre études ont rapporté uniquement une analyse univariée.^{104,106} La seule association statistiquement significative a été observée dans l'étude de Bogunia-Kubik et al.⁸² portant sur un échantillon composé à la fois des patients pédiatriques et adultes. Celle-ci a mis en évidence une propension plus élevée de l'infection active du VEB chez les personnes de 25 ans ou plus par rapport aux plus jeunes (OR=1,54 [IC à 95%: 1,14-2,70], n=92). Par ailleurs la seule étude qui a examiné l'association entre l'âge du donneur de greffe et l'infection active du VEB n'a pas mis en exergue une association statistiquement significative (estimé de risque non rapporté).⁸²

- **Cas du SLPT**

En ce qui concerne la survenue du SLPT, Landgren et al.⁴³ ont trouvé que les patients ayant 50 ans ou plus étaient plus à risque que les autres (RR=5.1 [IC à 95%: 2,8-8,7], n=26901). Ce résultat n'est pas corroboré par toutes les autres études qui ont examiné cette association.^{4,39,84,94-98,166} Cette comparaison est toutefois à nuancer car le facteur de risque (âge) n'a pas été défini de la même manière dans toutes les études. Soulignons par ailleurs que ces études ont été réalisées soit avec des patients adultes^{98,166} ou soit avec des échantillons composés à la fois de patients pédiatriques

et adultes.^{4,39,43,84,94-97} D'autre part, aucune des études^{96,97,166} ayant exploré l'association entre l'âge du donneur de greffe et le SLPT n'a mis en exergue un lien statistiquement significatif.

1.6.7. Le genre du receveur/donneur de greffe

Plusieurs études ont examiné la relation entre le genre du receveur et l'infection active du VEB post-greffe^{32,69-71,73-75,79,82-84,86,88,90,92,105,106,155} mais aucune association statistiquement significative n'a été trouvée. Quatre de ces études ont été réalisées avec des patients pédiatriques.^{74,75,79,106} Par ailleurs, parmi les études qui ont analysé l'association entre le genre du donneur et l'infection active du VEB^{82,87,88,108} deux associations statistiquement significatives ont été mises en lumière mais les résultats sont contradictoires. Dans l'une des études, le risque d'infection active du VEB était plus élevé chez les patients recevant des greffes de donneurs masculins⁸⁷ tandis que, dans l'autre, les patients recevant des greffes de donneurs féminins semblaient être plus à risque de l'infection active du VEB.⁸⁸ En outre, aucune association statistiquement significative entre la combinaison du genre du donneur/genre du receveur et l'infection active du VEB n'a été mise en relief.^{72,76,82,87,88}

D'autre part, aucune association statistiquement significative n'a été mise en lumière entre le genre du receveur de greffe et la survenue du SLPT^{4,39,84,94,95,97,98} ainsi qu'entre le SLPT et les variables combinant à la fois le genre du donneur et du receveur.^{4,72,97} Dans la quasi-totalité de ces études, les résultats chiffrés de l'estimation ainsi que de l'inférence statistique n'ont pas été rapportés et aucune de ces études n'a été réalisée avec exclusivement des patients pédiatriques.

1.6.8. Les sérologies VEB du receveur/donneur de greffe

- **Cas de l'infection active du VEB**

Plusieurs études ont examiné l'association entre la sérologie VEB pré-greffe du receveur et l'infection active du VEB post-greffe. Qu'il s'agisse d'études sur des patients pédiatriques^{74,77,106} ou celles basées des échantillons de patients adultes ou adultes et pédiatriques,^{69,90} aucune association statistiquement significative n'a été mise en évidence. Parmi les études réalisées sur des patients pédiatriques, uniquement les résultats de l'analyse statistique univariée ont été présentés dans deux (n=89 et p=0,5¹⁰⁶, n=28 et p=0,13⁷⁴) et l'estimé du risque n'a pas été rapporté dans une des études (n=80).⁷⁷ Par ailleurs, concernant le statut VEB de la greffe, son association avec l'infection active du VEB a été généralement étudiée en combinaison avec la sérologie VEB pré-greffe du receveur et très peu d'association statistiquement ont été trouvées. Larberko et al.⁸⁶ qui ont comparé

différentes combinaisons de sérologie VEB du donneur (D) / receveur (R) ont montré un risque plus élevé d'infection active du VEB chez les patients séronégatifs (R-) qui ont reçu des greffes de donneurs séropositifs (D+) par opposition aux patients séropositifs (R+) ayant reçu des greffes de donneurs séropositif (D+) (HR=2,85 [IC à 95%: 1,12-7,28]). Cette étude a été réalisée avec un échantillon de 182 patients dont l'âge médian était de 6,4 ans (étendue: 0,2-23 ans). Par ailleurs, avec un échantillon de patients pédiatriques, Cesaro et al.⁷⁶ n'ont pas mis en exergue, avec une analyse univariée, un risque d'infection active du VEB significativement entre les patients du groupe D-/R- comparativement aux autres (p=0,08, n=79). Aussi, aucune association statistiquement significative n'a été trouvée entre la combinaison du statut VEB de la greffe/ sérologie VEB du receveur et l'infection active du VEB dans d'autres études réalisées avec des échantillons composés à la fois de patients pédiatriques et adultes^{82,88,92} ou uniquement de patients adultes.⁷³

- **Cas du SLPT**

S'agissant de l'association entre la sérologie VEB du receveur et/ou du donneur de greffe et la survenue du SLPT, Uhlin et al.⁴ ont montré que les patients qui appartenaient au groupe D+/R- étaient plus à risque que les autres (SHR=4,97 [IC à 95% : 2,30-10,7], n=1021). Ce résultat n'est pas corroboré par l'étude de Xu et al. (HR=1,00 [IC à 95% : 0,58-1,71], n=180)⁹⁷. En outre, Kalra et al.⁹⁶ ont montré à l'aide d'une analyse univariée que les patients du groupe D+/R- étaient plus à risque de SLPT que ceux du groupe D+/R+ (SHR=2,96; p=0,03). En revanche, une association statistiquement significative n'a pas été trouvée dans cette étude pour les comparaisons D-/R+ versus D+/R+ (SHR=1,36; p=0,47)⁹⁶ et D+/R- versus D+/R+ (SHR=2,09 p=0,24).⁹⁶ Dans le même ordre d'idées, les autres études ayant examiné la relation entre la sérologie VEB du receveur et/ou du donneur de greffe et le SLPT n'ont pas révélé des associations statistiquement significatives.^{39,84,98,166}

1.6.9. L'infection/réactivation du cytomegalovirus (CMV)

Le CMV, également connu sous le nom de HHV-5, appartient à la même famille de virus que le VEB (HHV-4). Les résultats de l'étude de Zallio et al.⁵² ont indiqué que la propension à développer une infection active du VEB étaient plus élevée chez les patients avec réactivation du CMV (p <0,05, n=100). Cependant, cette association n'est pas corroborée par les études qui ont été

menées par Carpenter et al.⁴⁹ (HR=0,89 [IC à 95%: 0,50-1,59], n=111); Patriarca et al.³² (p=0,369, analyse univariée, n=100); Torre-Cisneros et al.⁹¹ (HR=2 [IC à 95% : 0,7-7,1], n=100); Garcia-Cadenas et al.⁷² (p=0,22, analyse univariée, n=93); Chiereghin et al.⁷⁴ (p=0,690, analyse univariée, n=28) et Bordon et al.⁷⁷ (estimés non rapportés, n=80). Les deux dernières études susmentionnées portent sur les patients pédiatriques. En outre, Xu et al.⁹⁷ ont mis en évidence un risque plus important de SLPT chez les patients qui ont eu une réactivation du CMV comparativement aux autres (HR=5,68 [IC à 95% : 1,17-27,57], n=180). Ce résultat n'est toutefois pas confirmé par l'étude de Garcia-Cadenas et al.⁷² Par ailleurs, aucune association statistiquement significative n'a été trouvée par les différentes qui ont examiné le lien entre la sérologie CMV du receveur et/ou du donneur de greffe et l'infection active du VEB^{69,73,76,84,111,155} ou le SLPT.^{84,95,167} Parmi ces études, celle de Cesaro et al.⁷⁶ est la seule qui a été réalisée exclusivement avec des patients pédiatriques.

1.6.10. Le contenu du greffon

Des associations entre différents contenus du greffon (CD34⁺, CD3⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD4⁺, CD16⁺, CD19⁺, etc...) et l'infection active du VEB ont été explorées dans plusieurs études.^{49,69,70,73,80,84,86,105,106,111,155} Parmi toutes ces études, deux ont été réalisées avec un échantillon de patients pédiatriques.^{86,106} Au total, trois associations statistiquement significatives ont été identifiées. Van Esser et al.⁷⁰, avec un échantillon composé de patients pédiatriques et adultes, ont révélé que le risque d'infection active du VEB était plus élevé chez les patients recevant une greffe contenant plus de 1,35 x 10⁶ / kg CD34⁺ comparativement aux autres patients (HR=2,6 [IC à 95%: 1,5-4,6], n=152). Ce résultat n'est pas corroboré par plusieurs autres études.^{49,69,73,80,84,105,155} Soulignons toutefois que la définition du facteur de risque n'est pas similaire dans ces études. Pour ce qui est des cellules CD3⁺, Christopeit et al.⁸⁰ ont indiqué que les patients ayant reçu des greffons contenant un nombre élevé de ces cellules (≥ médiane) avaient une propension plus faible à développer une infection active du VEB que ceux recevant des greffons avec une faible teneur en CD3⁺ (OR=0,11 [IC à 95%: 0,02-0,78], n=28). En revanche, Van Esser et al.⁷⁰ et Carpenter et al.⁴⁹ n'ont pas mis en évidence des associations statistiquement significatives entre le nombre de cellules CD3⁺ dans le greffon et l'infection active du VEB. Concernant le nombre de cellules CD3⁺CD8⁺, Christopeit et al.⁸⁰ ont rapporté que les patients ayant reçu une greffe contenant un nombre élevé de ces cellules (≥ médiane) avaient une propension plus faible à développer une infection active du VEB comparativement aux autres patients (OR=0,05 [IC à 95%: 0,01-0,43], n=28). D'autre part,

aucune association statistiquement significative n'a été trouvée entre le contenu du greffon [Nombre total de cellules nucléées,^{4,95} Nombre total de lymphocytes,⁹⁷ CD3⁺,⁹⁷ CD4⁺,⁹⁷ CD34⁺,^{84,97}] et le SLTP.

1.6.11. Le niveau immunitaire post-transplantation

- **Cas de l'infection active du VEB**

Selon Patriarca et al.³², les patients adultes avec un niveau des lymphocytes CD4⁺ $\geq 50/\mu\text{l}$ dans le sang périphérique 1 mois après la transplantation avaient une propension plus faible à développer une infection active du VEB par rapport aux patients avec un nombre inférieur des lymphocytes CD4⁺ (OR=0,1 [IC à 95%: 0,02-0,48], n=100). Cependant, cette association n'a pas été confirmée 3 mois après la transplantation (p=0,580 en analyse univariée). Aussi, des associations non statistiquement significatives entre le niveau des lymphocytes CD4⁺ post-greffe et l'infection active du VEB ont été rapportées par Liu et al.⁸¹ (p>0,1, n=132) et Auger et al.⁷¹ (estimés non rapportés, n=190). D'autre part, Liu et al.⁸¹ ont mis en évidence une association statistiquement significative entre la quantité de cellules V δ 2⁺ T à 30 jours post-greffe et l'infection active du VEB (p=0,021) chez des patients adultes. Toutefois, cette relation n'était plus significative à 60 jours post-greffe (p=0,078). Par ailleurs, les associations entre le niveau post-greffe d'autres composants du système immunitaire (CD3⁺ T, CD3⁺CD8⁺ T, CD3⁺CD4⁺ T, Neutrophile, CD4⁻ CD8⁻)^{73,81,155} et l'infection active du VEB ont été explorées mais aucun lien statistiquement significatif n'a été mis en exergue.

- **Cas du SLPT**

Xu et al.,⁹⁷ avec un échantillon composé à la fois de patients adultes et pédiatriques, ont examiné l'association entre plusieurs composants du système immunitaire [nombre (nb) total de lymphocytes, nb CD3⁺, nb CD4⁺, nb CD8⁺, nb CD19⁺, nb Immunoglobuline (Ig) G, nb IgA et nb IgM] à 30 jours post-greffe et le SLPT. Il y ressort que les patients qui avaient un nombre de cellules CD8⁺ à 30 jours post-greffe \geq à la médiane présentaient un risque moins élevé du SLPT que les autres (HR=0,34 [IC à 95%: 0,13-0,92], n=180). Un constat similaire avait été fait pour les patients qui avaient un nombre d'IgM à 30 jours post-greffe \geq à la médiane (HR=0,27 [IC à 95% : 0,10-0,75], n=180). Aucune association statistiquement significative n'a été mise en exergue pour les autres composants du système immunitaire susmentionnés.

1.6.12. Les facteurs génétiques

Deux génotypes humains ont été identifiés dans deux études comme des facteurs associés à une infection VEB active. Premièrement, selon l'étude réalisée par Bogunia-Kubik et al.⁸⁵, les patients avec le gène de l'interféron- γ (IFNG γ) 3/3 ont une plus grande propension à développer une infection active du VEB que les patients porteurs d'un autre gène IFNG γ (OR=7.28, p = 0,005, n=83). Deuxièmement, Bogunia-Kubik et al.⁸² ont montré que les patients avec le récepteur CC-chimiokine 5 (CCR5) avaient une propension plus faible à développer une infection active du VEB (OR=0,17 [IC à 95%: 0,03-0,80], n=92). Les deux études susmentionnées ont été réalisées avec des échantillons composés à la fois de patients pédiatriques et adultes.

1.6.13. Les produits sanguins transfusés

L'étude de Trottier et al.⁶² est la seule qui a examiné l'association entre les produits sanguins transfusés et l'infection active du VEB à l'aide d'un modèle statistique chez les greffés. Cette étude a été réalisée avec un échantillon de 238 patients pédiatriques. En considérant comme référence les patients pédiatriques qui avaient reçu moins de 1260 ml de plaquettes, cette étude avait révélé un risque plus élevé d'infection active du VEB chez les patients pédiatriques qui avaient reçu plus de 2530 ml de plaquettes (HR=2,19 [IC à 95%: 1,21-3,97]) et encore chez ceux qui avaient reçu entre 1260 et 2530 ml de plaquettes (HR=1,65 [IC à 95%: 0,86-3,18]). Bien que le dernier estimé de risque susmentionné ne soit pas statistiquement significatif, le test de tendance avait mis en relief une augmentation significative du risque d'infection active du VEB avec l'augmentation du volume de plaquettes reçues (p=0,012). Par ailleurs, concernant le plasma, les patients pédiatriques qui avaient reçu 200 ml ou plus de plasma avaient potentiellement un risque plus élevé d'infection active du VEB que ceux qui n'avaient reçu aucune transfusion de ce produit sanguin (HR=3,16 [IC à 95%: 1,00-11,17]). D'autre part, s'agissant des globules rouges, le risque d'infection active du VEB semblait augmenter avec le volume transfusé. En effet, en prenant comme référence les patients pédiatriques n'ayant reçu aucune transfusion de globules rouges, le risque d'infection active du VEB était plus élevé chez ceux qui avaient reçu moins de 850 ml de ce produit (HR=1,99 [IC à 95%: 0,47-8,44]), chez ceux qui avaient reçu entre 850 et 1890 ml (HR=2,40 [IC à 95%: 0,56-10,24]) et chez ceux qui avaient reçu plus de 1890 ml (HR=2,86 [IC à 95%: 0,68-12,11]). Le test de tendance avait corroboré cette augmentation du risque d'infection active du VEB avec le volume

de globules rouges reçus ($p=0,047$). Des études similaires sont nécessaires pour clarifier ces potentielles associations.

1.6.14. Autres facteurs

Quelques études ont examiné l'association entre l'historique de la greffe et l'infection active du VEB.^{69,72,84} ou le SLPT.^{43,72,84} D'après l'étude de Garcia-Cadenas et al.⁷², réalisée exclusivement sur des patients adultes, le risque d'infection active du VEB était plus élevé chez les patients qui avaient déjà reçu une précédente greffe (HR=2,6 [IC à 95%: 1,1-6,4], n=93). Ce résultat n'est pas corroboré par les deux autres études qui ont été menées avec des échantillons composés à la fois de patients pédiatriques et adultes. Les estimés de risque et les résultats de l'inférence statistique n'ont pas été rapportés.^{69,84} Par ailleurs, Landgren et al. (RR=3,5 [1,7-6,3], n=26901)⁴³ et Garcia-Cadenas et al. (HR=6,4 [1,3-31,9], n=93)⁷² avaient montré un risque plus accru de SLPT chez les patients qui avaient déjà reçu une précédente greffe. En revanche, Sanz et al.⁸⁴ n'ont pas mis en évidence une association statistiquement significative entre l'historique de greffe et le SLPT.

D'autres facteurs de risque ont également été mis en évidence par des précédentes études. Van Esser et al.⁷⁰, avec un échantillon composé à la fois de patients pédiatriques et adultes, ont montré qu'une augmentation progressive de la charge virale du VEB de 1 log était associée à un risque plus élevé de SLPT (HR=2,9 [IC à 95%: 1,7-4,8], n=152). Uhlin et al.⁴ avaient aussi trouvé que les patients ayant eu une splénectomie avaient un risque plus important de SLPT que les autres (SHR=4,81 [IC à 95%: 1,51-15,4], n=1021).

Par ailleurs, selon les résultats de plusieurs études, la source de la greffe (sang périphérique, moelle osseuse et sang du cordon) ne semble pas être associée à l'infection active du VEB.^{32,46,53,70-74,82,105,106} Parmi toutes ces études, celle de Cesaro et al.¹⁰⁶ est la seule qui a montré une association statistiquement significative avec une analyse univariée comparant les patients pédiatriques qui ont reçu une greffe provenant de la moelle osseuse à ceux qui ont reçu une greffe issue du sang du cordon ($p=0,047$, n=89). Les deux autres études qui ont été réalisées avec des patients pédiatriques sont celles de Hiwarkar et al.⁵³ et de Chiereghin et al.⁷⁴ Dans le même ordre d'idées, les études ayant examiné l'association entre la source de la greffe et le SLPT n'ont pas mis en évidence des liens statistiquement significatifs^{4,72,96,166,168} à l'exception de l'étude de Fujimoto et al.¹⁶² qui a montré que les patients ayant reçu une greffe du sang de cordon présentaient un risque plus

important de SLPT que ceux qui avaient reçu une greffe d'un donneur apparié et apparenté (HR=8,03 [IC à 95% : 4,72-13,7], n=40195).

1.7 Synthèse et lacunes

Il ressort de l'examen de la littérature sur les facteurs associés à l'infection active du VEB post-greffe et au SLPT les constats ci-après. Toutes les études explorées reposaient sur le suivi d'une cohorte de patients après la transplantation. La définition de l'infection active du VEB était très variable d'une étude à une autre. Les études portant exclusivement sur les patients pédiatriques sont peu nombreuses. Les échantillons sont généralement composés à la fois de patients pédiatriques et adultes. Cette situation pourrait se justifier par la nécessité d'avoir une meilleure puissance statistique. Toutefois, étant donné que selon le type de greffe, la restauration immunitaire par reconstitution des cellules T après la transplantation peut être différente entre les enfants et les adultes,⁹⁹ une meilleure compréhension de l'infection active du VEB et du SLPT dans la population pédiatrique requiert davantage d'études dans ce groupe. Par ailleurs, il est important de relever que les variables explorées ainsi que leurs codifications diffèrent d'une étude à une autre. Aussi, différentes méthodes statistiques ont été utilisées dans ces études pour mettre en relief les facteurs associés à l'infection active du VEB et au SLPT. Il s'agit du modèle de Cox,^{39,46,62,70,72,76,79,83,91,92,95,97,111,143,151,162,167} la régression logistique,^{32,52,53,77,78,80,82,85,87,88,90,98,105} le modèle de risque compétitif Fine-Gray,^{4,49,69,73,84,86,96,142} la régression linéaire multiple,^{75,89} la régression de Poisson pour les données de survie groupées,⁴³ le test du log-rank,⁹⁴ le test du Chi 2 test,^{71,74,103,104,106,155,156,163,164,166} le test de Wilcoxon,^{71,108,166} le test de Kruskal-Wallis,⁷¹ le test exact de Fisher,^{106,107,109,166} le test de Mann-Whitney^{109,166} et le test de Wald.¹¹⁰ Au regard des méthodes statistiques suscitées, dans plusieurs études uniquement les analyses univariées ont été rapportées. En l'absence de contrôle de la confusion dans ces études, il est difficile de tirer des conclusions sur la base des résultats trouvés. En outre, tous les éléments ci-avant évoqués pourraient en partie expliquer la non-reproductibilité observée, des résultats d'une étude à une autre. Notons également que dans plusieurs études, les p-values, les coefficients de régression et les intervalles de confiance ne sont généralement pas rapportés quand les associations ne sont pas statistiquement significatives. Cette situation est un obstacle pour la réalisation des méta-analyses de renforcer les conclusions sur les facteurs de risque de l'infection active du VEB et du SLPT. Par ailleurs, dans les études explorées, les auteurs se sont limités à rechercher des facteurs associés à la première

occurrence de l'infection active du VEB post-greffe et pourtant au cours de son suivi, un patient peut avoir plusieurs épisodes d'infection active du VEB^{49,93} dont certains peuvent l'exposer au SLPT. Ce dernier aspect doit être pris en compte afin de mieux comprendre la dynamique de l'infection active du VEB post-transplantation. D'autre part, les informations sur l'attrition qui pourrait être la principale source de biais de sélection dans ce type d'étude ont été très peu rapportées. Aussi, étant donné que le processus de greffe repose sur un ensemble de choix thérapeutiques qui dépendent de plusieurs facteurs, il est important d'adresser la problématique du biais de confusion par indication au moment de la conception de l'étude pour collecter le maximum de données possibles afin de minimiser l'impact de ce biais sur les résultats. Ainsi, il ressort de tout ce qui précède que d'autres études menées sur des cohortes pédiatriques de grandes tailles sont nécessaires pour mieux élucider les déterminants de l'infection active du VEB post-greffe et du SLPT dans cette population.

Chapitre 2 : Méthodes

Cette partie est consacrée à la présentation de la batterie d'éléments méthodologiques mobilisés pour répondre aux objectifs de la thèse. Pour l'objectif 1, le processus de mise en œuvre de la revue systématique et de la méta-analyse est décrit de même que les outils et méthodes de synthèses des données. S'agissant des deux autres objectifs, le devis de l'étude commun est présenté, les données qui ont été utilisées pour les analyses sont décrites ainsi que les différentes méthodes statistiques mobilisées.

2.1 Faire une revue systématique et une méta-analyse des facteurs de risque à l'infection active du VEB et du SLPT chez les enfants et les adultes ayant reçu une greffe de CSH

La démarche méthodologique qui a été utilisée pour réaliser cet objectif se décline en 5 principales étapes à savoir : (i) Définition des critères de sélection des articles ; (ii) Identification des concepts et mots clés ; (iii) Sélection des articles, (iv) Évaluation de la qualité des études et extraction des données et (v) Synthèses et interprétation des résultats. Chacune de ces étapes est décrite ci-dessous.

2.1.1 Critères d'inclusion/exclusion des publications

Les critères ci-après ont été utilisés pour sélection les articles pour la revue systématique : (1) la population étudiée est composée de greffés de CSH pédiatriques et/ou adultes ; (2) les facteurs de risque de l'infection active à VEB ou du SLPT ont été examinés au moyen des méthodes statistiques univariées et/ou multivariées ; et (3) la publication a été faite en anglais ou en français. En revanche, les résumés, les papiers de conférence, ou de congrès, les éditoriaux, les lignes directrices, les revues et les rapports de cas ont été exclus. Pour la méta-analyse, seuls les articles dont les facteurs de risque ont été explorés en considérant les facteurs de confusion ont été retenus.

2.1.2 Concepts et mots clés

Une liste non exhaustive des concepts et mots clés a été obtenue en exploitant un pool d'une trentaine d'articles en rapport avec l'infection active du VEB et au SLPT. Cette liste est élargie à

l'aide des descripteurs MeSH (Medical Subject Heading) dans MEDLINE et Emtree dans EMBASE. Les équations de recherche qui ont été utilisées dans les deux bases sont indiquées ci-dessous.

Medline: (EBV*.mp. or HHV4*.mp. or Epstein-Barr virus*.mp. or exp Herpesvirus 4, Human/ or exp Epstein-Barr Virus Infections/) AND (risk*.mp. or reactivation*.mp or active*.mp. or chronic active*.mp. or activation*.mp. or viremia*.mp. or DNAemia*.mp. or infection*.mp. or posttranspl*.mp. or post-transpl*.mp. or lymphopro*.mp. or PTLD.mp. or exp Risk/ or exp Risk Factors/ or exp Virus Activation/ or exp Viremia/ or exp Infection/ or exp Lymphoproliferative Disorders/) AND (exp Stem Cell Transplantation/ or exp Cord Blood Stem Cell Transplantation/ or exp Hematopoietic Stem Cell Transplantation/ or exp Hematopoietic Stem Cells/ or exp Peripheral Blood Stem Cell Transplantation/ or exp Bone Marrow Transplantation/).

EMBASE: (EBV*.mp. or HHV4*.mp. or Epstein-Barr virus*.mp. or exp Epstein-Barr Virus / or exp Epstein-Barr Virus Infections/) AND (risk*.mp. or reactivation*.mp or active*.mp. or chronic active*.mp. or activation*.mp. or viremia*.mp. or DNAemia*.mp. or infection*.mp. or posttranspl*.mp. or post-transpl*.mp. or lymphopro*.mp. or PTLD.mp. or exp Risk/ or exp Risk Factors/ or exp recurrence risk/ or exp Virus reactivation/ or exp Viremia/ or exp Infection/ or exp posttransplant lymphoproliferative disease/) AND (exp hematopoietic stem cell transplantation/ or exp Stem Cell Transplantation/ or exp allogeneic hematopoietic stem cell transplantation or exp bone marrow transplantation/ or exp allogenic bone marrow transplantation/ or exp peripheral blood stem cell transplantation/ or exp allogeneic peripheral blood stem cell transplantation/ or exp cord blood stem cell transplantation).

2.1.3 Recherche et sélection des articles

La période retenue pour la recherche des publications allait de 1946 au 30 juin décembre 2020 et l'interface ovidSP a été utilisée pour accéder aux deux bases de données documentaires. La démarche recommandée par Moher et al.¹⁶⁹ a été mise en œuvre. Le processus de sélection des articles est résumé en six étapes à savoir: (1) l'identification des publications dans MEDLINE et EMBASE ; (2) l'examen des titres identifiés ; (3) l'exploration des résumés des publications retenues à l'étape précédente ; (4) l'examen complet du contenu des articles retenus à l'étape précédente ; (5) l'exploration des publications référencées dans chaque article retenu à l'étape précédente pour identifier des nouveaux articles pour la synthèse qualitative de données ; et (6)

l'identification des articles pour la méta-analyse. Ci-dessous la description spécifique de chacune des étapes.

Étape 1 : En utilisant l'interface ovidSP, les publications ont été identifiées dans MEDLINE et dans EMBASE à l'aide des concepts et mots-clés préalablement définis. Les doublons ont été supprimés en utilisant le logiciel EndNote X7 après la fusion des résultats des recherches obtenus à partir des deux bases de données documentaires susmentionnées.

Étape 2 : Deux investigateurs (Pascal Enok et Monica Zahreddine) ont examiné indépendamment les titres des publications retenues à l'étape précédente et ont exclu celles dont les titres indiquaient clairement qu'au moins un des critères d'inclusion n'était pas vérifié ou mettaient en relief un critère d'exclusion. En cas de discordance entre ces deux investigateurs, les publications querellées ont été considérées à l'étape suivante.

Étape 3 : Le résumé de chacune des publications retenues à l'étape précédente a été exploré par chacun des deux investigateurs susmentionnés dans l'optique d'exclure les articles ne remplissant pas les critères d'inclusion. En cas de discordance entre ces deux investigateurs, les publications concernées ont été considérées à l'étape suivante.

Étape 4 : Le contenu complet de chaque article qui a été sélectionné par chacun des deux investigateurs suscités a été examiné. Les articles ne vérifiant pas les critères d'inclusion ont été exclus. Les discordances observées entre les deux investigateurs ont été adressées lors d'un échange tripartite avec un troisième investigateur (Dre Helen Trottier).

Étape 5 : Les étapes 2 à 4 ont été répétées pour les publications référencées dans chaque article qui a été retenu à l'étape 4. Les articles qui ont été sélectionnés à l'étape 4 et à cette étape ont constitué le panier d'article qui a été utilisé pour la synthèse qualitative des données. En cas de discordance, le consensus a été trouvé à la suite d'une discussion impliquant Pascal Enok, Monica Zahreddine et Helen Trottier.

Étape 6 : Pascal Enok et Monica Zahreddine ont identifié de manière indépendante les articles dans lesquels les risques relatifs ajustés (ratio de risque, rapport de côte) pour sélectionner les articles qui ont servi à la réalisation de la synthèse quantitative des données (méta-analyse).

2.1.4 Extraction des données et évaluation de la qualité des études

Les données/informations ont été extraites par Pascal Enok et Monica Zahreddine de manière indépendante en utilisation le tableau présenté en annexe 1. Les résultats des extractions

ont été validés par le Dre Helen Trottier. Les informations qui ont été extraites des articles sélectionnés et consignés dans des tableaux sont les suivantes: nom du 1^{er} auteur, année de publication, période de la greffe, pays, type d'étude, durée de suivi post-transplantation, source de la greffe, taille de l'échantillon, population (enfant ou adulte, âge médian ou âge moyen, âge minimum, âge maximum ou intervalle interquartile de l'âge), définition de l'évènement d'intérêt (infection active du VEB, SLPT), fréquence des tests PCR pour détecter le VEB, compartiment sanguin utilisé pour réaliser les tests PCR, facteurs de risque et variables de confusion/ajustement, outils de mesure des variables et méthodes statistiques utilisées. De plus, pour tous les potentiels facteurs de risque qui ont été explorés dans les différentes études, l'estimé ponctuel du risque relatif, son intervalle de confiance et/ou les p-values ont été collectés lorsqu'ils étaient rapportés. Dans certains cas, l'auteur correspondant a été contacté pour clarifier les ambiguïtés.

Par ailleurs, la qualité de chaque étude a été évaluée indépendamment par Pascal Enok et Monica Zahreddine en utilisant une version modifiée de l'outil "Effective Public Health Practice Project (EPHPP) Quality Assessment Tool for Quantitative Studies".^{170,171} Les rubriques ci-après ont été considérées pour l'évaluation de la qualité : (i) biais de sélection; (ii) devis de l'étude; (iii) contrôle de la confusion et (iv) méthode de collecte des données. La description du contenu de chaque rubrique a été présentée dans le matériel supplémentaire de l'article 1 consigné au chapitre 3. Pour chaque étude, les rubriques susmentionnées ont été notées comme forte, modérée ou faible (de haute qualité à faible qualité). De manière globale, une étude a été considérée comme de bonne qualité si aucune rubrique n'a reçu la note faible; de qualité moyenne si une seule rubrique a reçu la note faible à l'exception de la rubrique contrôle de la confusion. En fin, la qualité d'une étude a été jugée faible si la rubrique relative au contrôle de la confusion a été notée faible ou si au moins deux rubriques ont reçu la notation faible. Un consensus a été trouvé pour les cas de discordance lors d'une discussion réunissant Pascal Enok, Monica Zahreddine et Helen Trottier.

2.1.5 Synthèse des données et interprétation des résultats

Dans un premier temps, une description comparative des études a été réalisée en s'appuyant sur les données/informations consignées dans les tableaux d'extraction. Par ailleurs, les données rapportées ont permis de réaliser une méta-analyse uniquement pour mesurer l'association entre l'utilisation la globuline antithymocyte (ATG) et l'infection active du VEB d'une part et le SLPT

d'autre part. Une méta-analyse n'a pas pu être réalisée pour les autres potentiels facteurs de risque examinés dans les différentes études car les définitions des variables étaient très hétérogènes.

Pour chacune des associations considérées, l'estimé ponctuel agrégé du risque relatif (RR) et son intervalle de confiance ont été obtenus en combinant les ratios de risque (HR, SHR) et les rapports de cotes (OR) publiés ou estimés à partir des données disponibles. Étant donné que l'infection au VEB post-transplantation n'est pas un événement rare dans cette population, pour obtenir des estimés agrégés, les résultats des études qui ont rapporté les HR ou les SHR ajustés ont été combinés séparément de ceux qui ont rapporté les OR ajustés. Cette distinction n'a pas été faite pour le SLPT qui est un événement relativement moins fréquent. Les résultats des différentes études ont été combinés en utilisant la méthode de l'inverse de la variance à l'aide d'un modèle à effets aléatoires. Nous avons fait le choix du modèle à effet aléatoire sans tenir compte des mesures statistiques de l'hétérogénéité. En effet, au regard de plusieurs différences observées entre les études sur les plans clinique et méthodologique, il serait difficile d'exclure, même sur la base d'un test statistique non-significatif, la présence d'hétérogénéité entre ces études.¹⁷² Plusieurs facteurs militent pour l'existence d'une potentielle hétérogénéité clinique entre ces études. Il s'agit en l'occurrence des différences observées pour les éléments ci-après : la définition de la variable résultat, la fréquence de mesure de la variable résultat, le type de produits sanguins utilisé pour réaliser les tests PCR du VEB, la période de réalisation des greffes (les études couvrent la période 2004-2020), le type de greffes reçu par les patients, l'âge des patients. Par ailleurs les différences observées notamment en termes de devis d'étude, de taille d'échantillon, de méthodes de sélection des variables pour l'analyse statistique multivariée et de durée de suivi des patients traduisent une hétérogénéité méthodologique. La présence d'hétérogénéité statistique a été mesurée en utilisant la statistique $I^2=100*(Q-df)/Q$ (avec Q la statistique du Q-test d'hétérogénéité de Cochran et df le nombre de degrés de liberté correspondant ici au nombre d'études moins un), qui indique la proportion de la variance totale observée qui est due à une réelle différence dans les mesures des effets entre les études.^{172,173} Signalons que l'hétérogénéité statistique est le corollaire de l'hétérogénéité clinique et de l'hétérogénéité méthodologique.¹⁷⁴ La statistique I^2 a été préférée à la statistique Q car contrairement au Q-test, I^2 n'est pas influencée par le nombre d'études. De plus, un Q-test non significatif n'implique pas forcément l'absence d'hétérogénéité entre les études car la puissance du test dépend du nombre d'études.^{172,173} Pour la statistique I^2 , les valeurs de 0%, 25%, 50% et 75% représentent respectivement les niveaux d'hétérogénéité suivants : absence, faible,

modérée et forte.^{172,173} Les risques relatifs individuels et agrégés ont par ailleurs été représentés de manière graphique en utilisant un « forest plot ». Aussi, nous avons également effectué une analyse de sensibilité pour évaluer la contribution de chaque étude à l'estimation groupée. À cette fin, l'estimation groupée a été recalculée, en excluant à chaque fois une seule des études considérées.¹⁷⁵ Le logiciel R version 3.6.1 a été utilisé pour effectuer la méta-analyse.

2.2 Matériels et méthodes : parties communes aux objectifs 2 et 3

Pour ce qui est des objectifs 2 et 3, ceux-ci ont été réalisés en utilisant le même devis d'étude, la même population d'étude et la même base de données. Ces éléments communs sont préalablement présentés avant de décliner les aspects spécifiques à chaque objectif.

2.2.1 Devis de recherche

Cette thèse est intégrée au sein de l'étude de cohorte prospective multicentrique canadienne **TREASuRE** (Transfusion-related EBV Infection Among Allogeneic Stem Cell Transplant Pediatric Recipients). L'objectif principal de cette étude, financée par les Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC) en partenariat avec la société canadienne du sang/Canadian Blood Services (CBS), était d'examiner le lien entre les produits sanguins déleucocytés transfusés et l'infection à VEB chez les enfants greffés de cellules souches hématopoïétiques.

2.2.2 Sites de l'étude

L'étude TREASuRE a été réalisée dans 4 centres de référence hospitaliers sur la greffe hématopoïétique pédiatrique au Canada à savoir : (1) Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine (Montréal); (2) Children's Hospital/ CancerCare Manitoba (Winnipeg); Children's and Women's Health Centre of British Columbia (Vancouver); Children's Hospital (Alberta).

2.2.3 Population de l'étude

Les enfants qui reçoivent une 1^{ère} greffe de CSH dans les centres de greffes du Canada constituent la population ciblée par la présente étude. La population source quant à elle est composée des enfants qui ont reçu une 1^{ère} greffe de CSH dans les 4 hôpitaux susmentionnés. Cette étude a été réalisée avec un échantillon de 156 patients, âgés au plus de 21 ans et bénéficiant d'une 1^{ère} greffe de CSH. Les patients ont été recrutés de manière consécutive dans les hôpitaux suscités entre novembre 2013 et décembre 2017.

2.2.4 Base de données de l'étude

Les patients ont été recrutés 1 mois avant la greffe et ont été suivis en moyenne pendant 6 à 12 mois après la greffe. La base de données de cette étude a été élaborée à partir des données collectées dans les dossiers médicaux des patients, par des infirmières et les assistants de recherche préalablement formés, et rapportées dans des formulaires d'observation (Medical Report Form (MRF)) correspondant aux périodes ci-après : Baseline; 0-100 jours; >100 jours à 6 mois et >6 mois à 12 mois. Le premier formulaire a été utilisé pour collecter les données relatives à la période pré-greffe ou \pm quelques jours de la date de la greffe (données démographiques, type de maladie, type de greffe, sérologie VEB du receveur/donneur de greffe, données relatives à la préparation de la greffe, données de transfusion sanguine, date de la greffe, etc.). Les 3 autres formulaires qui sont identiques ont permis de récapituler les données de chaque patient respectivement après 100 jours, 6 et 12 mois de suivi (résultat PCR et charge virale VEB, date de la sortie de l'hôpital s'il y a lieu, date et cause de décès s'il y a lieu, données sur la transfusion sanguine, complications liées ou pas au VEB ou autres infections, etc.). Les MRF utilisés sont consignés en annexe 2. Les MRF complétés dans les différents sites ont été transmis au Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine (CHUSJ) où s'effectuaient la saisie des données et l'archivage des MRF par le personnel préalablement formé. L'élaboration de la base de données a été réalisée au CHUSJ avec un contrôle de la qualité de données saisies à travers des analyses qui ont permis de déceler les données manquantes et des données potentiellement aberrantes et des contrôles de cohérence entre les variables. Toutes les listes d'erreurs et de données manquantes étaient envoyées aux différents sites concernés pour vérification et corrections éventuelles.

Par ailleurs, Héma-Québec et Canadian Blood Services (CBS) ont permis de retracer les donneurs de sang d'un patient qui était séronégatif au VEB avant la greffe et qui a été testé positif dans la période post-transplantation.

Les variables contenues dans la base de données qui ont été utilisées sont présentées dans le Tableau 1. Pour chaque variable les éléments ci-après sont renseignés : l'échelle de mesure, les catégories pour les variables catégorielles, l'unité de mesure s'il y a lieu, la méthode de mesure/calcul ou la transformation qui a été effectuée s'il y a lieu et la fréquence de mesure.

Tableau 1 : Variables collectées dans l'étude TREASuRE

Rubrique	Variable	Échelle de mesure	Catégorie	Unité	Méthode de mesure/Calcul ou transformation	Fréquence de mesure
Caractéristiques démographiques	Sexe du receveur de greffe	Nominale	1-Masculin, 2-Féminin	NA	NA	Baseline
	Âge du receveur au moment de la greffe	Continue	0 à 21	Année	(Différence entre la date de transplantation et la date de naissance) /365.25	
Caractéristiques cliniques du receveur	Diagnostic primaire	Nominal	1-Maladie maligne, 2-Maladie non maligne	NA	Le regroupement en deux catégories a été réalisé avec l'appui des cliniciens sur la base des diagnostics observés.	Baseline
	Sérologie pré-greffe VEB du receveur	Nominal	1-Positive, 2-Négative,	NA	Les sérums pré-transplantation des receveurs et des donneurs de moelle osseuse ont été collectés selon le protocole clinique et testés par des méthodes standard pour mesurer les anticorps IgG dirigés contre l'antigène de capsid virale EB (VCA), les antigènes précoces (EA) et les antigènes nucléaires (EBNA). ¹⁷⁶ Le statut d'infection du donneur et du receveur a été classé en fonction de leur sérologie pré-transplantation: 1) infection antérieure (titres VCA et EBNA IgG > 10), 2) infection récente ou immunodéprimée (VCA-IgG > 10 et titres EBNA-IgG < 10), 3) infection réactivée (VCA-IgG, EA-IgG, EBNA-IgG > 10) ou 4) naïve au virus VEB (VCA et EBNA IgG < 10). Le statut indéterminé a été attribué quand les données sérologiques étaient douteuses. Aucun test sérologique n'a été effectué sur le sang de cordon, car il est pratiquement toujours négatif pour le VEB. ^{177,178} Le regroupement en trois catégories a été réalisé avec l'appui des cliniciens sur la base des résultats des tests sérologiques ci-dessus décrits. Les détails sur le test utilisé par chaque site sont consignés dans l'article 2 (Table S1).	
Caractéristiques de la greffe	Statut VEB du greffon	Nominal	1-Positif, 2-Négatif,	NA	Les sérums pré-transplantation des receveurs et des donneurs de moelle osseuse ont été collectés selon le protocole clinique et testés par des méthodes standard pour mesurer les anticorps IgG dirigés contre l'antigène de capsid virale EB (VCA), les antigènes précoces (EA) et les antigènes nucléaires (EBNA). ¹⁷⁶ Le statut d'infection du donneur et du receveur a été classé en fonction de leur sérologie pré-transplantation: 1) infection antérieure (titres VCA et EBNA IgG > 10), 2) infection récente ou immunodéprimée (VCA-IgG > 10 et titres EBNA-IgG < 10), 3) infection réactivée (VCA-IgG, EA-IgG, EBNA-IgG > 10) ou 4) naïve au virus VEB (VCA et EBNA IgG < 10). Le statut indéterminé a été attribué quand les données sérologiques étaient douteuses. Aucun test sérologique n'a été effectué sur le sang de cordon, car il est pratiquement toujours négatif pour le VEB. ^{177,178} Le regroupement en trois catégories a été réalisé avec l'appui des cliniciens sur la base des résultats des tests sérologiques ci-dessus décrits. Les détails sur le test utilisé par chaque site sont consignés dans l'article 2 (Table S1).	Baseline
	Source de la greffe	Nominal	1-Sang du cordon, 2-Moelle, 3-Sang périphérique	NA	Les catégories Moelle et Sang périphérique ont été fusionnées lors des analyses.	
	Type de donneur	Nominal	1-Donneur apparié et apparenté, 2-Donneur Alternatif	NA	Le groupe des donneurs appariés et apparentés est composé des jumeaux monozygotes, des frères/sœurs avec antigènes leucocytaires humains (HLA) identiques et d'autres personnes apparentées avec HLA	

Tableau 1 : Variables collectées dans l'étude TREASuRE

Rubrique	Variable	Échelle de mesure	Catégorie	Unité	Méthode de mesure/Calcul ou transformation	Fréquence de mesure
					appariés. Le groupe des donneurs alternatifs comprend des personnes apparentées avec HLA non appariés, les personnes appariées mais non apparentées et les personnes non appariées et non apparentées.	
Régime de conditionnement et prophylaxie contre la GvHD	Régime de conditionnement	Nominal	1- MAC 2- Autre	NA	Cette variable a été construite avec l'appui des cliniciens à partir des données observées. Tout régime de conditionnement incluant l'irradiation corporelle totale ≥ 10 Gy ou Busulfan, dose totale ≥ 12 mg / kg a été considéré comme myéloablatif.	Baseline
	ATG	Nominal	1-Oui, 2-Non	NA	NA	Baseline
	Alemtuzumab	Nominal	1-Oui, 2-Non	NA	NA	
	CsA	Nominal	1-Oui, 2-Non	NA	NA	
	Tacrolimus	Nominal	1-Oui, 2-Non	NA	NA	
	MTX	Nominal	1-Oui, 2-Non	NA	NA	
MMF	Nominal	1-Oui, 2-Non	NA	NA	NA	
Transfusions sanguines reçues avant la greffe	Transfusion de globules rouges avant la greffe	Nominale	1-Oui, 2-Non	NA	La variable est codée Oui si le patient a reçu au moins une transfusion de globules rouges au cours des 2 mois qui ont précédé la greffe.	Au cours des 2 mois précédant la greffe
	Volume cumulé de globules rouges reçu avant la greffe	Continue		mL	Somme de tous les volumes de globules rouges reçus au cours des 2 mois qui ont précédé la greffe.	
	Transfusion de plaquettes avant la greffe	Nominale	1-Oui, 2-Non	NA	La variable est codée Oui si le patient a reçu au moins une transfusion de plaquettes au cours des 2 mois qui ont précédé la greffe.	
	Volume cumulé des plaquettes reçu avant la greffe	Continue		mL	Somme de tous les volumes des plaquettes reçus au cours des 2 mois qui ont précédé la greffe.	
	Transfusion de plasma avant la greffe	Nominale	1-Oui, 2-Non	NA	La variable est codée Oui si le patient a reçu au moins une transfusion de plasma au cours des 2 mois qui ont précédé la greffe.	
	Volume cumulé du plasma reçu avant la greffe	Continue		mL	Somme de tous les volumes de plasma reçus au cours des 2 mois qui ont précédé la greffe.	
Transfusions sanguines reçus dans la période post-greffe	Transfusion de globules rouges	Nominale	1-Oui, 2-Non	NA	NA	À tout moment (variables changeant dans le temps)
	Volume de globules rouges reçu	Continue		mL	NA	

Tableau 1 : Variables collectées dans l'étude TREASuRE

Rubrique	Variable	Échelle de mesure	Catégorie	Unité	Méthode de mesure/Calcul ou transformation	Fréquence de mesure
	Transfusion de plaquettes	Nominale	1-Oui, 2-Non	NA	NA	
	Volume des plaquettes reçu	Continue		mL	NA	
	Transfusion de plasma	Nominale	1-Oui, 2-Non	NA	NA	
	Volume de plasma reçu	Continue		mL	NA	
Suivi PCR VEB	Résultat du test PCR pour quantifier la charge virale du VEB	Nominale	1-Positif, 2-Négatif	NA	Les tests de charge virale du VEB ont été réalisés sur des échantillons du sang périphérique des patients par un test qPCR (commercial ou interne) choisi par chaque site de l'étude TREASuRE. Les détails sur le test utilisé par chaque site sont consignés dans l'article 2 (Table S1).	Les tests PCR ont été réalisés à périodicité d'une ou deux semaines pendant que les patients sont hospitalisés et au moins deux fois par mois après la sortie de l'hôpital, jusqu'au 12 ^{ème} mois.
	Charge virale du VEB	Continue		Copies/ml ou UI/ml		

ATG : Globuline antithymocyte; CsA : Cycloporine A; CV-VEB : charge virale du virus d'Epstein-Barr; EA : early antigens/antigènes précoces ; EBNA : EB nuclear antigens/antigènes nucléaires ; GvHD : Graft-versus-host disease; Gy : gray; HLA : antigènes leucocytaires humains; IgG : immunoglobuline G; MAC: conditionnement myéloablatif; mL : milliliter; MMF: mycophénolate mofétil; MTX: méthotrexate; NA: non applicable; PCR: réaction en chaîne par polymérase; qPCR : PCR quantitative; TREASuRE : Transfusion-related EBV Infection Among Allogeneic Stem Cell Transplant Pediatric Recipients; UI : unité internationale; VCA : viral capsid antigen /antigène de capsid virale ; VEB : virus d'Epstein-Barr.

2.3 Matériels et méthodes pour l'objectif 2 (Évaluer l'association entre les produits sanguins déleucocytés transfusés et l'infection à VEB chez les enfants ayant reçu une GCSH)

2.3.1 Rationnel de l'analyse de l'association entre la transfusion sanguine et l'infection VEB post-greffe

La Leucoréduction est un procédé efficace pour réduire le risque d'infection via les produits sanguins transfusés. Cependant, des études précédentes ont détecté à l'aide du test PCR, le VEB dans des poches de sang ayant subi ce processus de filtrage.^{63,66,67} Dans le contexte des GCSH, plusieurs facteurs peuvent augmenter la propension des patients à recevoir des transfusions de produits sanguins et par ricochet accroître leur vulnérabilité aux infections surtout dans un

environnement immunodépression. En effet, les patients qui reçoivent un régime de conditionnement myéloablatif traversent généralement une période de pancytopenie profonde (réduction des globules rouges, des plaquettes et des globules blancs) s'étendant sur des jours à des semaines en fonction de la source de la greffe.¹⁴⁶ La durée approximative de récupération des neutrophiles est de deux semaines pour des greffes du sang périphérique, trois semaines pour des greffes de moelle et quatre semaines pour les greffes de sang de cordon.¹⁴⁶ La restauration des neutrophiles, des monocytes et des cellules tueuses naturelles (NK) est suivie de la récupération des plaquettes et des globules rouges, qui est suivie de la récupération des cellules B et T.¹⁴⁶ Il en découle qu'avant la restauration du système immunitaire, la récupération des plaquettes et des globules rouges, les patients sont vulnérables aux infections et auraient par ailleurs besoin des transfusions sanguines. Les patients reçoivent donc souvent des transfusions de plaquettes comme prophylaxie contre les hémorragies après la chimiothérapie et la greffe de cellules souches.¹⁷⁹ Par ailleurs le diagnostic de la maladie peut également influencer la probabilité des patients à recevoir des transfusions sanguines, c'est le cas notamment des patients qui souffrent d'anémie aplasique sévère qui ont une propension élevée d'exposition à la transfusion.¹⁸⁰ D'autre part, certains médicaments entrant dans la prophylaxie contre la GvHD ont des effets secondaires hématologiques. Il s'agit notamment du MTX qui dans certaines situations, notamment administré en forte dose peut entraîner une thrombopénie.¹⁸¹ Cette chute du nombre de plaquettes dans la sang pourrait augmenter le risque d'hémorragie. Aussi, un autre effet secondaire potentiel du MTX est la suppression de la moelle osseuse.¹⁸² Soulignons que la moelle osseuse est essentielle à la fabrication des globules rouges et des plaquettes. De plus, le MTX peut retarder la prise de greffe hématopoïétique.^{183,184} D'autre part, l'utilisation de l'ATG dans le régime de conditionnement pourrait retarder la reconstitution hématologique, en particulier lorsque les fortes doses sont administrées.¹⁴¹ Dans le même ordre d'idées, des effets hématologiques (anémie, leucopénie, neutropénie et thrombocytopenie) peuvent potentiellement survenir à la suite de l'utilisation du MMF et en fonction notamment de la dose utilisée.^{183,185} Aussi, avec un échantillon de patients ayant reçu des GCSH de frères ou sœurs avec des HLA identiques, Neumann et al.¹⁸⁶ ont rapporté, une récupération plus rapide d'une semaine à la suite d'une cytopénie sévère chez les patients qui ont reçu l'association CsA + MMF comparativement aux patients qui ont reçu l'association CsA + MTX. D'autre part, l'étude Bolwell et al.¹⁸⁴ a mis en relief que la prise de greffe était plus rapide chez les patients qui ont eu la combinaison CsA + MMF comme prophylaxie contre la GvHD par

opposition à ceux qui ont reçu l'association CsA + MTX. Il découle ce qui précède que théoriquement la probabilité pour qu'un patient reçoive ou non une transfusion peut être influencée notamment par les facteurs suivants : le régime de conditionnement, la prophylaxie contre la GvHD et le diagnostic de la maladie. Ces facteurs ont également été mis en relief par des précédentes études comme étant associés à l'infection du VEB post-greffe.

En effet, pour ce qui est du **régime de conditionnement** c'est l'un des facteurs clés du succès de la greffe. Le choix de celui-ci n'est pas trivial car il dépend de plusieurs paramètres tels que l'âge du patient, la maladie à traiter, l'indice de risque de la maladie, de la source de la greffe, du type de donneur.^{84,146,148,160} Quelques études disponibles dans la littérature ont mis en relief une association statistiquement significative entre le régime de conditionnement et l'infection active du VEB post-greffe^{75,84,92,143} ainsi qu'avec le SLPT.^{4,39,84,94}

En ce qui concerne des **prophylaxies contre la GvHD**, dans l'étude TREASuRE les patients ont reçu des traitements composés des médicaments usuels suivants : CsA + MMF (27%), Tacrolimus + MTX (21%), CsA seul (17%), CsA + MTX (17%) et autres (18%). Dans le cas des greffes venant des donneurs alternatifs, l'ajout de l'ATG est souvent recommandé.^{116,120,148} L'Alemtuzumab est parfois utilisé comme alternative à l'ATG.^{116,122} Dans le cadre de l'étude TREASuRE, 61% (n=64) des patients qui ont reçu l'ATG et 74% (n=38) de ceux qui ont reçu l'Alemtuzumab ont bénéficié des greffes venant des donneurs alternatifs. Par ailleurs le diagnostic de la maladie^{86,119,148}, l'âge du patient¹¹⁹, et le régime de conditionnement^{120,148} sont également des variables qui peuvent influencer le choix de la prophylaxie contre la GvHD. En outre, l'indice de risque de la maladie devrait être intégré dans le processus de prise de la décision d'inclure l'ATG le traitement prophylactique contre la GvHD.¹³⁶ Tous ces médicaments pris individuellement, par leurs actions sur les lymphocytes T, devraient théoriquement être considérés comme des potentiels facteurs de risque de l'infection active du VEB post-greffe et du SLPT. En effet, la CsA et le Tacrolimus bloquent l'activation des lymphocytes T.^{122,187} Le MTX est un antimétabolite qui bloque la prolifération des lymphocytes T.^{122,182} Le MMF est un antimétabolite avec sélectivité pour les lymphocytes T et B ainsi que les monocytes.^{122,184,187} L'ATG est un anticorps contre les lymphocytes T humains^{122,187} et l'Alemtuzumab est un anticorps monoclonal humanisé qui épuise sélectivement les lymphocytes B et T exprimant CD52 en circulation.^{122,188,189} Cependant, il ressort de la littérature que parmi tous ces médicaments susmentionnés utilisés pour la prophylaxie contre la GvHD, l'ATG est celui qui semble le plus associé au risque d'infection active du VEB post-

greffe^{46,70,73,75,76,87,92,142} ainsi qu'à celui du SLPT.^{39,43,94,98} Il est toutefois important de préciser que comparativement à l'ATG, l'association entre les autres médicaments et l'infection active du VEB post-greffe ou avec le SLPT a été très peu explorée par les précédentes études.

Concernant le **diagnostic primaire du patient**, ce facteur a été exploré dans plusieurs précédentes études.^{49,53,74,78,82-84,86,106,155} dont quatre portaient singulièrement sur des patients pédiatriques.^{53,74,78,106} Le premier constat que nous avons dégagé est qu'il y a une grande variabilité dans la définition des catégories de la variable d'une étude à une autre. Cette situation pourrait se justifier en partie par le fait que les études dans ce domaine sont généralement réalisées avec des échantillons de petites tailles et pour éviter que la variable diagnostic de la maladie ait un fort déséquilibre entre les catégories, les regroupements sont souvent nécessaires. L'autre constat qui découle de la revue de la littérature est qu'il y a très peu d'associations statistiquement significatives qui ont été mises en exergue. Parmi celles-ci, en comparaison aux patients ayant la leucémie myéloïde aiguë, un risque plus élevé de l'infection active du VEB post-greffe a été montré chez ceux souffrant du lymphome hodgkinien et chez ceux atteints de la leucémie lymphoïde chronique.⁴⁹ Aussi, les patients qui sont atteints de la maladie Hodgkin seraient plus à risque de l'infection active du VEB post-greffe.⁸⁴ Dans la même veine, Burns et al.⁸³ ont relayé un risque moins élevé d'infection active du VEB chez les patients atteints de lymphome non hodgkinien par opposition à ceux souffrant de leucémie myéloïde aiguë/syndrome myélodysplasique. Les études qui ont mis en exergue les résultats significatifs susmentionnés ont été réalisées avec des échantillons composés de patients de tous les âges. Par ailleurs aucune association statistiquement significative entre le diagnostic primaire et le SLPT n'a été identifiée dans les études que nous avons consultées.^{4,78,84,97,98} En outre, bien que le diagnostic de la maladie semble très peu associé à l'infection active du VEB et au SLPT, la prise en compte de cette variable dans les analyses est pertinente non seulement pour consolider les résultats de la littérature mais aussi parce que plusieurs choix thérapeutiques dépendent du diagnostic primaire du patient. En effet, le choix du régime de conditionnement est influencé par le diagnostic de la maladie du patient. Le régime de conditionnement myéloablatif est généralement administré aux patients souffrant de maladies malignes et le régime de conditionnement à intensité réduite à ceux qui sont atteints de maladies non-malignes.^{84,148} Dans le cadre de l'étude TREASuRE 61% (n=69) des patients qui souffraient de maladies malignes ont reçu un régime de conditionnement myéloablatif contre 18% (n=87) parmi ceux qui étaient atteints de maladies non-malignes. Aussi, le processus du choix de la

prophylaxie contre la GvHD à donner aux patients intègre le diagnostic de la maladie comme paramètre.^{86,119,148}

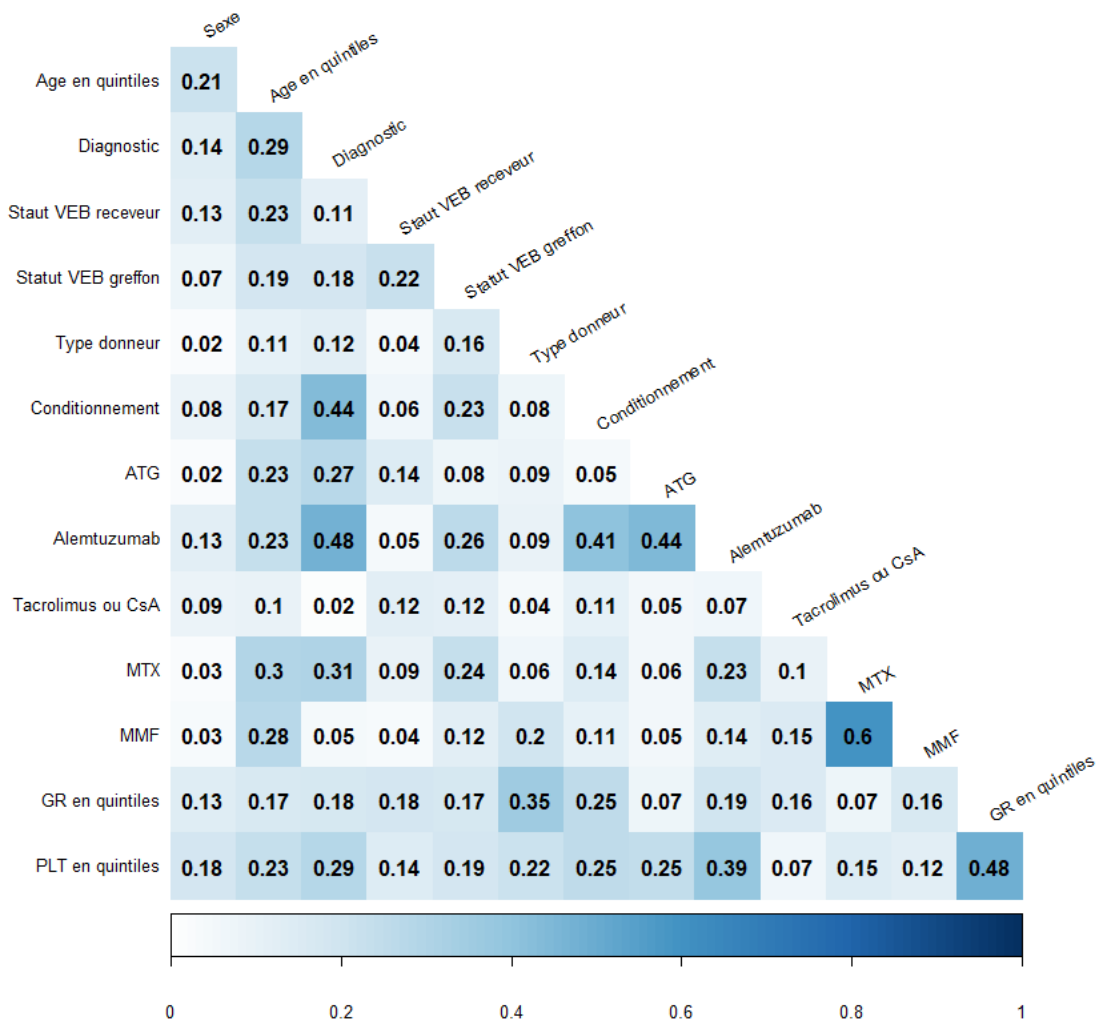
L'analyse ci-dessus a été complétée par l'estimation des corrélations bivariées entre toutes les variables disponibles en utilisant le coefficient V. Sa formule est la suivante :

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{n * (\text{minimum}(l-1, c-1))}} \quad \text{Avec } \chi^2 \text{ étant la statistique du Chi 2, } n \text{ la taille de l'échantillon}$$

l le nombre de lignes du tableau de contingence et c le nombre de colonnes. Pour effectuer les calculs avec les variables continues à savoir, l'âge du receveur de greffe et les totaux de volumes de globules rouges et des plaquettes qui ont été reçus par chaque patient durant tout le suivi post-greffe, celles-ci ont été catégorisées en quintiles. Le coefficient V s'interprète comme suit : de 0,0 à <0,1 association négligeable, de $\geq 0,1$ à <0,3 association faible, de $\geq 0,3$ à <0,5 association modérée et $\geq 0,5$ association forte.¹⁹⁰ Cependant compte tenu de la taille de l'échantillon, nous avons considéré que la corrélation était significative pour les valeurs de $V \geq 0,2$. Les résultats sont consignés dans la Figure 1.

Sur la base de toutes ces informations, deux graphes ont été construits avec DAGitty v3.0¹⁹¹ pour mettre en relief les relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre les produits sanguins transfusés et l'infection du VEB post-greffe.

Figure 1 : Corrélations bivariées entre les variables (Coefficient V de Cramer)



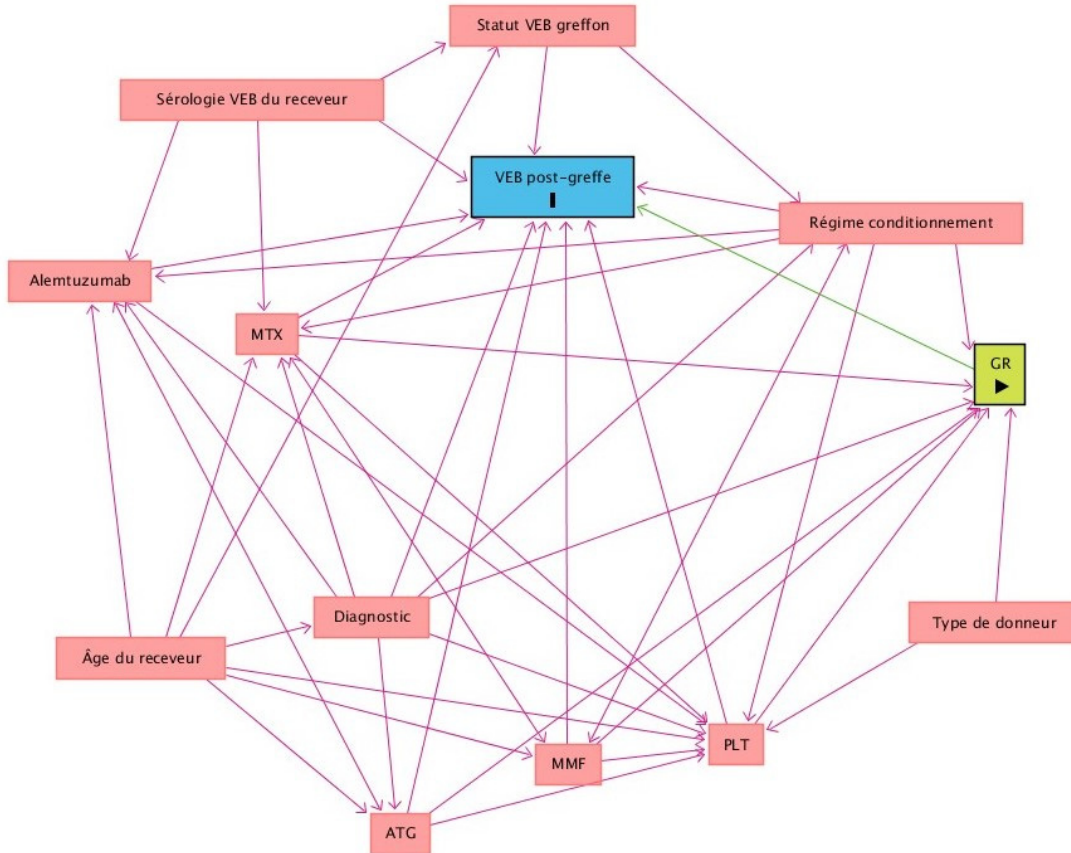
ATG : globuline antithymocyte; CsA : cyclosporine A; GR : globules rouge; MMF : mycophénolate mofétile; MTX : méthotrexate; PLT: Plaquettes; VEB : virus d’Epstein-Barr

2.3.2 Graphes des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l’analyse de l’association entre les produits sanguins transfusés et l’infection du VEB post-greffe.

Les deux graphes qui ont été élaborés ont permis d’identifier les variables qui peuvent potentiellement confondre l’association entre la réception des produits sanguins transfusés et l’infection du VEB post-greffe. Pour ce qui de l’analyse de l’association entre la transfusion des globules rouges et l’infection du VEB post-greffe, selon la Figure 2, les trois ensembles de variables qui peuvent potentiellement être utilisées pour contrôler la confusion sont indiqués ci-

après : [ATG, Alemtuzumab, Diagnostic, MMF, MTX, Plaquettes, Régime conditionnement, Statut VEB du greffon, Sérologie VEB du receveur], [ATG, Alemtuzumab, Diagnostic, MMF, MTX, Plaquettes, Régime conditionnement, Âge du receveur] et [ATG, Diagnostic, MMF, MTX, Plaquettes, Régime conditionnement, Type de donneur].

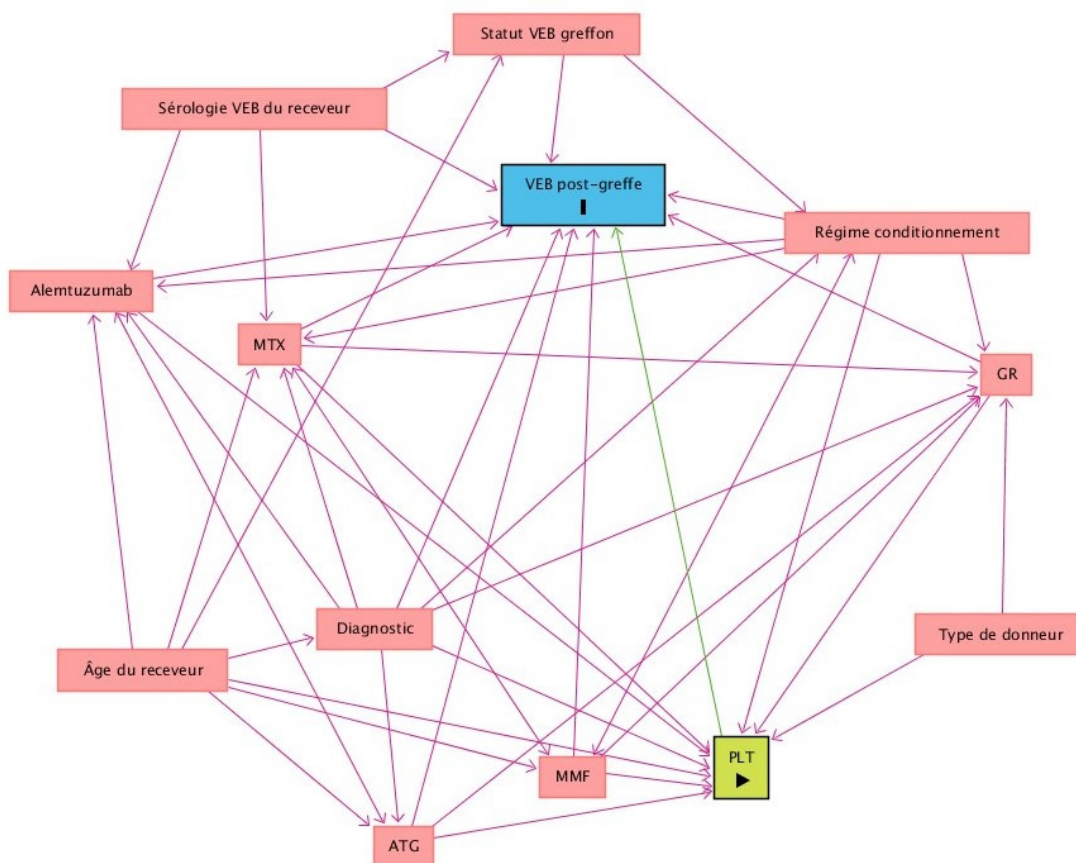
Figure 2 : Graphe des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre la transfusion des globules rouges et l'infection du VEB post-greffe



ATG: globuline antithymocyte; GR: globules rouges; PLT: plaquettes; MMF: mycophénolate mofétil; MTX: méthotrexate; VEB: virus d'Epstein-Barr

En ce qui concerne l'analyse de l'association entre la transfusion des plaquettes et l'infection du VEB post-greffe, il ressort de la Figure 3 que les ensembles de variables suivants peuvent être utilisés pour le contrôle de la confusion : [ATG, Alemtuzumab, Diagnostic, Globules rouges, MMF, MTX, Régime de conditionnement, Statut VEB du greffon, Sérologie VEB du receveur] et [ATG, Alemtuzumab, Diagnostic, GR, MMF, MTX, Régime conditionnement, Âge du receveur].

Figure 3 : Graphe des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre la transfusion des plaquettes et l'infection du VEB post-greffe



ATG: globuline antithymocyte; GR: globules rouges; PLT: plaquettes; MMF: mycophénolate mofétile; MTX: méthotrexate; VEB: virus d'Epstein-Barr

2.3.3 Variables de l'étude

Issue : l'évènement d'intérêt est la survenue d'une infection à VEB définie par au moins un test PCR positif. L'issue est le délai entre la date de transplantation et la survenue de cet évènement. La durée maximale du suivi d'un patient dans l'analyse a été de 6 mois post-greffe. Ainsi, les patients qui n'ont pas eu une infection à VEB ont été suivis à partir du jour où ils ont reçu la greffe jusqu'à la fin du 6^{ème} mois post-greffe ou à la date de leurs dernières nouvelles. Pour les patients ayant eu au moins un test PCR positif, le suivi a été arrêté à la date du 1^{er} test PCR positif. L'arrêt du suivi dû au décès du patient ou la fin de l'étude avant le 6^{ème} mois ont été considérés comme des évènements compétitifs. Aussi, les patients qui ont reçu une 2^{ème} greffe avant la survenue d'une

infection à VEB ont été censurés une semaine avant la date de la 2^{ème} greffe. Ce dernier évènement a également été considéré comme un évènement compétitif.

Variables d'exposition principales : Les variables d'exposition ci-après ont été analysées : transfusion de globules rouges (oui versus non) et transfusion de plaquettes (oui versus non). Ces variables binaires dont les valeurs peuvent changer au cours du suivi ont été codées "non" avant la première transfusion et "oui" après. Aussi, la somme cumulée des volumes de chaque produit sanguin transfusé reçus au cours du suivi a également été considérée et analysée comme variable continue changeant dans le temps après avoir été transformée en utilisant la racine carrée pour rendre leur distribution approximativement normale. La transfusion du plasma n'a pas été analysée car trop peu de patients ont reçu ce produit.

Variables de confusion : Nonobstant les graphes de relations qui ont été présentés plus haut, toutes les variables disponibles ont été explorées comme potentiel facteur de confusion. Celles-ci sont indiquées ci-après : le genre du receveur de greffe (féminin versus masculin), l'âge du receveur au moment de la greffe (continue), le diagnostic primaire (maladie maligne versus non maligne), la sérologie VEB pré-greffe du receveur de greffe (positive versus négative versus inconnue), la réception des globules rouges dans la période de 2 mois précédant la transplantation (oui versus non), la réception des plaquettes dans la période de 2 mois précédant la transplantation (oui versus non), le statut VEB de la greffon (positif versus négatif versus inconnu), le type de donneur (donneur alternatif versus donneur apparenté et apparié), le régime de conditionnement (myéloablatif versus autre) ainsi que les prophylaxies contre la GvHD ci-après : [anti-thymocyte globuline (ATG) (oui versus non), alemtuzumab (oui versus non), tacrolimus (FK506) ou cyclosporine A (CsA) (oui versus non), méthotrexate (MTX) (oui versus non) et mycophénolate mofétil (MMF) (oui versus non)].

2.3.4 Analyse statistique

2.3.4.1 Statistique descriptive et inférentielle

Les variables catégorielles ont été résumées en utilisant les fréquences absolues et les fréquences relatives, tandis que les variables continues ont été synthétisées à l'aide des statistiques de tendance centrale (moyenne, médiane) et de dispersion (écart-type, étendue, intervalle interquartile). Par ailleurs, en présence d'évènements compétitifs, la fonction d'incidence

cumulative (CIF) a été utilisée pour estimer l'incidence cumulée de l'infection à VEB post-transplantation. L'analyse a été stratifiée selon la sérologie VEB du receveur et du donneur de greffe. Le test de Gray¹⁹² a été utilisé pour comparer l'incidence cumulée du VEB en fonction de la sérologie VEB pré-greffe du receveur et / ou du statut VEB du greffon.

2.3.4.2 Modélisation statistique

Les rapports de risque et les intervalles de confiance à 95% des associations entre les variables d'exposition et l'infection à VEB ont été estimés en utilisant premièrement une extension du modèle de risque proportionnel de Cox permettant de prendre en compte des variables dont les valeurs changent au cours du temps.¹⁹³ L'équation générale du modèle utilisé est indiquée ci-après :

$h(t | E, X) = h_0(t)e^{[\gamma E + \sum_{i=1}^{p_1} \beta_i x_i + \sum_{j=p_2}^{q_1} \delta_j x_j(t)]}$. La fonction de risque $h(t)$ représente la probabilité qu'un évènement se réalise à un instant $t+\Delta t$ sachant qu'il ne s'est pas réalisé à l'instant t . Ainsi, si T représente le délai de survenue d'un évènement on a : $h(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P(t \leq T \leq t + \Delta t | T > t)}{\Delta t}$. En outre, $h_0(t)$

est la fonction de risque de base (fonction de risque lorsque toutes les variables sont fixées à zéro),¹⁹⁴ E la variable d'exposition principale, $(x_1 \dots x_{p_1})$ le vecteur des variables de confusion mesurées au Baseline et $(x_{p_2}(t) \dots x_{q_1}(t))$ le vecteur de variables de confusion dont les valeurs peuvent changer au cours du temps. Les coefficients de régression γ , β_i , δ_j sont à estimer à partir des données. Pour chaque exposition principale, la procédure qui a été mise en œuvre pour l'obtention du modèle final est indiquée ci-après. Le modèle initial incluait toutes les variables ayant une valeur de $p < 0,25$ en analyse univariée. Partant de ce modèle, la procédure de sélection "augmented backward elimination"(abe),¹⁹⁵ qui combine à la fois la sélection des variables en fonction du degré de signification et du critère de changement de la valeur des estimés de risque a été utilisée pour obtenir un modèle provisoire. De manière spécifique, une variable a été retenue dans le modèle provisoire soit parce que la p-value du test de nullité de l'estimé du rapport de risque était $\leq 0,2$, soit si la sortie de cette variable du modèle entraînait une modification d'au moins 10% des rapports de risque des autres variables considérées dans le modèle. Pour boucler la sélection des variables à inclure dans le modèle, toutes les variables ayant une valeur de $p \geq 0,25$ en analyse univariée ont été introduites une par une dans le modèle obtenu à l'étape précédente pour identifier celles qui en présence d'autres variables vérifiaient l'un des deux critères de sélection susmentionnés. Ainsi, en plus des principales variables d'exposition, les variables ci-après ont été retenues dans les différents modèles : la sérologie VEB pré-greffe du receveur de greffe (positive

versus négative versus inconnue), le statut VEB du greffon (positif versus négatif versus inconnu), le régime de conditionnement (myéloablatif versus autre) ainsi que les prophylaxies contre la GvHD suivantes : [globuline antithymocyte (ATG) (oui versus non), tacrolimus (FK506) ou cyclosporine A (CsA) (oui versus non) et mycophénolate mofétil (MMF) (oui versus non)]. De plus, l'étude étant multicentrique, la variable site de l'étude (site1 versus site2 versus site3 versus site4) a été considérée dans tous les modèles multivariés.

Pour pallier le potentiel biais de sélection dû à l'arrêt précoce du suivi (avant la date de censure administrative)¹⁹⁶⁻²⁰² dans l'estimation des différents modèles, les observations de chaque patient ont été pondérées par des poids stabilisés calculés en utilisant l'estimateur communément appelé "inverse-probability-of-censoring weights (IPCW)". La méthode d'estimation de ces poids est indiquée ci-après. Soit $D(t)$ une variable aléatoire qui prend la valeur 1 si le suivi du patient s'est arrêté au temps t et 0 sinon et $\bar{D}(t)$ un vecteur constitué de l'historique des valeurs de la variable $D(k)$, avec k allant de 0 à $t-1$. En considérant $\overline{GR}(k-1)$ et $\overline{PLT}(k-1)$ respectivement les historiques des transfusions de globules rouges et de plaquettes de chaque patient et V_0 le vecteur des covariables fixes composé des prédicteurs des fins de suivi précoce et des variables associés à l'issue. La formule ci-dessous a été utilisée pour calculer les poids stabilisés affectés à chaque individu (SW^\dagger).^{197,200,201,203} Les probabilités qui constituent le numérateur et le dénominateur dans cette formule ont été estimés en utilisant le modèle de risque proportionnel de Cox.^{201,203}

$$SW^\dagger(t) = \prod_{k=0}^t \frac{Pr\{D(k) = 0 | \bar{D}(k-1) = 0\}}{Pr\{D(k) = 0 | \bar{D}(k-1) = 0, \overline{GR}(k-1), \overline{PLT}(k-1), V_0\}}$$

Les termes $\bar{D}(-1)$, $\overline{GR}(-1)$ et $\overline{PLT}(-1)$ sont égaux à 0. Les variables qui ont été retenues dans le modèle de Cox de prédiction des sorties précoces du suivi ont été identifiées en utilisant l'approche de sélection « backward » avec $p\text{-value} < 0.2$ comme critère de rétention d'une variable dans le modèle. Les variables associées à l'issue sont celles qui ont été déterminées par la procédure de construction du modèle non pondéré décrite précédemment. En plus de celles-ci, les variables alemtuzumab (oui versus non) et méthotrexate (MTX) (oui versus non) retenues dans le modèle de prédiction des sorties précoces du suivi ont été considérées dans le vecteur V_0 . Pour éviter que des individus ayant des poids non stabilisés (W) très élevés aient une très forte contribution en termes d'observations dans la pseudo-population créée par la pondération, les poids stabilisés ont été utilisés.¹⁹⁸

$$W(t) = \prod_{k=0}^t \frac{1}{Pr\{D(k) = 0 | \bar{D}(k-1) = 0, \overline{GR}(k-1), \overline{PLT}(k-1), V_0\}}$$

Par ailleurs, les associations entre la réception d'une transfusion de globules rouges (oui versus non) ou la réception de plaquettes (oui versus non) et l'infection du VEB post-greffe ont également été examinées en utilisant un modèle marginal structurel de Cox.¹⁹⁶⁻²⁰¹ Le biais de confusion et le potentiel biais de sélection dû aux sorties précoces du suivi ont été contrôlés respectivement en utilisant l'inverse-of probability-of-treatment weighting (IPTW) et l'inverse-probability-of-censoring weights (IPCW).^{196,204-206} Étant donné que les intervalles de suivi des patients étaient irréguliers, le fichier de données a été restructuré en décomposant sous forme d'intervalles la durée totale de suivi de chaque patient en fonction d'un vecteur composé des valeurs uniques à la fois des temps d'évènement/censure et des temps de changement des valeurs des variables dépendantes du temps de tous les patients. La survenue de l'évènement d'intérêt a été enregistrée en fin d'intervalles et le changement des valeurs des variables d'exposition en début d'intervalles.^{201,203,207}

Les poids attribués à chaque patient pour le contrôle du biais de sélection ont été calculés selon la description faite précédemment. Par ailleurs, en considérant la réception de globules rouges (oui versus non) comme variable d'exposition principale, la formule ci-après a été utilisée pour calculer les poids stabilisés assignés à chaque patient en vue du contrôle du biais de confusion.

$$SW^\ddagger(t) = \prod_{k=0}^t \frac{Pr\{GR(k) = gr(k) | GR(k-1) = \overline{gr}(k-1), U_0\}}{Pr\{GR(k) = gr(k) | \overline{GR}(k-1) = \overline{gr}(k-1), \overline{PLT}(k) = \overline{plt}(k), U_0\}}$$

Dans la formule ci-dessus, $gr(k) = 1$ (respectivement $plt(k) = 1$) si le patient a reçu une transfusion de globules (respectivement de plaquettes) au temps k et 0 sinon. U_0 est le vecteur des covariables fixes composé des prédicteurs de l'exposition principale et des variables associées à l'issue. Le modèle de risque proportionnel de Cox a été utilisé pour calculer les probabilités qui constituent le numérateur et le dénominateur des poids.^{201,203} Le vecteur U_0 était composé des variables ci-après : la sérologie VEB pré-greffe du receveur (positive versus négative versus inconnue), le statut VEB du greffon (positif versus négatif versus inconnu), le régime de conditionnement (myéloablatif versus autre), les prophylaxies contre la GvHD suivantes : [globuline antithymocyte (ATG) (oui versus non), tacrolimus (FK506) ou cyclosporine A (CsA) (oui versus non) et mycophénolate mofétil (MMF) (oui versus non)] ainsi que les variables genre du receveur (féminin versus masculin), type de donneur (donneur alternatif versus donneur

apparenté et apparié), transfusion de plaquettes (oui versus non) post-transplantation et transfusion de globules rouges (oui versus non) dans la période de 2 mois précédant la transplantation. Une démarche similaire a permis de calculer les poids utilisés pour le contrôle de la confusion en considérant la réception des plaquettes comme principale variable d'exposition. Dans ce cas, le vecteur U_0 qui a été utilisé était composé des variables suivantes : la sérologie VEB pré-greffe du receveur (positive versus négative versus inconnue), le statut VEB du greffon (positif versus négatif versus inconnu), le régime de conditionnement (myéloablatif versus autre), les prophylaxies contre la GvHD suivantes : [globuline antithymocyte (ATG) (oui versus non), tacrolimus (FK506) ou cyclosporine A (CsA) (oui versus non) et mycophénolate mofétil (MMF) (oui versus non)] ainsi que les variables diagnostic primaire (maladie maligne versus non maligne), type de donneur (donneur alternatif versus donneur apparenté et apparié), transfusion de globules rouges (oui versus non) post-transplantation et transfusion de plaquettes (oui versus non) dans la période de 2 mois précédant la transplantation.

Le produit de SW^{\dagger} et SW^{\ddagger} a été utilisé pour pondérer les estimations finales des différents modèles. Tous les modèles pondérés ont été estimés en utilisant l'estimateur robuste de la variance.²⁰⁸ Pour les covariables fixes, l'hypothèse de risque proportionnel pour le modèle de Cox a été vérifiée à l'aide du test des résidus de Schönfeld²⁰⁹ et lorsque cette hypothèse n'était pas remplie pour une variable, un terme d'interaction entre cette variable et temps de survie/censure a été introduit dans le modèle. Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels Stata/SE 14.2 et R 3.6.1.

2.3.5 Génotypage VEB

Une surveillance étroite dans le cadre de l'étude a permis de détecter les infections avec le VEB chez les patients séronégatifs qui recevaient un greffon VEB négatif. En collaboration avec les Institutions de sang, les donneurs de sang pour ces patients ont été retracés afin de leur demander de fournir un échantillon de sang. Pour mettre en relief le lien entre les produits sanguins transfusés et l'infection du VEB post-greffe, Dre Carolina Alfieri et son équipe du CHUSJ de Montréal ont réalisé le génotypage du virus chez les patients et les donneurs de sang. De manière concrète, 15 à 20 ml de sang périphérique provenant des donneurs de sang et 2 ml du patient infectés ont été séparés par centrifugation de densité sur des gradients Ficoll-hypaques. La fraction cellulaire mononucléaire a été récoltée, lavée et cultivée en présence de cyclosporine pour permettre la

croissance des cellules positives pour le VEB. L'ADN viral dans les cellules lymphoblastoïdes a ensuite été extrait, suivi d'une amplification par PCR en utilisant des amorces des régions codantes EBNA-3b²¹⁰ et LMP-1²¹¹ du génome VEB, qui sont connues pour être polymorphes parmi les différentes souches VEB. Alternativement, la fraction de cellules mononucléaires récoltée à partir des donneurs de sang a été cultivée pendant 5 jours en présence de butyrate de sodium 1 mM pour stimuler la réactivation du VEB, suivie par une extraction d'ADN et une amplification par PCR en utilisant les mêmes amorces susmentionnées. Le séquençage de Sanger a été effectué à l'Institut de recherche en immunologie et oncologie (Montréal, Canada) à l'aide du séquenceur ABI modèle 3730.

2.4 Matériels et méthodes pour l'objectif 3 (Déterminer les facteurs de risque de l'infection active du VEB post-greffe et du SLPT chez les enfants ayant reçu une GCSH)

2.4.1 Rationnel de l'analyse des facteurs de risque des événements liés au VEB post-greffe

Les informations disponibles dans la littérature nous ont permis de justifier les associations théoriques probables entre la majorité des potentiels facteurs de risque que nous avons considérés. Les associations potentielles concernant les variables relatives au régime de conditionnement, à la prophylaxie contre la GvHD et au diagnostic primaire ont été présentées au point 2.3.1. Ci-dessous nous complétons la liste avec les autres variables à savoir : âge du receveur au moment de la greffe, sexe du receveur, sérologie VEB du receveur, statut VEB du greffon et type de donneur.

Âge du receveur au moment de la greffe : L'âge est un paramètre qui est susceptible d'influencer plusieurs décisions thérapeutiques. Dans le contexte des GCSH, l'âge peut être un déterminant du choix du régime de conditionnement^{84,160} ainsi que celui de la prophylaxie contre la GvHD.¹¹⁹ La restauration immunitaire par reconstitution des cellules T après la greffe peut varier selon l'âge.⁹⁹ Par ailleurs, bien que le risque de primo-infection du VEB augmente avec l'âge, une seule association statistiquement significative entre l'âge du receveur et l'infection active du VEB post-greffe a été trouvée⁸² parmi toutes les études l'ayant exploré.^{32,49,70,73,75,79,82-84,86,88,90,92,104,106,143} De même sur toutes les études qui ont analysé l'association entre l'âge du receveur et le SLPT^{4,39,43,84,94-98,166}, une seule étude en mis en exergue un lien statistiquement significative.⁴³ Il

est important de préciser que la reproductibilité des résultats est difficile à apprécier car il y a beaucoup de disparités dans la définition des catégories de la variable âge.

Sexe du receveur : Aucune association statistiquement significative n'a été mise en relief par les études, portant sur des patients pédiatriques, que nous avons explorées.^{74,75,79,106} Parmi ces études, soulignons toutefois que Elmahdi et al.⁷⁹ (n=37) ont rapporté que les patients de sexe masculin avaient un risque moins élevé, mais non statistiquement significatif, d'avoir une charge virale sanguine du VEB >1 x 10^{2.5} copies/μg ADN de cellules mononucléées du sang périphérique ou une charge virale du VEB >20000 copies/mL dans le sang total (HR brute=0,70 [95% CI : 0,27-1,84]). Dans le même ordre d'idées, malgré un résultat non statistiquement significatif, l'étude Kullberg-Lindh et al.⁷⁵ (n=47) a révélé, au moyen d'une régression linéaire univariée, qu'en moyenne la charge virale maximum du VEB était moins élevée chez les patients de sexe masculin (Coefficient beta=-0,08, p=0.86). En outre, sans présenter les estimés d'effet, des résultats univariés non statistiquement significatifs rapportés dans les deux autres études portant uniquement sur des patients pédiatriques, Cesaro et al.¹⁰⁶ (n=89; p=0,8), et Chiereghin et al.⁷⁴ (n=28; p=0,19). L'association entre le sexe du receveur et le SLPT n'a pas été explorée par des études restreintes aux patients pédiatriques recevant des GCSH. Par ailleurs, parmi toutes les études portant singulièrement sur des patients adultes^{32,71,73,109} ou réalisées avec des échantillons composés des patients de tous les âges^{69,70,82-84,86,88,90,92,105,155}, aucun lien statistiquement significatif n'a été mis en lumière. Signalons toutefois que l'étude de Jaskula et al.⁸⁸ a indiqué une propension plus élevée, significative au seuil de décision de 10%, des patients de sexe féminin à développer une infection active du VEB post-greffe (n=102; OR=2.48; p=0.070). D'autre part, en ce qui concerne l'association entre le sexe du receveur et le SLPT, aucun lien statistiquement significatif n'a été trouvé dans les études portant sur les patients de tous les âges^{4,39,84,94,95,97} ou seulement sur les patients adultes.⁹⁸ La direction des associations entre le sexe du receveur et l'infection active du VEB post-greffe d'une part et avec le SLPT d'autre part demeure difficile à établir à date car les estimés de risque ont été rapportés dans très peu d'études.^{79,83,86,88,95,97} Malgré l'absence d'éléments théoriques bien établis qui justifieraient l'existence d'un lien significatif entre le sexe du receveur et l'infection active du VEB post-greffe ou avec le SLPT, nous avons opté d'explorer cette association dans le cadre de cette étude pour rapporter l'estimé d'effet afin de contribuer à l'appréciation de la reproductibilité des résultats. Il est notamment question de vérifier si les

données de l'étude TREASuRE corroborent la présence d'un risque d'infection active du VEB post-greffe potentiellement plus élevé chez les patients de sexe féminin comme le suggèrent les résultats de quelques études réalisées avec des échantillons de tailles relativement petites.

Sérologie VEB du receveur et le statut VEB du greffon : Le VEB latent dans les cellules B d'un patient peut se réactiver notamment en cas de baisse du niveau immunitaire.²⁴ Cependant, toutes les études qui ont exploré l'association entre ce facteur et l'infection du VEB post-greffe ou avec le SLPT n'ont pas trouvé des associations statistiquement significatives.^{69,74,77,84,90,106} Ces résultats pourraient être dus à un défaut de puissance statistique car non seulement les échantillons sont généralement de petites tailles mais aussi le VEB étant un virus avec une forte prévalence, il y aurait relativement peu de patients séronégatifs parmi les receveurs de greffes et encore moins lorsque les adultes figurent dans l'échantillon. La prévalence du VEB est variable selon l'âge.^{10,12,13} Par ailleurs, comme chaque patient qui reçoit une greffe passe par une phase d'immunodépression, ceux qui ont une sérologie du VEB positive sont potentiellement plus exposés à un risque de réactivation du virus. Aucune prophylaxie antivirale n'a montré son efficacité pour prévenir l'infection du VEB post-greffe.^{212,213} Pour ce qui est du statut VEB du greffon, il s'agit d'un paramètre important à prendre en compte. En effet, un greffon infecté par le VEB peut être un véhicule de transmission du virus pour le receveur.^{35,214} Une telle transmission peut être assez problématique si le patient était séronégatif avant la greffe car une primo-infection post-greffe est un facteur de risque important du SLPT.⁷ En guise d'illustration, Larberko et al.⁸⁶ ont mis en relief un risque d'infection active du VEB post-greffe plus élevé chez les receveurs séronégatifs (R-) qui ont reçu un greffon avec un statut VEB positif (D+) comparativement aux receveurs séropositifs (R+) qui ont reçu un greffon avec un statut VEB positif (D+). Dans le même ordre d'idées, Uhlin et al.⁴ ont rapporté une augmentation du risque de SLPT chez les patients du groupe D+/R- par opposition aux autres patients. Ainsi, la sérologie VEB du receveur pourrait influencer le choix du greffon.

Type de donneur : Pour maximiser les chances de succès de la greffe et limiter la morbidité et la mortalité post-greffe, l'idéal serait de trouver un donneur apparenté au receveur et les deux ayant des HLA compatibles. Cependant, il n'est pas toujours possible de trouver un tel donneur. Pour permettre à plus de patients de bénéficier du traitement de leur maladie par la greffe, les centres de

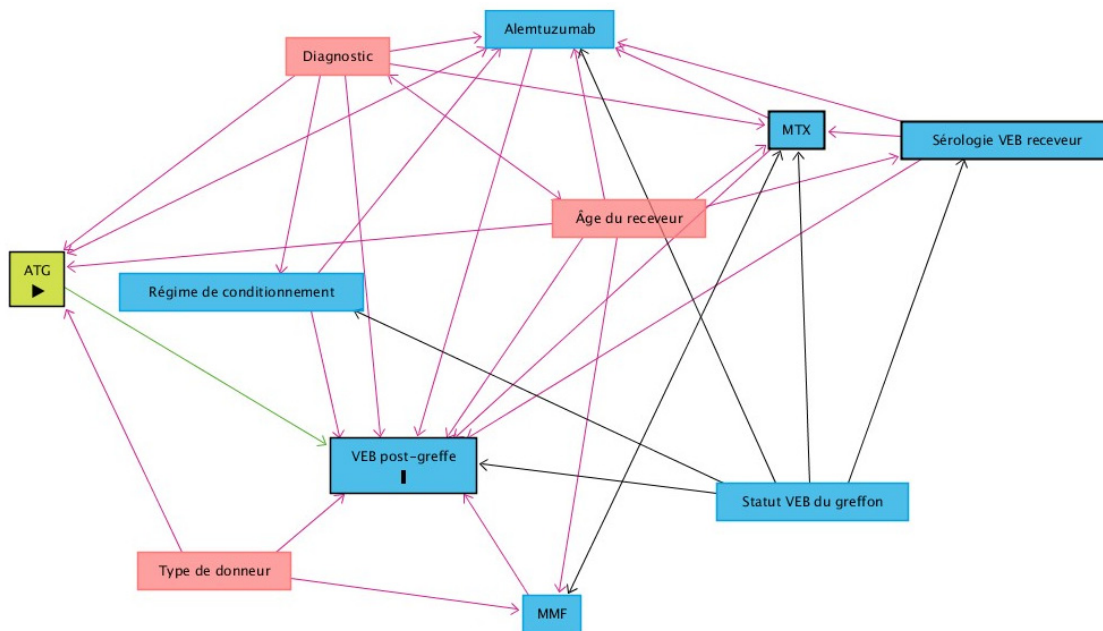
greffe leur proposent des greffes venant des donneurs alternatifs (non apparentés et/ou non appariés).¹⁴⁶ L'on observe ces dernières années une augmentation du nombre de greffes de donneurs alternatifs.¹¹⁷ Le revers de la médaille étant que celles-ci seraient associées à plusieurs complications parmi lesquelles l'infection active du VEB et le SLPT. Plusieurs études ont rapporté une augmentation du risque de l'infection active du VEB post-greffe^{89,90,149-152} ou du SLPT^{4,162} chez les patients qui ont reçu une greffe venant d'un donneur alternatif. Ces complications sont généralement le corollaire des choix thérapeutiques effectués pour optimiser le succès de la greffe. En effet, le type de donneur est un déterminant du choix de la prophylaxie contre la GvHD.⁸⁶ Chez les patients qui reçoivent des greffes venant de donneurs alternatifs, il est recommandé d'utiliser l'ATG qui est un immunosuppresseur efficace pour prévenir la GvHD, mais cette prophylaxie augmente le risque d'infection active du VEB post-greffe et du SLPT d'après la littérature.

Sur la base des informations ci-dessus présentées et ceux consignées au point 2.3.1, sans nuire à la généralité, nous avons élaboré les graphes des relations entre les variables pour l'étude des associations entre l'ATG, le MMF et les issues considérées dans l'étude.

2.4.2 Graphes des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre les variables ATG, MMF et les issues considérées.

Pour ce qui de l'analyse de l'association entre l'utilisation de l'ATG et les issues de l'étude, d'après la Figure 4, la confusion pourrait être contrôlée en prenant en compte dans le modèle les variables ci-après : Alemtuzumab, Diagnostic, MTX, Régime de conditionnement, Statut VEB du greffon, Sérologie VEB du receveur, Type de donneur, Âge du receveur.

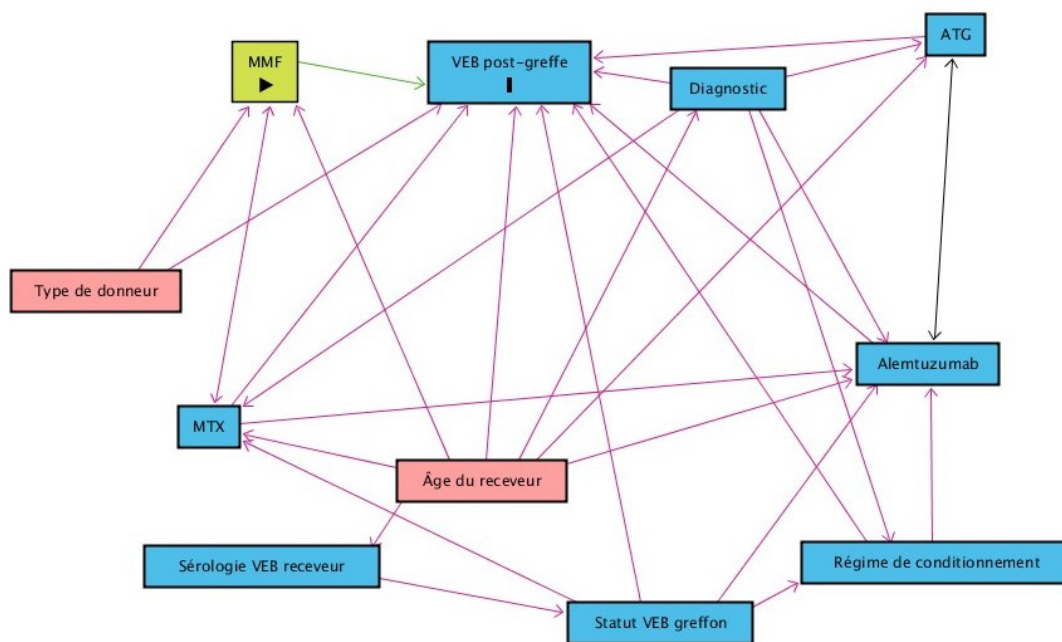
Figure 4 : Graphe des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l’analyse de l’association entre l’utilisation de l’ATG et les issues de l’étude



ATG: globuline antithymocyte; MMF: mycophénolate mofétil; MTX: méthotrexate; VEB: virus d’Epstein-Barr

En ce qui concerne le MMF, il découle de la Figure 5 que, dans l’analyse de l’association entre ce facteur et les issues de l’étude, le contrôle de la confusion pourrait se faire en considérant les variables suivantes dans les modèles. Diagnostic, MTX, Statut VEB du greffon, Type de donneur, Âge du receveur.

Figure 5 : Graphe des relations potentielles entre les variables dans le cadre de l'analyse de l'association entre l'utilisation du MMF et les issues de l'étude



ATG: anti-thymocyte globuline; MMF: mycophénolate mofétil; MTX: méthotrexate; VEB: virus d'Epstein-Barr

2.4.3 Variables de l'étude

Issues : Trois événements d'intérêt ont été considérés : 1) ADNémie VEB définie par au moins un test PCR VEB positif, 2) ADNémie VEB aiguë matérialisée par au moins deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2^{ème} d'au moins $0,5 \log_{10}$ et 3) SLPT diagnostiqué par les médecins traitants sur la base de critères cliniques ou défini par un traitement préventif au rituximab. Nous avons également analysé la récurrence de l'ADNémie VEB post-transplantation définie par un test PCR VEB positif après au moins deux tests consécutifs négatifs. La définition de la récurrence de l'ADNémie VEB que nous avons retenue est similaire celles qui ont été proposées dans des précédentes études.^{70,86}

Variables de l'étude : Chacune des variables ci-après énumérées a été considérée comme variable d'intérêt pendant que les autres variables étaient explorées comme des potentiels facteurs de confusion. Il s'agit de : sexe du receveur (féminin versus masculin), âge du receveur à la transplantation (continue), diagnostic primaire (maladie maligne versus maladie non maligne),

sérologie VEB pré-transplantation du receveur (positive versus négative), le statut VEB du greffon (positif versus négatif), type de donneur (donneur alternatif versus donneur apparié et apparenté), régime de conditionnement (myéloablatif versus autre), ATG (oui versus non), de alemtuzumab (oui versus non), FK506 versus CsA , MTX (oui versus non) et MMF (oui versus non).

2.4.4 Analyse statistique

2.4.4.1 Statistique descriptive et inférentielle

Les variables catégorielles ont été résumées à l'aide des fréquences absolues et des fréquences relatives (en %), tandis que les variables continues ont été synthétisées en utilisant les statistiques de tendance centrale (moyenne, médiane) et de dispersion (écart-type (ET), intervalle interquartile (IIQ)).

Par ailleurs, pour les analyses de survie, la date de la transplantation a été définie comme temps zéro pour tous les patients et la fin du 12^{ème} mois post-transplantation a été considérée comme date de censure administrative. Le suivi des patients ayant eu au moins un événement d'intérêt a été arrêté à la date du 1^{er} événement lorsque l'analyse ne portait que sur la première occurrence du phénomène étudié, alors qu'il couvrait toute la période d'observation pour l'analyse de la récurrence de l'ADNémie VEB. Un décès survenu avant le 6^{ème} mois post-transplantation a été considéré comme un événement compétitif (censure non administrative). De même, l'arrêt du suivi parce que le patient a reçu une 2^{ème} greffe ou en raison de la fin de l'étude avant le 6^{ème} mois a été considéré comme un événement compétitif. Les patients recevant une 2^{ème} greffe ont été censurés une semaine avant la réception celle-ci. En présence d'événements compétitifs, la fonction d'incidence cumulative (CIF)¹⁹² a été utilisée pour calculer l'incidence cumulée de l'ADNémie VEB post-transplantation.

2.4.4.2 Traitement des données manquantes

Parmi toutes les variables susmentionnées, les deux variables avec données manquantes sont : la sérologie VEB du receveur (n=13, 8,3%) et le statut VEB du greffon (n=31, 19,9%). En combinant ces deux variables, 119 patients avaient des données complètes tandis que 24 patients avaient des données manquantes uniquement pour le statut VEB du greffon, 6 patients avaient les données manquantes pour la sérologie VEB pré-transplantation du receveur et enfin 7 patients avaient les données manquantes pour les deux variables. La présence de ces données manquantes

est susceptible de créer un biais de sélection²¹⁵⁻²¹⁸ si celles-ci ne sont pas manquantes complètement au hasard [missing completely at random (MCAR)], c'est-à-dire que les données manquantes ne dépendent ni des variables observées ni des variables non observées.²¹⁹ Un modèle logistique ayant pour variable dépendante $Y=1$ si la sérologie VEB du receveur ou le statut VEB du greffon sont inconnus et 0 sinon et pour potentiels prédicteurs l'ensemble des variables considérées dans les analyses décrites plus haut a permis de constater que l'hypothèse MCAR n'était pas vérifiée. En effet, l'estimation du modèle logistique susévoqué en utilisant l'approche de sélection backward ou forward a permis d'identifier les variables type de donneur (donneur alternatif versus donneur apparié et apparenté) et MTX (oui versus non) comme étant associées aux données manquantes. Ainsi, en postulant que les données sont manquantes au hasard [(missing at random (MAR)], c'est-à-dire que les observations manquantes ne dépendent que des variables observées,²¹⁹ le remplacement de celles-ci a été réalisé en utilisant une méthode d'imputation non paramétrique.^{220,221} Étant donné que le nombre total des variables explorées était inférieur à 15, elles ont été toutes considérées pour l'imputation des données manquantes.²²²

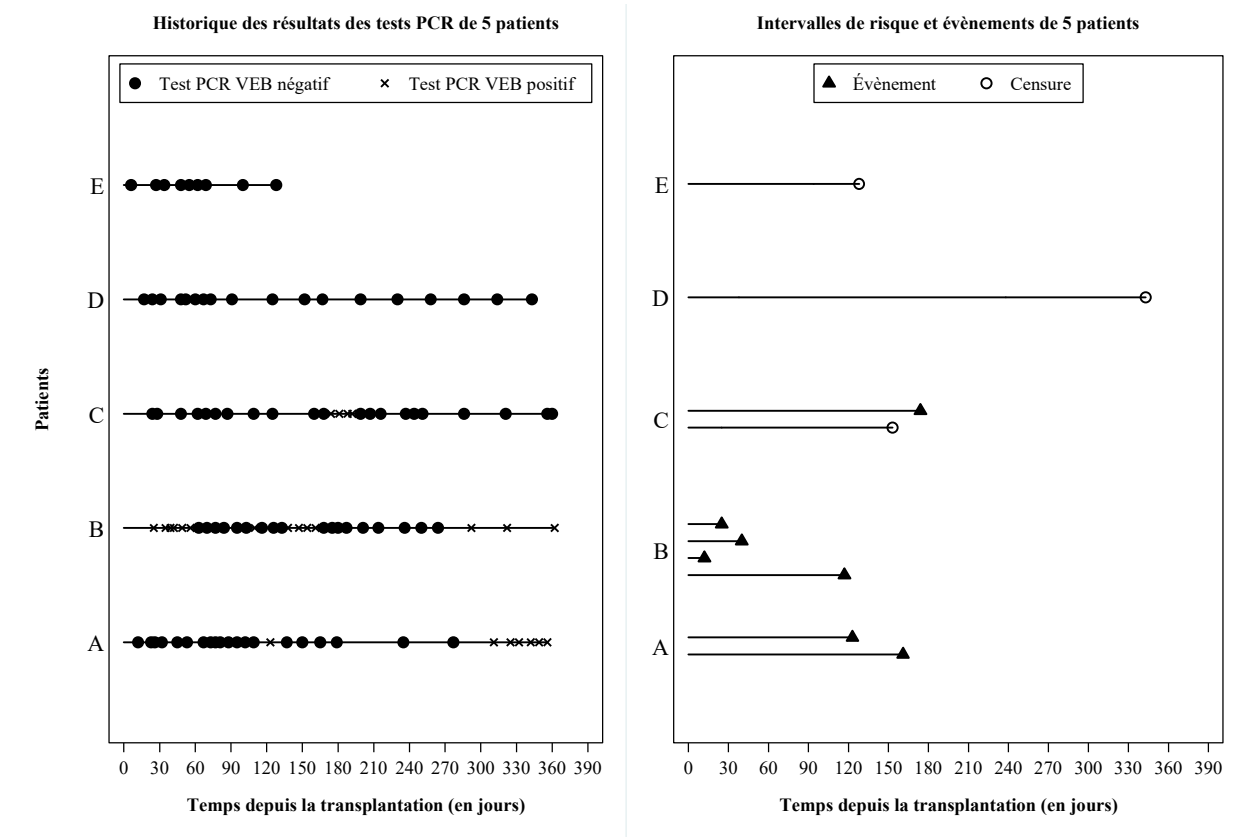
2.4.4.3 Modélisation statistique

Le modèle de risque proportionnel de Cox²²³ a été utilisé pour estimer les rapports de risque et les intervalles de confiance à 95% pour le délai entre le temps zéro et la première occurrence de l'ADNémie VEB, de l'ADNémie VEB aiguë et du SLPT. L'équation général du modèle utilisé est indiquée ci-après : $h(t | E, X) = h_0(t)e^{(\gamma E + \sum_{i=1}^p \beta_i x_i)}$ où $h_0(t)$ est la fonction de risque de base inconnue, E la variable d'exposition principale et $(x_1 \dots x_p)$ le vecteur des variables de confusion. Les coefficients de régression γ , β_i sont à estimer à partir des données.

Pour l'analyse des événements récurrents, les rapports de risque et les intervalles de confiance à 95% ont été estimés en utilisant le modèle de Prentice-Williams-Petersen en considérant l'échelle de temps par intervalles (gap time) (PWP-GT). Ce modèle est une extension du modèle de risque proportionnel de Cox permettant de modéliser les événements récurrents ordonnés.^{193,224-226} L'hypothèse générale du modèle de PWP est qu'un individu n'est pas à risque d'un 2^{ème} évènement (2^{ème} épisode d'ADNémie VEB) tant que le 1^{er} évènement est en cours et ainsi de suite.^{193,224-226} L'un des corolaires de cette hypothèse est que temps de survenue l'évènement $k+1$ est estimé à partir du temps de survenue de l'évènement k . Aussi, avec l'échelle de temps par intervalles, le temps n'est pas mesuré de façon continue depuis le début du suivi, mais il est

réinitialisé à zéro après chaque évènement. Ceci traduit en quelque sorte un "renouvellement" de l'individu après chaque évènement.²²⁷ Sans nuire à la généralité, les intervalles de risque pour un patient ayant eu trois épisodes d'ADNémie VEB respectivement aux temps t_1 , t_2 et t_3 sont définis comme ci-après : $(0 ; t_1]$, $(0 ; t_2 - (t_1 + \delta_1)]$, $(0 ; t_3 - (t_2 + \delta_2)]$ et $(0 ; T - (t_3 + \delta_3)]$, avec δ_1 , δ_2 et δ_3 respectivement la durée du 1^{er}, du 2^{ème} et du 3^{ème} épisode d'ADNémie VEB et T le temps total de suivi. Dans le même ordre d'idées, la Figure 6 illustre la définition des évènements récurrents et des intervalles de risque à partir de l'historique des tests PCR de 5 patients.

Figure 6 : Historique des résultats des tests PCR et intervalles de risque de 5 patients définis en utilisant l'échelle de temps par intervalles



La forme générale de l'équation modèle qui a été utilisée est la suivante : $h_k(t | E, X) = h_{0k}(t)e^{(\gamma E + \sum_{i=1}^p \beta_i x_i)}$ où $h_{0k}(t)$ est la fonction de risque de base inconnue pour le k^{ème} épisode d'ADNémie. Pour prendre en compte la corrélation entre les observations d'un même patient, l'estimateur robuste de la variance a été utilisé.^{193,224-226}

Pour chaque issue, des modèles multivariés ont été construits pour chaque variable considérée comme la variable d'intérêt, les autres variables étant explorées comme potentiels facteurs de confusion. La sélection des variables pour le modèle final a été effectuée de manière itérative. En effet, partant d'un modèle contenant uniquement la variable d'intérêt, les potentielles variables de confusion ont été ajoutées de manière consécutive dans le modèle et celles dont la prise en compte dans le modèle modifiait d'au moins 10% le rapport de risque de la variable d'intérêt ont été retenues. En outre, compte tenu du caractère multicentrique de l'étude, tous les modèles ont été ajustés pour la variable "Site de l'étude" à l'exception ceux relatifs à l'issue SLPT en raison du faible nombre de cas dans certains centres. L'hypothèse de risque proportionnel pour le modèle de Cox a été vérifiée à l'aide des tests résiduels de Schönfeld.^{193,209} Lorsque cette hypothèse n'était pas vérifiée pour la variable d'intérêt, l'interprétation du rapport de risque lorsqu'il était statistiquement significatif a été fait en termes d'effet moyen sur la période d'observation.²²⁸ Pour évaluer si le principal facteur de risque exploré était affecté par un problème de multi-colinéarité, le facteur d'inflation de la variance (VIF)²²⁹⁻²³⁵ a été utilisé. En nous appuyant sur les recommandations courantes, nous avons considéré $VIF > 5$ comme un signe important de multi-colinéarité. Dans ce cas, la ou les variable(s) mise(s) en cause a (ont) été exclue(s) du modèle. Tous les modèles ont été estimés pour l'ensemble de la cohorte et pour la sous-cohorte de patients qui étaient séropositifs au VEB au temps zéro. Le seuil de signification de 5% a été utilisé et tous les tests statistiques étaient bilatéraux. L'analyse statistique a été réalisée avec les logiciels Stata/SE 14.2 et R version 3.6.1.

2.4.5 Analyses complémentaires

Les méthodes statistiques ci-dessus décrites ont été utilisées pour obtenir les résultats consignés dans le manuscrit du troisième article qui est présenté au chapitre 3. D'autres analyses ont été réalisées pour produire des résultats complémentaires. Ceux-ci ont été rapportés au chapitre 4. Il s'agit en l'occurrence de l'analyse de l'association entre l'ATG, le MMF et les événements VEB à l'aide du modèle de Cox couplé à la méthode des scores de propension communément appelée « Inverse probability of weighting (IPW) »^{205,208}, de l'utilisation des modèles de risque additif^{225,236-238} notamment pour pallier le non-respect de l'hypothèse de risque proportionnel fondamentale pour le modèle de Cox; de l'utilisation de la régression logistique²³⁹ et du modèle de Fine et Gray^{225,240-242} pour examiner les facteurs de risque des événements VEB post-greffe; de l'utilisation du modèle d'Andersen-Gill et du modèle de Prentice-Williams-Petersen (PWP) en

considérant le processus de comptage comme échelle de temps^{193,224-226,243} pour explorer les facteurs de risque de la récurrence d'ADNémie VEB et de l'utilisation de l'imputation multiple pour le traitement des données manquantes. Les analyses complémentaires susmentionnées sont décrites ci-dessous.

2.4.5.1 Modèle de Cox combiné avec l'estimateur IPW (IPW-Cox)

Pour les variables d'exposition ATG et MMF, nous avons également évalué leur association avec les événements VEB post-greffe en utilisant le modèle IPW-Cox. Cette approche permet de contrôler le biais de confusion en pondérant les observations d'un individu par l'inverse de la probabilité de recevoir le traitement effectivement reçu.^{196,205,206} Les dénominateurs des poids ont été calculés à l'aide d'un modèle de régression logistique multivariée. Toutes les variables retenues dans les modèles multivariés présentés au chapitre 3 ont été prises en compte dans le modèle initial de calcul des scores de propension. Ensuite, d'autres variables contribuant à améliorer l'équilibre des covariables entre les groupes comparés ont été considérées dans les modèles de régression logistique définitifs. Pour réduire la contribution des individus qui auraient des poids élevés, nous avons opté pour l'utilisation des poids stabilisés (sIPW). La régression logistique univariée a été utilisée pour calculer le numérateur des poids. Les distributions des potentielles variables de confusion ont été comparées dans l'échantillon de l'étude et dans la pseudo-population créée à partir des poids en utilisant la différence des moyennes standardisées (DMS).²⁴⁴ Pour une variable continue X, la DMS est calculée par la formule suivante : $DMS = 100 * \frac{(\hat{x}_1 - \hat{x}_2)}{\sqrt{\frac{s_1^2 + s_2^2}{2}}}$, avec \hat{x}_1 et s_1^2

respectivement la moyenne et la variance de la variable X dans le groupe 1, et \hat{x}_2 et s_2^2 respectivement la moyenne et la variance de la variable X dans le groupe 2. Le calcul est fait de manière similaire dans l'échantillon pondéré. Pour une variable dichotomique Y, la formule utilisée est la suivante : $DMS = 100 * \frac{(\hat{p}_1 - \hat{p}_2)}{\sqrt{\frac{\hat{p}_1 * (1 - \hat{p}_1) + \hat{p}_2 * (1 - \hat{p}_2)}{2}}}$, avec \hat{p}_1 et \hat{p}_2 respectivement les proportions de

la variable Y dans les groupes 1 et 2, dans l'échantillon original ou dans l'échantillon pondéré. Le déséquilibre entre les groupes est considéré comme négligeable si la valeur absolue de DMS $\leq 10\%$.^{244,245} Toutes les variables avec une valeur absolue de DMS $> 10\%$ ont été incluses dans le modèle d'estimation de l'effet de la covariable d'intérêt sur l'issue (Leite, p.55).²⁴⁶

2.4.5.2 Modèle semi-paramétrique de risque additif

Nous avons utilisé le modèle proposé par McKeague et Sasieni²⁴⁷ comme alternative notamment pour pallier le non-respect de l'hypothèse de risque proportionnel fondamentale pour le modèle de Cox. L'équation linéaire de ce modèle est indiquée ci-contre : $\lambda_i(t) = Y_i(t)[\beta_0(t) + \beta_1(t)X_{1i}(t) + \dots + \beta_p(t)X_{pi}(t) + \gamma_1 Z_{1i}(t) + \dots + \gamma_q Z_{qi}(t)]$. Dans cette formule, $\lambda_i(t)$ représente le taux de risque de l'individu i au temps t , $Y_i(t)$ est l'indicatrice de risque qui prend la valeur 1 si l'individu est à risque au temps t et 0 sinon, $(X_{1i}(t), \dots, X_{pi}(t))$ est le vecteur des variables dont l'effet sur la fonction de risque varie au cours du temps, $(Z_{1i}(t), \dots, Z_{qi}(t))$ est le vecteur des variables dont l'effet sur la fonction de risque est invariant au cours du temps, $\beta_0(t)$ est la fonction de risque de base, $(\beta_1(t), \dots, \beta_p(t))$ est le vecteur des accroissements du risque au temps t pour un accroissement d'une unité des variables $(X_{1i}(t), \dots, X_{pi}(t))$ et $(\gamma_1, \dots, \gamma_q)$ représente le vecteur des coefficients des variables $(Z_{1i}(t), \dots, Z_{qi}(t))$. Les fonctions de régression cumulées, $B_p(t) = \int_0^t \beta_p(u) du$, et leurs intervalles de confiance point-par-point à 95% ainsi que les coefficients γ_q et leurs intervalles/p-value ont été utilisés pour l'interprétation des résultats. L'estimation de chaque modèle semi-paramétrique de risque additif a été précédée par l'estimation d'un modèle non-paramétrique de risque additif d'Aalen²³⁷ pour identifier les variables ayant un effet variant au cours du temps et celles ayant un effet invariant au temps. L'équation mathématique du modèle non-paramétrique additif d'Aalen est similaire à celle du modèle semi-paramétrique de risque additif présentée plus haut à l'exception que toutes les variables sont considérées comme ayant des effets qui varient au cours du temps. Après l'estimation du modèle additif d'Aalen, les résultats des tests de Kolmogorov-Smirnov et de Cramer von Mises ont mis en relief les variables ayant des effets variant ou invariant au cours du temps.^{238,248} Par ailleurs le test Supremum de Scheike a été utilisé pour vérifier la nullité des coefficients $\beta_p(t)$ dans les modèles non-paramétrique et semi-paramétrique de risque additif. Pour l'estimation de ces modèles, les variables qui ont été retenues sont les mêmes que celles qui ont été considérées dans les différents modèles de Cox dont la stratégie de construction a été présentée plus haut. Toutes les analyses ont été réalisées avec le logiciel R version 3.6.1.

2.4.5.3 Régression logistique et modèle de Fine et Gray

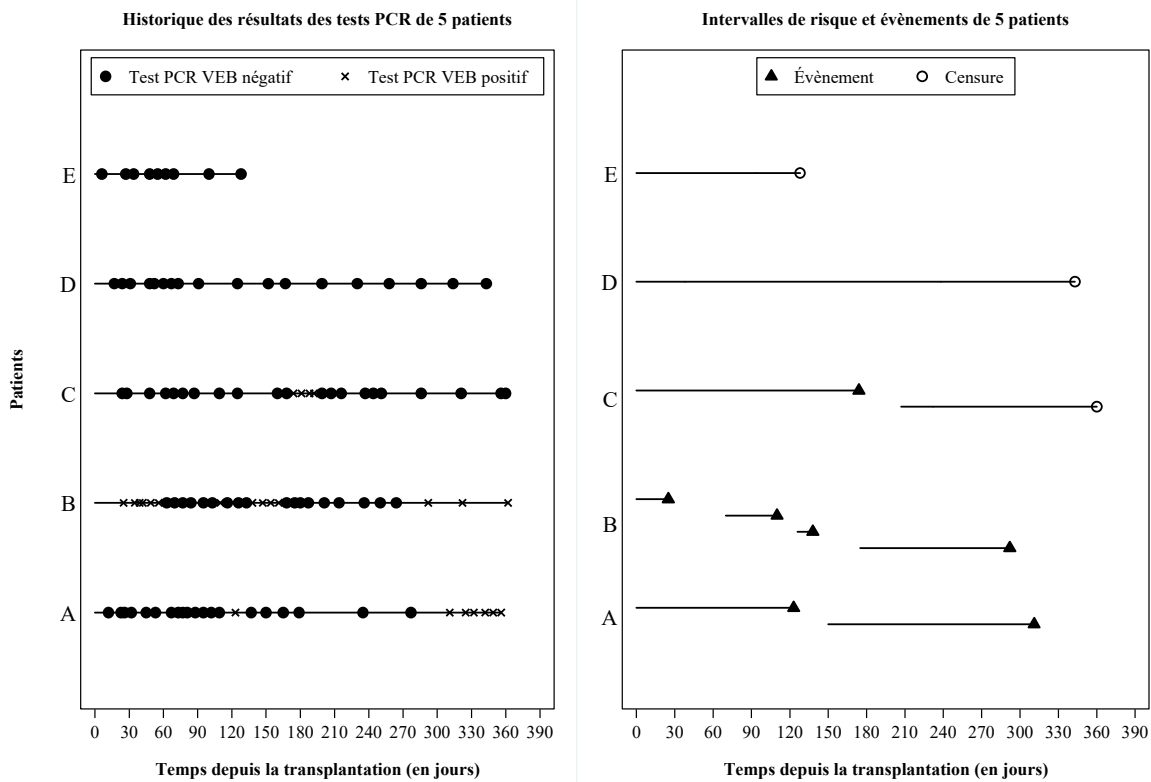
Les trois principaux modèles qui ont été utilisés dans les études qui ont examiné les facteurs de risque d'ADNémie VEB ou du SLPT sont : le modèle de risque proportionnel de Cox^{46,62,70,72,76,79,83,91,92,97,111,167}, le modèle de risque compétitif de Fine et Gray^{4,49,69,73,84,86,96}, et la régression logistique.^{32,52,53,77,78,80,82,85,87,88,90,98} Dans l'article 3, les facteurs de risque ont été examinés en utilisant le modèle de Cox. En guise d'analyse de sensibilité nous avons également considéré les deux autres modèles susmentionnés pour apprécier si, en termes de facteurs de risque mis en relief, les résultats de ces trois modèles sont similaires. Soit Y la variable dépendante binaire qui prend la valeur 1 si l'évènement d'intérêt est observé et 0 sinon. Soit E la variable d'exposition principale et X= (x₁...x_p) le vecteur des variables de confusion. Soit $\pi(x)=Pr(Y=1|X)$ la probabilité conditionnelle que l'évènement d'intérêt soit observé. Le modèle de régression logistique multiple qui a été utilisé est défini par l'équation générale ci-après : $logit(\pi(x)) = \ln\left(\frac{\pi(x)}{1-\pi(x)}\right) = \beta_0 + \sum_{k=1}^p \beta_k x_k$. Les coefficients de régression β_k sont à estimer à partir des données. Pour ce qui est du modèle de Fine et Gray, l'équation générale du modèle qui a été utilisée pour mesurer l'effet des covariables sur la fonction d'incidence cumulée du k^{ième} évènement est la suivante : $h_k^{sd}(t | E, X) = h_{k,0}^{sd}(t)e^{(\gamma E + \sum_{i=1}^p \beta_i x_i)}$ où $h_{k,0}^{sd}(t)$ est la fonction de risque de base inconnue (modèle semi-paramétrique), E la variable d'exposition principale et (x₁...x_p) le vecteur des variables de confusion. Les coefficients de régression γ, β_i sont à estimer à partir des données. La fonction $h_k^{sd}(t)$ est la fonction de risque de sous-distribution. On a $h_k^{sd}(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P(t < T \leq t + \Delta t, D = k | T > t \cup (T < t \cap K \neq k))}{\Delta t}$, D représente le type d'évènements. Pour l'estimation de cette fonction, la population à risque est constituée des individus n'ayant pas eu l'évènement d'intérêt k avant le temps t ainsi que ceux chez qui un évènement compétitif différent de l'évènement k a été enregistré avant t.

2.4.5.4 Modèle d'Andersen-Gill (AG) et modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré selon le processus de comptage (PWP-CP)

Ces deux modèles représentent d'autres alternatives pour déterminer les facteurs associés à la récurrence de l'ADNémie VEB post-greffe. La différence entre les modèles de PWP-GT et de PWP-CP se situe au niveau de l'échelle de temps et la définition des intervalles de risque.^{193,224-226} Comparativement au modèle de PWP-GT où le temps est réinitialisé à zéro après chaque

évènement, avec le modèle de PWP-CP le temps est mesuré depuis l'inclusion dans la l'étude. Ainsi en considérant le modèle de PWP-CP, Sans nuire à la généralité, les intervalles de risque pour un patient ayant eu trois épisodes d'ADNémie VEB respectivement aux temps t_1 , t_2 et t_3 sont définis comme ci-après : $(0 ; t_1]$, $(t_1+\delta_1 ; t_2]$, $(t_2+\delta_2 ; t_3]$ et $(t_3+\delta_3 ; T]$, avec δ_1 , δ_2 et δ_3 respectivement la durée du 1^{er}, du 2^{ème} et du 3^{ème} épisode d'ADNémie VEB et T le temps total de suivi. La Figure 7 présente une illustration de la définition des intervalles de risque de 5 patients quelconque en fonction de l'historique des résultats des tests PCR VEB.

Figure 7 : Historique des résultats des tests PCR et intervalles de risque de 5 patients en considérant le temps mesuré depuis la date de la transplantation



S'agissant du modèle AG,²⁴³ l'échelle de temps et les intervalles de risque sont définis de la même manière que pour le modèle de PWP-CP. La différence entre ces deux modèles réside dans la définition du risque de base. Pour le modèle de AG, le risque de base est commun pour tous les évènements tandis que pour le modèle de PWP-CP, le risque de base est spécifique à chaque évènement.^{193,224-226} Le modèle de AG est généralement recommandé lorsqu'on ne s'intéresse pas

à l'ordre d'apparition des évènements et qu'on souhaite avoir une conclusion globale de l'effet d'une covariable sur la survenue de l'évènement d'intérêt.^{193,224-226} L'équation du modèle de AG est similaire à celle du modèle de Cox.

Par ailleurs, soulignons que l'option d'explorer toutes ces alternatives d'analyse des évènements récurrents a été motivée par le fait que le choix entre l'échelle de temps n'est pas aisé dans le domaine de la recherche en santé.²²⁷ En effet, lorsqu'une évolution au cours du temps du phénomène étudié est plausible, l'échelle de temps calendaire peut naturellement être un bon choix.²⁴⁹ Dans le cadre de notre étude, l'utilisation de cette échelle est plausible car le risque de l'ADNémie VEB diminue avec la reconstitution immunitaire dans la période post immunosuppression.³² Par ailleurs, s'agissant de l'échelle de temps par intervalles, elle est pertinente lorsqu'il y a un «renouvellement» des individus après chaque évènement ou lorsqu'on s'intéresse à la prédiction du temps du prochain évènement.²²⁷ Cette échelle de temps est recommandée par exemple dans le cadre de l'étude de la récurrence des infections qui se caractérisent par un retour à l'état initial de l'individu après l'élimination de l'infection.²²⁷ Pour ce qui est de l'infection à VEB, une fois un patient infecté, le virus reste de manière latente dans l'organisme et peut se réactiver notamment en cas de baisse du niveau immunitaire. Toutefois, nous pouvons considérer l'extinction d'une infection active du VEB matérialisée par deux tests PCR consécutifs négatifs comme un retour à l'état initial. Ainsi, l'utilisation de l'échelle de temps par intervalle semble aussi plausible pour étudier la récurrence des épisodes d'infection active du VEB.

2.4.5.5 Imputation multiple par équations chaînées

La méthode d'imputation de données manquantes^{220,221} présentée plus haut a permis de remplacer chaque observation manquante par une seule valeur. En guise d'analyse de sensibilité, pour remplacer les observations manquantes, nous avons également utilisé sous l'hypothèse MAR la méthode d'imputation multiple par équations chaînées [Multiple imputation by chained equations (MICE)].^{250,251} Étant donné que les deux variables avec des données manquantes sont dichotomiques, l'imputation des données manquantes a été faite en utilisant des régressions logistiques incluant tous les potentiels facteurs de risque explorés. Soit R la sérologie VEB du receveur, R=1 si la sérologie est positive et R=0 si elle est négative. Soit D le statut VEB du greffon, D=1 si le statut VEB est positif et D=0 si le statut VEB est négatif. Soit X=(Âge, Sexe, Diagnostic, Type donneur, Régime de conditionnement, ATG, Alemtuzumab, CsA, Tacrolimus, MTX, MMF, Source de la greffe) le vecteur des variables considérées dans les modèles d'imputation. Soit

$\pi_1(x)=\Pr (R=1| X)$ la probabilité conditionnelle que la sérologie VEB du receveur soit positive et $\pi_2(x)=\Pr (D=1| X, R)$ la probabilité conditionnelle que le statut VEB du greffon soit positif. Les deux modèles de régression logistique multiple ci-après ont été utilisés pour imputer les données manquantes des variables R et D. La variable R a été prise en compte dans le modèle d'imputation des données manquantes de la D car elle a relativement peu d'observations manquantes (8,3%).

$$(1) : \text{logit}(\pi_1(x)) = \ln\left(\frac{\pi_1(x)}{1-\pi_1(x)}\right) = \beta_0 + \sum_{k=1}^{12} \beta_k x_k$$

$$(2) \text{logit}(\pi_2(x)) = \ln\left(\frac{\pi_2(x)}{1-\pi_2(x)}\right) = \gamma_0 + \sum_{j=1}^{12} \gamma_j x_j + \gamma_{13} R$$

Les coefficients de régression β_k et γ_j sont à estimer à partir des données. Chaque observation manquante a été remplacée par 30 observations consignées dans 30 fichiers différents. Par ailleurs, les différents modèles statistiques ont été estimés avec chacun de ces fichiers et les estimés d'effet agrégés ainsi que leur variance ont été obtenus en utilisant la règle de Rubin.²⁴⁶ En effet, soit $\hat{\theta}_i$ le logarithme naturel du rapport de risque de l'association entre une variable d'exposition quelconque et l'issue, obtenu avec le $i^{\text{ème}}$ fichier d'imputation, et $\widehat{\text{var}}(\hat{\theta}_i)$ sa variance. L'estimé d'effet agrégé et sa variance ont été respectivement obtenus l'aide des formules ci-après: $\hat{\theta} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \hat{\theta}_i$ et variance $\widehat{\text{var}}(\hat{\theta}) = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \widehat{\text{var}}(\hat{\theta}_i) + (1 + \frac{1}{m})(\frac{1}{m-1}) \sum_{i=1}^m (\hat{\theta}_i - \hat{\theta})^2$, m étant égal au nombre d'imputations effectuées.^{252,253}

2.5 Approbations éthiques

Le protocole d'étude a été approuvé par les comités d'éthique de la recherche de tous les établissements participants, y compris les comités d'éthique de Héma-Québec et de la Société canadienne du sang (CBS). Le consentement du patient a été levé lorsque toutes les données ont été collectées à partir des dossiers médicaux. Cependant, le consentement éclairé a été obtenu des patients (ou de leurs tuteurs légaux) et des donneurs de sang retracés par l'organisme d'approvisionnement en sang dont le VEB a été génotypé.

Chapitre 3 : Articles

1. Premier article de la thèse

Titre: Factors associated with post-transplant active Epstein-Barr virus infection and lymphoproliferative disease in hematopoietic stem cell transplant recipients: A systematic review and meta-Analysis

Auteurs: Pascal Roland Enok Bonong, Monica Zahreddine, Chantal Buteau, Michel Duval, Louise Laporte, Jacques Lacroix, Caroline Alfieri, Helen Trottier.

État actuel de l'article : Cet article a été soumis au journal Vaccine le 25 janvier 2021.

Contribution de l'étudiant : PREB a réalisé les tâches ci-après : l'élaboration du protocole de l'étude, la recherche et la sélection des articles, l'extraction et la synthèse des données, l'élaboration du draft de la grille d'évaluation de la qualité des articles, l'évaluation de la qualité des articles, la rédaction de la première version du manuscrit et toutes les mises à jour du manuscrit.

Contribution des coauteurs: MZ a réalisé la recherche et la sélection des articles, l'extraction des données, la révision de la grille d'évaluation des articles, l'évaluation de la qualité des articles et la révision de toutes les versions du manuscrit. CB, MD, JL ont apporté une expertise clinique dans l'interprétation des résultats et ont révisé toutes les versions du manuscrit. LL a vérifié toutes les données extraites et a relu toutes les versions du manuscrit. CA: a fourni une expertise sur le VEB, révisé toutes les versions du manuscrit et co-supervisé toutes les étapes du travail. HT: a validé les résultats de la sélection des articles, révisé et validé la grille d'évaluation des articles, révisé toutes les versions du manuscrit et supervisé toutes les étapes du travail.

Factors associated with post-transplant active Epstein-Barr virus infection and lymphoproliferative disease in hematopoietic stem cell transplant recipients: A systematic review and meta-Analysis

Pascal Roland Enok Bonong¹, Monica Zahreddine¹, Chantal Buteau², Michel Duval³, Louise Laporte⁴, Jacques Lacroix⁴, Caroline Alfieri⁵, Helen Trottier^{1*}.

¹Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada.

²Department of Pediatrics, Division of Infectious Diseases, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Canada.

³Department of Pediatrics, Division of Hematology-Oncology, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Canada.

⁴Department of Pediatrics, Division of Pediatric Intensive Care Medicine, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Canada.

⁵Département de Microbiologie, infectiologie et immunologie, Université de Montréal, CHU Sainte-Justine Research Center, Montréal, Canada.

*Corresponding author: Dr. Helen Trottier, CHU Sainte-Justine Research Center, Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, 3175 Côte Sainte-Catherine, Room B.17.002, Montreal H3T 1C5, QC, Canada; Tel: (514) 345-4931, ext. 7152; helen.trottier@umontreal.ca

Abbreviations: Acute graft-versus-host disease (aGvHD), anti-thymocyte globulin (ATG), chronic graft-versus-host disease (cGvHD), CC chemokine receptor-5 (CCR5), confidence interval (CI), cytomegalovirus (CMV), Effective Public Health Practice Project (EPHPP), Epstein-Barr Virus (EBV), hazard ratio (HR), hematopoietic stem cell transplant (HSCT), interferon- γ (IFN γ), odds ratio (OR), polymerase chain reaction (PCR), post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD), subhazard ratio (SHR), T-cell depleted (TCD), total body irradiation (TBI), viral load (VL).

Abstract

This systematic review was undertaken to identify risk factors associated with post-transplant Epstein-Barr virus (EBV) active infection and post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in pediatric and adult recipients of hematopoietic stem cell transplants (HSCT). A literature search was conducted in PubMed and EMBASE to identify studies published until June 30, 2020. Descriptive information was extracted for each individual study and data were compiled for individual risk factors including, when possible, relative risks with 95% confidence intervals and/or p-values. Meta-analyses were planned when possible. The methodological quality and potential for bias of included studies were also evaluated. Of the 3362 titles retrieved, 77 were included (62 for EBV infection and 22 for PTLD). The overall quality of the studies was strong. Several risk factors were explored in these studies, but few statistically significant associations were identified. Use of anti-thymocyte globulin (ATG) was identified as the most important risk factor positively associated with post-transplant active EBV infection and with PTLD. The pooled relative risks obtained using random effect model were 5.26 (95%CI: 2.92-9.45) and 4.17 (95%CI: 2.61-6.68) for the association between ATG and post-transplant EBV infection and PTLD, respectively. Other risk factors for EBV and PTLD were found in the included studies such as graft-versus-host disease, type of conditioning regimen or type of donor but results are conflicting. In conclusion, the results of this systematic review indicate that ATG increases the risk of EBV infection and PTLD, but the link with all other factors is either nonexistent or much less convincing.

Keywords: Epstein-Barr virus (EBV), human herpesvirus-4 (HHV-4), risk factors, post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD), EBV reactivation, hematopoietic stem cell transplant (HSCT).

1. Introduction

Hematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients are at risk of developing post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) following primary or reactivated infection by the Epstein-Barr virus (EBV) [1-7]. EBV is a ubiquitous human herpesvirus with a seroprevalence approximating 50-55% of the pediatric population living in countries with high hygienic standards, and reaching 90-99% by mid adulthood [8-10]. EBV is the etiologic agent of infectious mononucleosis and is also associated with the development of some cancers, most notably Hodgkin's lymphoma, African Burkitt's lymphoma and nasopharyngeal carcinoma [11-13], as well as lymphoproliferative disease in immunocompromised individuals [14]. After primary infection, EBV establishes latent infection in B cells [15]. In immunocompetent individuals, primary infection is often subclinical and latent infection is usually well controlled by the immune system throughout life. However, in immunosuppressed individuals such as HSCT patients, primary infection can be more consequential and latent EBV can reactivate to cause a spectrum of EBV-associated diseases ranging from fever, EBV end-organ diseases such as pneumonia, hepatitis and encephalitis to PTLD [16].

The occurrence of PTLD in patients receiving an allogeneic HSCT can reach 24% depending on the presence of risk factors [16-18]. The highest incidence of PTLD is seen in the first 6 months post-transplant, with most cases occurring during the first year post-transplant [4,6,19]. Infants are generally at higher risk because they are most often EBV-naïve before transplant [20]. Several clinical risk factors have been associated with EBV infection and PTLD in HSCT including T-cell depletion of the graft, use of unrelated donors or of two or more HLA-mismatches in related donors, use of anti-lymphocyte serum for prevention or treatment of acute graft-versus-host disease (GvHD) and use of anti-CD3 monoclonal antibodies for acute GvHD [18].

Rapid increase of EBV viral load (EBV-VL) in blood is a well-documented predictive biomarker of EBV-associated diseases. Following transplantation, regular monitoring of EBV-VL is usually performed for better management of patients who show large spikes in VL [21,22]. A reduction in the intensity of immunosuppression, or treatment with the anti-CD20 monoclonal (rituximab) is effective in decreasing EBV-VL to prevent PTLD [23]. In patients receiving HSCT, rituximab use is the more common option [7].

However, both methods for lowering EBV-VL have important disadvantages. Reduction in the intensity of immunosuppression can increase the risk of GvHD [6], while rituximab use in patients who are already immunosuppressed can incur development of other fatal infections [6]. Rituximab targets CD20-expressing malignant B cells as well as all mature B-cells, thus impeding the production of anti-microbial immunoglobulins [6]. There is clearly an important clinical advantage in preventing EBV disease rather than attempting to cure it. Numerous studies have sought to better understand the determinants of EBV infection following allogeneic HSCT. The literature contains numerous important studies that consider one or more risk factors in small to large sample sizes of patients with different characteristics; however, no systematic review is available summarizing the determinants of EBV infection in HSCT. Therefore, the aim of this work was to synthesize, through a systematic review and meta-analysis, the risk factors associated with active EBV infection and with PTLD in HSCT recipients.

2. Methods

We conducted, using Medline and EMBASE, a systematic search of all articles on risk factors for active EBV infection (including EBV primary infection as well as EBV reactivation) and PTLD in pediatric and adult recipients of HSCT published in peer-reviewed journals between 1946 and June 30, 2020. A non-exhaustive list of concepts and key words was obtained by referring to articles related to active EBV infection and PTLD; the list was broadened using Medical Subject Heading (MeSH) descriptors in Medline and Emtree in EMBASE. The ovidSP interface was used to search in both databases. The search equations are presented in Table S1. Selection of the articles was done in four steps: (1) title exploration, (2) review of abstracts, (3) review of the articles' contents, and (4) review of the references of selected articles. All selection steps were performed independently by two authors (PE, MZ); in cases of disagreement, a third author (HT) was solicited for a consensual decision.

For the systematic review, three inclusion conditions were applied: (1) the study population had to be composed of pediatric and/or adult HSCT recipients; (2) risk factors for EBV infection or for PTLD had to be analysed using univariate and/or multivariate statistical methods; and (3) the paper had to be in English or French. Abstracts, conference

papers, congress papers, editorials, guidelines, reviews and case reports were excluded from the systematic review.

Two independent authors (PE & MZ) extracted the following information from the selected articles: authors, publication year, location, study type, post-transplant follow-up duration, transplant type, sample size, population (child or adult, and median or mean age, range or interquartile range), definition of PTLD or definition of EBV infection, frequency of EBV-VL testing, blood compartment used to measure EBV-VL and statistical methods used. In addition, for all potential risk factors explored in the studies, point estimates such as odds ratio (OR), risk ratio (RR), hazard ratio (HR) and subhazard ratio (SHR), confidence intervals (CI) and p-values were extracted when reported. In some cases, the corresponding author was contacted to clarify ambiguities.

The quality of each individual study was independently evaluated by two authors (PE & MZ) using a modified version of the Effective Public Health Practice Project (EPHPP) Quality Assessment Tool for Quantitative Studies [24,25]. The quality assessment was based on the following components: selection bias, study design, confounders and data collection methods; it was rated as strong, moderate or weak (from high quality to low quality) according to the definition presented in Table S2a.

Finally, risk factors explored in these studies were described by providing the total number of studies showing a statistically significant association contrasted to the total number of studies investigating the risk factor.

The data reported made it possible to perform a meta-analysis solely to measure the association between the use of anti-thymocyte globulin (ATG) and two outcomes: post-transplant EBV infection and PTLD. Studies using multivariate analysis were considered for the meta-analysis except for the study by Liu et al [26] because only the p-value was reported (not the measure of association). Since post-transplant EBV infection is not a rare event in this population, to obtain pooled estimates, results from studies that reported adjusted HR or SHR were combined separately from those that reported adjusted OR. This distinction was not made for PTLD, which is a relatively less frequent event. Adjusted estimates were combined using the inverse variance method with random effect model. We made this choice without considering the statistical measures of heterogeneity. Indeed, in view of several differences observed between the studies at the clinical and methodological

levels, it would be difficult to exclude, even based on a non-significant statistical test, the presence of heterogeneity between these studies. However, we measured heterogeneity by calculating the I^2 statistic which revealed the proportion of the total variance observed due to a real difference in the measures of effects between studies. We considered that the heterogeneity was important from $I^2 \geq 25\%$ [27,28]. We also performed a sensitivity analysis to assess the contribution of each study to the pooled estimate. To this end, the pooled estimate was recalculated, each time excluding only one of the studies considered [29]. The analysis was performed with software R version 3.6.1.

3. Results

In total, 3362 titles were identified in the research bases, 1883 in EMBASE and 1479 in Medline. Once duplicates and papers with exclusion criteria were removed, 77 articles [4,16,22,23,26,30-101] fulfilled the inclusion criteria for our systematic review (62 for EBV and 22 for PTLD). Among the 22 articles selected for PTLD, seven were also retained for EBV. Detailed information on the selection procedure is provided in the flow diagram (Figure 1). Among the 62 articles included to analyse risk factors for post-transplant EBV infection, two relate exactly to the same patient cohort (Bogunia-Kubik et al [35] and Bogunia-Kubik et al [34]) and 11 relate to non-disjoint samples (include some of the same patients) (Cesaro et al [40] and Cesaro et al [41] ; Liu et al [73] and Liu et al [26] ; Xuan et al [98] and Liu et al [73]; Liu et al [74] and Liu et al [72]; Wang et al [96] and Ru et al [85]; Zhou et al [101] and Zhou et al [100]). However, none of these studies but one [101] were excluded from the qualitative synthesis for duplication because the risk factors explored were different. The study by Zhou et al [101] was excluded because all variables in this paper were explored using univariate analysis and were considered in the study by Zhou et al [100] using multivariate analysis. With respect to the analysis of PTLD risk factors, the studies by Sundin et al [102] and Omar et al [80] were discarded because Uhlin et al [93] explored the same factors and sample population as these two studies. Hoegh-Petersen et al [59] and Kalra et al [66] used non-disjoint samples. However, these two studies were retained in the review because the risk factors explored were not completely identical. For the same risk factors explored in both studies, those from Kalra et al [66] were retained as the analyses were done on a larger sample. In addition, the Ali et al [30]

and Althubaiti et al [31] studies were carried out with non-disjoint samples, but both were retained because different variables were explored.

Characteristics of the selected studies are described in Table 1; more details are provided in Table S3. Briefly, among the 77 studies, seven were conducted in France, seven in Italy, six in Poland, one in Belgium, three in Spain, six in the United Kingdom, one in Finland, five in the United States, three in Japan, 16 in China, two in Korea, one in Russia, five in Canada, three in Sweden, one in Turkey, three in Germany, two in the Netherlands, one in Greece, one in Portugal and three were multi-national. Twenty-three studies were prospective, 51 were retrospective, two were case-control studies and one was a randomized control trial. Sample size ranged from 26 to 64,539 HSCT recipients (Figure 2). It is noteworthy that most studies were performed with pooled pediatric and adult populations (n=41) while 19 included only children and 17 only adults.

The definition of post-transplant EBV infection and the diagnostic criteria for PTLD differed among studies. Active post-transplant EBV infection was diagnosed when the EBV-VL in blood, determined using a PCR test, was above a given threshold. In some cases, thresholds were not readily comparable because there was no direct conversion between the units of measurement used. In two studies [44,90], active EBV infection was defined as a reactivation event because all patients showed positive EBV serology when the follow-up period started. In other studies, no distinction was made between primary infection and reactivation: both were considered active EBV infection. There was also some variability between studies with respect to the frequency of PCR testing, but it was performed weekly in most studies during the early post-transplant period. The type of specimen tested by PCR varied, with peripheral blood in 19 studies, plasma in 11 studies, serum in five studies, serum or plasma in one study, whole blood in 13 studies, peripheral blood or whole blood in two studies, and whole blood and plasma in one study; 10 studies provided no information on specimen type. The method used to diagnose PTLD was not detailed in one study. The length of follow-up was an important source of variation between studies; in some cases the follow-up period was not reported [30,31,33,39,45,47,51,54,58,60,62,72,80,82,85,89,93,97,99].

Various statistical methods were used. Logistic regression was used in 13 studies, Cox model in 22, survival analysis using the log-rank test in one, multiple linear regression

in two, Fine & Gray competitive risk model in 10 and Poisson regression for grouped survival data in one. Among the 28 studies employing univariate analysis, the statistical method was not explicitly reported in one study, one study used univariate logistic regression, another used the univariate Cox model, another used time-dependent landmark, while other studies used at least one of the following tests: Log-rank test, Gray's test, Chi 2 test, Wilcoxon nonparametric test, Kruskal-Wallis test, Fisher's exact test, Mann-Whitney test or Wald test. Among the 49 studies in which a multivariate analysis was performed, the criteria for selecting variables for the multivariate model were explicitly indicated in 20. Variables with a p-value < 0.1 in univariate analysis were retained for multivariate analysis in eight studies, a p-value < 0.2 in three, a p-value < 0.3 in one, a p-value < 0.05 in one; a p-value < 0.05 was used for the multivariate analysis in three studies. In four studies, the investigators used a p-value < 0.1 in univariate analysis combined with p-value < 0.05 in multivariate analysis. Altogether, 52 studies were considered as properly adjusted for confounding bias.

Table S2b reports the quality assessment of the 74 articles included in the review according to outcome. Regarding post-transplant EBV infection, 27 (42.9%) were rated 'strong', 15 (23.8%) 'moderate' and 21 (33.3%) 'weak'. For PTLD, 12 (57.1%) were rated 'strong', three (14.3%) 'moderate' and six (28.6%) 'weak'. The lack of information on retention and potential for selection bias as well as the absence of control for potential confounding bias were the main contributors to lower overall rating of articles. It is important to note that the absence of control for confusion in several articles could be justified by the fact that their main focus did not involve analysis of factors associated with either post-transplant EBV infection or PTLD.

Table S4 provides a detailed list of the risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 included studies with a description, when possible, of the measures of association and CI and/or p-value. Figure 3 presents, for every individual risk factor, the total number of studies that investigated the risk factor contrasted to the number that showed a statistically significant association. Table 2 presents a summary of the risk factors (with measures of association) for post-transplant EBV infection and for PTLD that were analysed in studies using multivariate analysis. Presence of GvHD, use of ATG and

type of conditioning regimen were the three risk factors most frequently associated with EBV infection and PTLD.

Graft-versus-host disease

The association between acute (a)GvHD and post-transplant EBV infection was examined in 21 studies [4,38,40,45,50,51,55,56,58,64,65,67,73,75,80,84,85,87,88,90,100]. Six statistically significant associations were highlighted using different grade categorisation of the outcome. In two studies, aGvHD was dichotomized in grade ≥ 3 *versus* < 3 ; one of them (Juvonen et al [65]) showed that patients with aGvHD grade ≥ 3 had a higher risk of active EBV infection (HR=1.70 [95% CI: 1.11-2.62]). However, this result was not corroborated by other studies [50,90,100]. Among eight studies [4,38,40,56,58,73,85,88] that compared grade ≥ 2 *versus* < 2 , two [58,88] showed that an aGvHD grade ≥ 2 significantly increased the risk of active EBV infection, one reported a positive association without reporting the relative risk (Hiwarkar et al [58]) and the other (Sirvent-Von Buelzingsloewen et al [88]) reported an OR=3.4 (95% CI: 1.2-9.7). The potential effect of aGvHD, however, was not confirmed by the other studies [4,38,40,56,73]. One study (Peric et al [84]) categorized aGvHD according to grade 0-1, grade 2 and grades 3-4 and did not show a statistically significant association with active EBV infection. Seven studies considered the presence *versus* absence of aGvHD; three highlighted a statistically significant association. Elmahdi et al [51] showed that the presence of aGvHD whatever the grade, increased the risk of EBV infection (HR=3.29 [95% CI: 1.26-8.58]). Similar results were obtained by Cohen et al [45] (OR=2.2 [95% CI: 2.12-15.08]) and by Omar et al [80] who showed that patients with aGvHD had on average a higher EBV-VL than patients without aGvHD (p=0.009). However, these results were not corroborated in four other studies [55,64,67,75]. Seven studies examined if chronic (c)GvHD was a risk factor of post-transplant EBV infection [4,40,45,67,73,85,87], two of which showed a statistically significant relationship [67,85]. Two studies [23,68] did not differentiate aGvHD and cGvHD; one [68] showed a statistically significant association.

In regards to PTLD, its occurrence was associated with aGvHD grade ≥ 2 in Landgren et al (RR = 1.7 [1.2-2.5]) [69], Uhlin et al (SHR = 2.65 [1.32-5.35]) [93] and Fujimoto et al (HR=1.93 [1.48-2.52]) [54]. No statistically significant association was

identified in eight other studies [16,26,45,55,56,87,94,97] that explored the association between aGvHD and PTLD. Four studies [16,26,69,87] analyzed the association between cGvHD and PTLD; only Landgren et al [69] found a statistically significant association (RR=2.0 [1.1-3.2]). In contrast, the study by Kalra et al [66]. showed a lower risk of PTLD in patients with aGvHD grade ≥ 2 or cGvHD that required systemic therapy (SHR=0.47; p=0.04).

Graft-versus-host disease prophylaxis/treatment

ATG use appears to be an important risk factor for the development of active post-transplant EBV infection or PTLD. Among 15 multivariate studies [4,40,44,45,50,52,55,65,67,68,73,78,84,85,95] that examined the association between ATG and active post-transplant EBV infection, 10 found a statistically significant association: Cesaro et al [40] (HR=13.0 [95% CI : 2-96]), Fan et al [52] (OR=7.69 [95% CI : 1.17-50.49]), Juvonen et al [65] (HR=5.78 [95% CI : 2.47-13.5]), Liu et al [73] (HR=14.081 [95% CI : 6.02-32.92]), Peric et al [84] (SHR=4.9 [95% CI : 1.1-21.0]), Van Esser et al [95] (HR=3.4 [95% CI : 1.6-7.1]), Gao et al [55] (HR=6.3 [95% CI : 1.6-24.0]), Düver et al [50] (OR=10.68 [95% CI: 1.15-98.86]), Ru et al [85] (HR=4.29 [95% CI: 2.64-6.97]) and Kullberg-Lindh et al [67] (slope=1.34; p=0.004). All studies compared patients who received ATG versus those who did not, but one: Van Esser et al [95] reported the risk of EBV infection in patients receiving T-cell depleted (TCD) grafts with ATG versus patients receiving non-TCD grafts. A statistically significant association between active post-transplant EBV infection and TCD grafts was shown by Bordon et al [36] (p=0.04) as well as for CD4⁺ depleted grafts by Torre-Cisneros et al [90] (OR=11.5 [95% CI: 5.8-22.8]). Corticosteroid use for GvHD prophylaxis (OR= 23.68 [95% CI: 1.92-291.45]) was associated with EBV infection in the study by Fan et al [52].

An association between ATG and PTLD was reported by Landgren et al [69] (RR=3.8 [2.5-5.8]), Van der Velden et al [94] (OR=2.4 [1.3-4.2]), Liu et al [26] (p=0.038), Xuan et al [16] (HR=13.03 [1.67-101.58]) as well by Fujimoto et al [54] (HR=6.13 [95% CI: 4.33-8.68] for GvHD prophylaxis and HR=2.09 [95% CI: 1.17-3.72] for GvHD treatment). The association was not statistically significant in the study by Gao et al [55] (HR=2.9 [95% CI: 0.3-27.5]). Brunstein et al [37] found higher risk for the composite

outcome ‘post-transplant EBV infection or PTLD’ in patients with non-myeloablative conditioning regimen (NMAC) + ATG (HR=15.4 [2.0-116.1]), but similar risk for those receiving NMAC without ATG (HR=0.7 [0.1-6.5]) compared to those who received myeloablative conditioning (MAC). This highlights the role of ATG as a significant risk factor. Buyck et al [39] reported a dose-response relationship: the risk of PTLD increased with the number of prior courses of ATG (HR=7.23 [1.67-31.32]). Lin et al [71] found a higher risk of post-transplant EBV infection in patients who received a higher dose of ATG (10.0 mg/kg versus 7.5 mg/kg: HR=2.02 [95% CI: 1.37-2.97]). The study by Cohen et al [45] compared patients who received Campath versus ATG; no statistically significant association was found (unadjusted OR=0.56 [0.15-2.05]).

The meta-analyses that we performed are presented in Figures 4 and 5. The pooled HR for the association between ATG use and post-transplant EBV infection obtained using the random effect model was 5.26 (95%CI: 2.92 - 9.45) with a $I^2=63.2\%$ (Figure 4). We performed sensitivity analyses by recalculating the pooled estimate after excluding only one study at a time: the results vary between 4.13 and 6.49 and the I^2 heterogeneity statistic varies between 22% and 69%. The studies by Laberko et al [68] and Liu et al [73] had the greatest influence on the pooled estimate and on the level of heterogeneity. However, regardless of the study excluded, the overall result remains statistically significant. With respect to studies that estimated an adjusted OR to report the association between ATG and post-transplant EBV infection, the pooled estimate was 2.74 [1.03-7.31] and $I^2 = 40.3\%$ (Figure 5). The sensitivity analyses highlighted a variation of the pooled estimate from 2.07 to 4.00 and of I^2 from 28% to 58%. The studies by Christopheit et al [44] and Cohen et al [45] had the greatest influence on the pooled estimate and heterogeneity. The pooled estimate was no longer significant if a single study was removed from the analysis, except for the study by Christopheit et al [44], which was carried out with the smallest sample. The pooled RR for the association between ATG and PTLD obtained using random effect model was 4.17 (95%CI: 2.61-6.68) with an $I^2=56.7\%$. The sensitivity analysis revealed that the pooled estimate ranged from 3.34 to 5.02 and the I^2 from 9% to 67%. The studies by Fujimoto et al [54] and Van der Velden et al [94] had the biggest influence on the pooled estimate and the I^2 . The sensitivity analysis did not question the statistically significant association between ATG and PTLD.

The results of these meta-analyses should be understood cautiously given the high level of heterogeneity observed between studies. Due to the small number of articles, we did not explore the sources of heterogeneity further by performing a subgroup analysis or a meta-regression.

Other risk factors

Other possible risk factors were analysed in the retained studies; these factors were not associated with EBV infection or PTLD, or their relationship was more ambiguous (Table 2 and Table S4). The association between the primary diagnosis and post-transplant active EBV infection was explored in several reports [4,22,34,38,45,55,58,68,84,85,87,100]; three showed a strong positive and statistically significant association [22,38,87]. According to Carpenter et al [22], the risk of active EBV infection was greater in patients with Hodgkin lymphoma (HR = 3.53 [95% CI: 1.51-8.25]) or chronic lymphocytic leukemia (HR=3.77 [95% CI: 1.38-10.32]) compared to patients with acute myeloid leukemia. Sanz et al [87] reported that the risk was greater in patients with Hodgkin disease compared to other patients (SHR=11.6 [95% CI: 3.4-40.0]). However, Burns et al [38] found that the risk of active post-transplant EBV infection was lower in patients with non-Hodgkin lymphoma compared to patients with acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome (AML/MDS) (HR= 0.18 [95% CI: 0.05-0.57]). Furthermore, Fujimoto et al [54] showed a higher risk of PTLD in patients with aplastic anemia compared to those with AML / MDS (HR=5.19 [95% CI: 3.32-8.11]). No statistically significant association between the PTLD outcome and the patient's primary diagnosis was found in the other studies [45,55,87,93,94,97].

The use of reduced intensity conditioning regimen was determined as a risk factor for post-transplant EBV infection by Sanz et al [87] (SHR = 6.0 [2.0-17.6]) and as a risk factor for PTLD by Sanz et al [87] (SHR = 5.5 [1.8-17.1]) and Uhlin et al [93] (SHR = 3.25 [1.53-6.89]). Two studies reported that intensified myeloablative conditioning regimen (MAC) increased the risk of post-transplant EBV infection: Liu et al [73] (HR=1.72 [1.03-2.88]) and Lin et al [71] (HR=1.73 [95% CI: 1.18-2.54]). Liu et al [73] also found an association between intensified MAC and PTLD ($p = 0.018$), but Xuan et al [16] found an association in the opposite direction (standard versus intensified regimen: HR = 4.46 [1.20-

16.61]). Gao et al [55] found that the use of fludarabine would increase the risk of PTLD (HR=3.8 [1.4-10.6]). EBV viral load was higher in the study by Kullberg-Lindh et al [67] when total body irradiation (TBI) was performed.

Recipient age did not seem to be an important risk factor for active EBV infection post-transplant. Of the 20 studies [4,22,34,38,49-51,55,64,67,68,73,75,84,85,87,88,92,95,100] to consider this factor, only Bogunia-Kubik et al [34] highlighted a statistically significant association, showing that the propensity for active post-transplant EBV infection was higher in people over 25 years compared to others (OR=1.54 [95% CI: 1.14-2.70]). Concerning the association between age and PTLD, only two [55,69] of the 10 studies [16,26,39,55,66,69,87,93,94,97] that explored this factor indicated a statistically significant association. A higher risk of PTLD has been observed in patients aged 50 years or more (RR=5.1 [2.8-8.7]) [69]. Conversely, a lower risk of PTLD was observed in patients 40 years or older in another study (HR=0.4 [0.2-0.9]) [55].

Several studies used multivariate analysis to examine the relationship between recipient sex and post-transplant active EBV infection [4,34,38,49,51,55,64,67,68,71,73,75,84,85,87,88,95,100] or PTLD [16,26,39,55,87,93,94,97]; none found a significant association. Three out of six studies [34,52,55,64,78,100] that analysed the association between donor sex and post-HSCT active EBV infection showed a statistically significant association, but in opposite direction. In two studies, the risk for active EBV infection post-HSCT was higher in patients receiving a male donor transplant [52,55] while, in the other, patients receiving a female donor transplant appeared to be at greater risk [64]. The only study [55] that explored the association between donor sex and PTLD did not find a statistically significant association. Moreover, no statistically significant association was found between the donor/recipient sex combination and post-transplant EBV infection [34,40,52,56,64]. Among all studies that examined the sex of the dyad donor / recipient and PTLD [56,81,93,97], only one [81] found a statistically significant association suggesting a higher risk of PTLD in patients who received a transplant from a different sex donor.

With regard to viral infections, a study by Zallio et al [23] suggests that the risk of active post-transplant EBV infection is higher in patients with CMV reactivation compared to those who are CMV negative ($p < 0.05$). Similar results were found by Gao et al (HR=5.9

[2.5-13.9]) [55] and by Zhou et al (HR=97.75 [9.48-1008.30]) [100]. Xu et al [97] and Gao et al [55] found that the risk of PTLD was higher in patients with CMV DNAemia: HR=5.68 [1.17-27.57] and HR=11.6 [1.2-114.4], respectively. According to Lakerko et al [68], the risk of post-transplant EBV active infection was higher among EBV seronegative patients (compared to seropositive patients) in HSCT recipients receiving a graft from an EBV-seropositive donor (HR=2.85 [95% CI: 1.12-7.28]). Lin et al [71] found a higher risk of post-transplant EBV infection in EBV-seropositive patients who received an EBV-negative graft (HR=1.58 [1.01-2.46]). Other risk factors associated with active EBV infection post-transplant include: 1) two human genotypes, namely the interferon- γ (IFN γ) gene 3/3 (OR=7.28; p=0.005) [35] and the CC-chemokine receptor-5 (CCR5) (OR=0.17 [95% CI: 0.03-0.80]) [34], 2) the volume of platelet transfused (>2530 vs. <1260 mL) (HR=2.19 [95% CI: 1.21-3.97]) [91], 3) unrelated or mismatched related donor (p=0.04) [80], 4) unrelated donor ((HR=8.8, p=0.030) [75], (OR=5.05 [1.24–20.63]) [50], (HR=2.63 [1.02-6.67]) [92]), 5) HLA incompatibility ((OR=5 [1.5-16.4]) [88], (HR=1.83 [1.27-2.63]) [85]), 6) CD3⁺ count in the graft \geq median (OR=0.11 [0.02-0.78]) [4], 7) CD3⁺CD8⁺ count in the graft \geq median (OR=0.05 [0.01-0.43]) [44], 8) CD34⁺ count in the graft >1.35x10⁶/kg (HR=2.6 [1.5-4.6]) [95], 9) CD4⁺ lymphocyte/ μ l at one month after HSCT \geq 50 (OR=0.1 [0.02-0.481]) [4], 10) V δ 2⁺ T cell count 30 days post-transplant (HR=0.347 [0.161-0.747]) [72], 11) IgM level \geq median 30 days after HSCT (HR=0.27 [0.10-0.75]) [97], 12) proportion (%) of NKp30 /total NK cells one month after HSCT (HR= 0.96 [0.918-0.998]) [99], and 13) prior HSCT (HR=2.6 [1.1-6.4]) [56]. Also, a higher risk of post-transplant EBV infection was observed by Tsumakas et al [92] in patients receiving a peripheral blood transplant compared to those receiving a bone marrow transplant (HR=2.51 [1.04-6.05]), but an opposite result was found by Wang et al [96] (HR=18.69; p<0.001).

Other factors associated with PTLD include: 1) CD8⁺ count (\geq median vs. <median) 30 days after HSCT (HR=0.34 [0.13-0.92]), 2) prior HSCT ((HR: 2.6 [1.1-6.4]) [56], (RR=3.5 [1.7-6.3]) [69]), 3) splenectomy (SHR=4.81 [1.51-15.4]) [93], 4) infusion of mesenchymal stromal cells (SHR=3.05 [1.25-7.48]) [93], 5) a stepwise increase of EBV-DNA by 1 log (HR=2.9 [1.7-4.8]) [95], 6) HLA DRB1*11:01 (SHR=4.85 [1.57-14.97]) [81], and 7) HLA mismatch (SHR=5.89 [2.43-14.3]) [93]. Fujimoto et al [54] found that,

compared to matched related donor grafts, the risk of PTLD is higher when using mismatched related donor grafts (HR=4.39 [2.39-8.07]), matched unrelated donor grafts (HR=4.08 [2.39-6.99]), mismatched unrelated donor grafts (HR=3.20 [1.58-6.47]) or cord blood grafts (HR=8.03 [4.72-13.7]).

4. Discussion

This systematic review includes 77 papers. It aims to characterize risk factors associated with active post-transplant EBV infection and PTLD in HSCT recipients. Active EBV infection can result in rapidly increasing EBV-VL, which is a high-risk marker for PTLD development. Proper identification of the risk factors associated with active EBV infection and PTLD is needed for effective patient management.

In this systematic review, we focused on risk factors explored in published studies; very few statistically significant associations were found. The use of ATG was identified as one of the most important risk factors for the development of active post-transplant EBV infection and PTLD. The pooled relative risks estimated from the meta-analysis that was carried out confirmed a positive and statistically significant association between ATG and EBV infection (RR=3.98 (95%CI: 2.20 - 7.18) and PTLD (RR=3.69 (95%CI: 2.24-6.08)). ATG is a potent immunosuppressive agent that obliterates the T-cell pool [103-105], thereby enabling reactivation of latent EBV contained in mature B cells along with malignant expansion of infected cells [103]. In the HSCT setting, ATG is used for the prevention of aGvHD given its ability to target and deplete T lymphocytes [106,107].

Some studies included in this review also found an association with the presence of GvHD, which is an immune-mediated complication of HSCT whereby donor T cells present in the graft initiate an alloreactive process that ultimately causes destruction of host tissues [108]. aGvHD usually occurs within the first three months post-transplant and is categorized into four grades ranging from 1 (light disease) to 4 (severe disease) [109]. cGvHD usually occurs beyond the initial three months post-transplant. The pathophysiology of GvHD, especially that of cGvHD, is complex [110]. T and B lymphocytes are probably involved in the pathophysiology of GvHD although the mechanism linking these cells to GvHD is not well known [107]. In short, the etiology of GvHD is complex and it is difficult to conclude whether GvHD is an independent risk

factor for EBV and PTLD or whether the relationship found in some studies is the result of confounding by indication related to the use of ATG.

Many other variables were analysed in the 77 included studies, but results were either inconsistent, failed to find an association, or limited in terms of the number of studies that investigated the risk factor. Some studies showed that primary diagnosis was associated with post-transplant active EBV infection [22,38,87], more specifically in the case of Hodgkin disease [22,87]. Some forms of Hodgkin lymphoma are etiologically linked to EBV [111,112] and may occur in individuals who are not able to properly control EBV infection. These individuals may be thought to be more susceptible to other EBV diseases (such as post-transplant active EBV infection) along the continuum of care, but HSCT should have corrected any immune cell problem. Although interesting, further studies are needed to confirm the potential association between Hodgkin's disease and post-transplant active EBV infection in HSCT patients.

Discordant results were found for other variables and, in other cases, the number of studies investigating risk factors were limited. These variables are: recipient age, recipient gender, donor type, conditioning regimen, graft source, graft history, graft content (CD34⁺, CD3⁺, CD8⁺, CD3⁺/CD8⁺), genotype (IFN γ gene 3/3, CCR5), splenectomy, mesenchymal stromal cells, transfusion (red blood cells, platelets, plasma) and donor gender (Table S4). One cause of discordant results is the heterogeneity observed among the various studies, most notably with regard to the different specimen types used to perform PCR tests (Table S3). The sensitivity of PCR tests is greater when whole blood is used as opposed to plasma [113]. Other sources of discordance include variations in the statistical approach and experimental design. We also noted the absence of controls for confounding and failure to report results when associations lacked statistical significance. In addition, only 42.9% of studies included in the systematic review of factors associated with post-transplant EBV infection were classified as being of strong quality and 23.8% were classified as moderate quality; with respect to PTLD as outcome, the proportions were respectively 57.1% and 14.3%. An important risk for bias includes uncontrolled confounding bias and the lack of information on retention, a potential source of selection bias in cohort studies.

This review was not able to discern whether differences exist between children and adults. While statistical power was higher in studies combining both groups, differences in

terms of risk factors may exist. Immune restoration through T-cell reconstitution after transplantation is different in children and adults [114], and risk factors may differ. It should be noted that 25 of the 77 studies selected in this systematic review have a sample size of less than 100; therefore, it is possible that type II error may explain why positive associations were not statistically significant in many studies. Moreover, the included studies were limited to the identification of factors associated with the first occurrence of active EBV infection post-transplant, although during follow-up a patient may experience several episodes of active EBV infection [22,114]. This latter aspect should be considered in order to better understand the dynamics of the evolution of active EBV infection post-transplant in HSCT recipients. Risk factors for the occurrence of active EBV infection might be different from those that explain the dynamics of infection. Finally, there was insufficient information on attrition, which may be the primary source of selection bias in this type of study. While we initially intended to perform a meta-analysis of all risk factors associated with active EBV infection and PTLD, this was not possible because of the diversity of outcome definitions, the variability in the definition of risk factors and the non-systematic reporting of point estimates, confidence intervals and p-values. However, as indicated above, a meta-analysis was carried out to measure the association between ATG use and post-transplant EBV infection and PTLD respectively. The results, however, must be considered with caution, as the definition of outcome was quite variable from one study to another. Based on all the above arguments, further studies using large cohorts of children and adults are needed to better elucidate the determinants of active EBV infection and PTLD among HSCT recipients.

In conclusion, we found ATG as the most important risk factor for the development of active post-transplant EBV infection and PTLD in HSCT patients. ATG considerably increases the risk of EBV and PTLD. Other risk factors have been linked with EBV and PTLD in studies such as GvHD or type of donor, but the association for these other factors is less clear due to conflicting results, potential for bias, particularly confounding, or because of the low number of studies that considered these risk factors. Further studies using large cohorts of children and adults with appropriate control for confounding are needed to better characterize other determinants of active EBV infection and PTLD among HSCT recipients.

Author contributions

PREB: developed the study protocol, performed the research and the selection of articles, carried out the data extraction and synthesis, elaborated the draft of the evaluation grid of selected articles, evaluated the quality of the articles, wrote the first draft of the manuscript and performed updates of the manuscript. MZ: conducted the research and selection of articles, performed the data extraction, revised the evaluation grid of the articles, assessed the quality of the articles and revised all versions of the manuscript. CB, MD, JL: provided clinical expertise for analysis and interpretation, and revised the versions of the manuscript. CA: provided expertise on EBV, revised all versions of the manuscript and co-supervised all steps. HT: validated the results of article selection, revised and validated the evaluation grid of articles, revised all versions of the manuscript and supervised all steps. All authors have approved the submission of this manuscript for publication.

Funding

This study was supported by a grant from the Canadian Blood Services (grant CBS #201209-293922) to HT, CB, MD, JL, CA, as well as by an operating grant from the Cancer Research Society and the C17 Council (OG #23276) to CA for review of the pediatric studies. PREB was supported by doctoral awards from the CHU Sainte-Justine and Université de Montréal (tuition fee waiver scholarships for international students and graduate scholarship for final year of PhD studies). HT holds a salary award (chercheur-boursier, Junior-2) from the Fonds de la recherche en santé (FRQ-S) and from Canadian Institutes of Health Research (CIHR) (New investigator salary award).

Data availability

We confirm that our data are available.

Acknowledgments

We thank Sylvie Fontaine, librarian at the paramedical library of the Université de Montréal for her support in the identification of descriptors and keywords in the Medline and EMBASE databases.

Conflicts of Interest

The authors of this manuscript have no conflicts of interest to disclose

References

1. Aalto, S.M.; Juvonen, E.; Tarkkanen, J.; Volin, L.; Haario, H.; Ruutu, T.; Hedman, K. Epstein-Barr viral load and disease prediction in a large cohort of allogeneic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* **2007**, *45*, 1305-1309, doi:10.1086/522531.
2. Faraci, M.; Caviglia, I.; Morreale, G.; Lanino, E.; Cuzzubbo, D.; Giardino, S.; Di Marco, E.; Cirillo, C.; Scuderi, F.; Dallorso, S., et al. Viral-load and B-lymphocyte monitoring of EBV reactivation after allogeneic hemopoietic SCT in children. *Bone Marrow Transplant* **2010**, *45*, 1052-1055, doi:10.1038/bmt.2009.302.
3. Herreman, A.; Dierickx, D.; Morscio, J.; Camps, J.; Bittoun, E.; Verhoef, G.; De Wolf-Peeters, C.; Sagaert, X.; Tousseyn, T. Clinicopathological characteristics of posttransplant lymphoproliferative disorders of T-cell origin: single-center series of nine cases and meta-analysis of 147 reported cases. *Leuk Lymphoma* **2013**, *54*, 2190-2199, doi:10.3109/10428194.2013.775436.
4. Patriarca, F.; Medeot, M.; Isola, M.; Battista, M.L.; Sperotto, A.; Pipan, C.; Toffoletti, E.; Dozzo, M.; Michelutti, A.; Gregoraci, G., et al. Prognostic factors and outcome of Epstein-Barr virus DNAemia in high-risk recipients of allogeneic stem cell transplantation treated with preemptive rituximab. *Transpl Infect Dis* **2013**, *15*, 259-267, doi:10.1111/tid.12061.
5. Rasche, L.; Kapp, M.; Einsele, H.; Mielke, S. EBV-induced post transplant lymphoproliferative disorders: a persisting challenge in allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* **2014**, *49*, 163-167, doi:10.1038/bmt.2013.96.
6. Reddy, N.; Rezvani, K.; Barrett, A.J.; Savani, B.N. Strategies to prevent EBV reactivation and postransplant lymphoproliferative disorders (PTLD) after allogeneic stem cell transplantation in high-risk patients. *Biol Blood Marrow Transplant* **2011**, *17*, 591-597, doi:10.1016/j.bbmt.2010.08.007.
7. Styczynski, J.; Einsele, H.; Gil, L.; Ljungman, P. Outcome of treatment of Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in hematopoietic stem cell recipients: a comprehensive review of reported cases. *Transpl Infect Dis* **2009**, *11*, 383-392, doi:10.1111/j.1399-3062.2009.00411.x.
8. IARC. Proceedings of the IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Epstein-Barr Virus and Kaposi's Sarcoma Herpesvirus/Human Herpesvirus 8. Lyon, France, 17-24 June 1997. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* **1997**, *70*, 1-492.
9. Allen, U.; Alfieri, C.; Preiksaitis, J.; Humar, A.; Moore, D.; Tapiero, B.; Tellier, R.; Green, M.; Davies, D.; Hebert, D., et al. Epstein-Barr virus infection in transplant recipients: Summary of a workshop on surveillance, prevention and treatment. *Can J Infect Dis* **2002**, *13*, 89-99.
10. Pariente, M.; Bartolome, J.; Lorente, S.; Crespo, M.D. [Age distribution of serological profiles of Epstein-Barr virus infection: review of results from a diagnostic laboratory]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* **2007**, *25*, 108-110.
11. Corssmit, E.P.; Leverstein-van Hall, M.A.; Portegies, P.; Bakker, P. Severe neurological complications in association with Epstein-Barr virus infection. *J Neurovirol* **1997**, *3*, 460-464.

12. Jenson, H.B. Acute complications of Epstein-Barr virus infectious mononucleosis. *Curr Opin Pediatr* **2000**, *12*, 263-268.
13. Parkin, D.M. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* **2006**, *118*, 3030-3044, doi:10.1002/ijc.21731.
14. Cohen, J.I. Epstein-Barr virus lymphoproliferative disease associated with acquired immunodeficiency. *Medicine (Baltimore)* **1991**, *70*, 137-160.
15. Cohen, J.I. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med* **2000**, *343*, 481-492.
16. Xuan, L.; Jiang, X.; Sun, J.; Zhang, Y.; Huang, F.; Fan, Z.; Guo, X.; Dai, M.; Liu, C.; Yu, G., et al. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation* **2013**, *96*, 560-566, doi:10.1097/TP.0b013e31829d38af.
17. Curtis, R.E.; Travis, L.B.; Rowlings, P.A.; Socie, G.; Kingma, D.W.; Banks, P.M.; Jaffe, E.S.; Sale, G.E.; Horowitz, M.M.; Witherspoon, R.P., et al. Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study. *Blood* **1999**, *94*, 2208-2216.
18. Faye, A.; Vilmer, E. Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder in Children. *Paediatr Drugs* **2005**, *7*, 55-65.
19. Kinch, A.; Oberg, G.; Arvidson, J.; Falk, K.I.; Linde, A.; Pauksens, K. Post-transplant lymphoproliferative disease and other Epstein-Barr virus diseases in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation after introduction of monitoring of viral load by polymerase chain reaction. *Scand J Infect Dis* **2007**, *39*, 235-244, doi:10.1080/00365540600978906.
20. Hussein, K.; Tiede, C.; Maecker-Kolhoff, B.; Kreipe, H. Posttransplant lymphoproliferative disorder in pediatric patients. *Pathobiology* **2013**, *80*, 289-296.
21. Blaes, A.H.; Cao, Q.; Wagner, J.E.; Young, J.A.; Weisdorf, D.J.; Brunstein, C.G. Monitoring and preemptive rituximab therapy for Epstein-Barr virus reactivation after antithymocyte globulin containing nonmyeloablative conditioning for umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **2010**, *16*, 287-291, doi:10.1016/j.bbmt.2009.10.008.
22. Carpenter, B.; Haque, T.; Dimopoulou, M.; Atkinson, C.; Roughton, M.; Grace, S.; Denovan, S.; Fielding, A.; Kottaridis, P.D.; Griffiths, P., et al. Incidence and dynamics of Epstein-Barr virus reactivation after alemtuzumab-based conditioning for allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* **2010**, *90*, 564-570, doi:10.1097/TP.0b013e3181e7a3bf.
23. Zallio, F.; Primon, V.; Tamiasso, S.; Pini, M.; Baraldi, A.; Corsetti, M.T.; Gotta, F.; Bertassello, C.; Salvi, F.; Rocchetti, A., et al. Epstein-Barr virus reactivation in allogeneic stem cell transplantation is highly related to cytomegalovirus reactivation. *Clin Transplant* **2013**, *27*, E491-497, doi:10.1111/ctr.12172.
24. Effective Public Health Practice Project. Quality Assessment Tool For Quantitative Studies. Hamilton, ON: Effective Public Health Practice Project. Available online: Available from: https://merst.ca/wp-content/uploads/2018/02/quality-assessment-tool_2010.pdf . (accessed on 30/09/2019).
25. Effective Public Health Practice Project. Dictionary for the Effective Public Health Practice Project Quality Assessment Tool For Quantitative Studies. Available online: Available from: https://merst.ca/wp-content/uploads/2018/02/quality-assessment-dictionary_2017.pdf. (accessed on 30/09/2019).

26. Liu, Q.F.; Ling, Y.W.; Fan, Z.P.; Jiang, Q.L.; Sun, J.; Wu, X.L.; Zhao, J.; Wei, Q.; Zhang, Y.; Yu, G.P., et al. Epstein-Barr virus (EBV) load in cerebrospinal fluid and peripheral blood of patients with EBV-associated central nervous system diseases after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* **2013**, *15*, 379-392.
27. Borenstein, M. *Introduction to meta-analysis*; John Wiley & Sons: Chichester, West Sussex, U.K. ; Hoboken, 2009; pp. xxviii, 421 p.
28. Higgins, J.P.; Thompson, S.G.; Deeks, J.J.; Altman, D.G. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* **2003**, *327*, 557-560, doi:10.1136/bmj.327.7414.557.
29. Harrer, M.; Cuijpers, P.; Furukawa, T.; Ebert, D. Doing meta-analysis in R: a hands-on guide. *PROTECT Lab Erlangen* **2019**.
30. Ali, S.; AlThubaiti, S.; Renzi, S.; Krueger, J.; Chiang, K.Y.; Naqvi, A.; Schechter, T.; Punnett, A.; Ali, M. Hemophagocytic lymphohistiocytosis is a sign of poor outcome in pediatric Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant* **2019**, *23*, e13319, doi:https://dx.doi.org/10.1111/petr.13319.
31. Althubaiti, S.; Ali, S.; Renzi, S.; Krueger, J.; Chiang, K.Y.; Schechter, T.; Punnett, A.; Ali, M. Lymphocyte subset at time of Epstein-Barr viremia post-allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children may predict development of post-transplant lymphoproliferative disease: CD8:CD20 ratio as a sensitive predictor. *Pediatr Transplant* **2019**, *23* (8) (no pagination), doi:http://dx.doi.org/10.1111/petr.13574.
32. Atay, D.; Akcay, A.; Erbey, F.; Ozturk, G. The impact of alternative donor types on viral infections in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant* **2018**, *22*, doi:10.1111/petr.13109.
33. Auger, S.; Orsini, M.; Ceballos, P.; Fegueux, N.; Kanouni, T.; Caumes, B.; Klein, B.; Villalba, M.; Rossi, J.F. Controlled Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic transplantation is associated with improved survival. *Eur J Haematol* **2014**, *92*, 421-428, doi:10.1111/ejh.12260.
34. Bogunia-Kubik, K.; Jaskula, E.; Lange, A. The presence of functional CCR5 and EBV reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* **2007**, *40*, 145-150, doi:10.1038/sj.bmt.1705703.
35. Bogunia-Kubik, K.; Mlynarczewska, A.; Jaskula, E.; Lange, A. The presence of IFNG 3/3 genotype in the recipient associates with increased risk for Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* **2005**, *132*, 326-332.
36. Bordon, V.; Padalko, E.; Benoit, Y.; Dhooge, C.; Laureys, G. Incidence, kinetics, and risk factors of Epstein-Barr virus viremia in pediatric patients after allogeneic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant* **2012**, *16*, 144-150, doi:10.1111/j.1399-3046.2011.01634.x.
37. Brunstein, C.G.; Weisdorf, D.J.; DeFor, T.; Barker, J.N.; Tolar, J.; van Burik, J.A.; Wagner, J.E. Marked increased risk of Epstein-Barr virus-related complications with the addition of antithymocyte globulin to a nonmyeloablative conditioning prior to unrelated umbilical cord blood transplantation. *Blood* **2006**, *108*, 2874-2880.

38. Burns, D.M.; Rana, S.; Martin, E.; Nagra, S.; Ward, J.; Osman, H.; Bell, A.I.; Moss, P.; Russell, N.H.; Craddock, C.F., et al. Greatly reduced risk of EBV reactivation in rituximab-experienced recipients of alemtuzumab-conditioned allogeneic HSCT. *Bone Marrow Transplant* **2016**, *51*, 825-832, doi:<https://dx.doi.org/10.1038/bmt.2016.19>.
39. Buyck, H.C.E.; Ball, S.; Junagade, P.; Marsh, J.; Chakrabarti, S. Prior immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin increases the risk of EBV-related lymphoproliferative disorder following allo-SCT for acquired aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplant* **2009**, *43*, 813-816.
40. Cesaro, S.; Murrone, A.; Mengoli, C.; Pillon, M.; Biasolo, M.A.; Calore, E.; Tridello, G.; Varotto, S.; Alaggio, R.; Zanesco, L., et al. The real-time polymerase chain reaction-guided modulation of immunosuppression enables the pre-emptive management of Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* **2004**, *128*, 224-233.
41. Cesaro, S.; Pegoraro, A.; Tridello, G.; Calore, E.; Pillon, M.; Varotto, S.; Abate, D.; Barzon, L.; Mengoli, C.; Carli, M., et al. A prospective study on modulation of immunosuppression for Epstein-Barr virus reactivation in pediatric patients who underwent unrelated hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* **2010**, *89*, 1533-1540.
42. Chiereghin, A.; Prete, A.; Belotti, T.; Gibertoni, D.; Piccirilli, G.; Gabrielli, L.; Pession, A.; Lazzarotto, T. Prospective Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder prevention program in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant: Virological monitoring and first-line treatment. *Transpl Infect Dis* **2016**, *18*, 44-54.
43. Chiereghin, A.; Piccirilli, G.; Belotti, T.; Prete, A.; Bertuzzi, C.; Gibertoni, D.; Gabrielli, L.; Turello, G.; Borgatti, E.C.; Barbato, F., et al. Clinical utility of measuring Epstein-Barr virus-specific cell-mediated immunity after HSCT in addition to virological monitoring: results from a prospective study. *Med Microbiol Immunol* **2019**, *208*, 825-834, doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s00430-019-00629-2>.
44. Christopheit, M.; Janssen, N.; Weber, T.; Bacher, U.; Lautenschlager, C.; Oehme, A.; Kekule, A.S.; Schmoll, H.J. Cyclosporine area under the curve after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an indicator of Epstein-Barr virus DNAemia. *Leuk Lymphoma* **2013**, *54*, 133-137.
45. Cohen, J.; Gandhi, M.; Naik, P.; Cubitt, D.; Rao, K.; Thaker, U.; Davies, E.G.; Gaspar, H.B.; Amrolia, P.J.; Veys, P. Increased incidence of EBV-related disease following paediatric stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Br J Haematol* **2005**, *129*, 229-239.
46. Comoli, P.; Basso, S.; Zecca, M.; Pagliara, D.; Baldanti, F.; Bernardo, M.E.; Barberi, W.; Moretta, A.; Labirio, M.; Paulli, M., et al. Preemptive therapy of EBV-related lymphoproliferative disease after pediatric haploidentical stem cell transplantation. *Am J Transplant* **2007**, *7*, 1648-1655, doi:<https://dx.doi.org/10.1111/j.1600-6143.2007.01823.x>.
47. Czyzewski, K.; Styczynski, J.; Giebel, S.; Fraczkiwicz, J.; Salamonowicz, M.; Zajac-Spychala, O.; Zaucha-Prazmo, A.; Drozd-Sokolowska, J.; Waszczuk-Gajda, A.; Dybko, J., et al. Age-dependent determinants of infectious complications profile in children and adults after hematopoietic cell transplantation: lesson from

- the nationwide study. *Ann Hematol* **2019**, *98*, 2197-2211, doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s00277-019-03755-2>.
48. D'Aveni, M.; Aissi-Rothe, L.; Venard, V.; Salmon, A.; Falenga, A.; Decot, V.; Virion, J.M.; Wang, Y.; Clement, L.; Latger-Cannard, V., et al. The clinical value of concomitant Epstein Barr virus (EBV)-DNA load and specific immune reconstitution monitoring after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Immunol* **2011**, *24*, 224-232.
 49. Dumas, P.Y.; Ruggeri, A.; Robin, M.; Crotta, A.; Abraham, J.; Forcade, E.; Bay, J.O.; Michallet, M.; Bertrand, Y.; Socie, G., et al. Incidence and risk factors of EBV reactivation after unrelated cord blood transplantation: a Eurocord and Societe Francaise de Greffe de Moelle-Therapie Cellulaire collaborative study. *Bone Marrow Transplant* **2013**, *48*, 253-256, doi:[10.1038/bmt.2012.117](https://doi.org/10.1038/bmt.2012.117).
 50. Duver, F.; Weisbrich, B.; Eyrich, M.; Wolfl, M.; Schlegel, P.G.; Wiegering, V. Viral reactivations following hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients - A single center 11-year analysis. *PLoS ONE [Electronic Resource]* **2020**, *15*, e0228451, doi:<https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0228451>.
 51. Elmahdi, S.; Muramatsu, H.; Narita, A.; Torii, Y.; Ismael, O.; Kawashima, N.; Okuno, Y.; Sekiya, Y.; Xu, Y.; Wang, X., et al. Correlation of rabbit antithymocyte globulin serum levels and clinical outcomes in children who received hematopoietic stem cell transplantation from an alternative donor. *Pediatr Transplant* **2016**, *20*, 105-113, doi:[10.1111/ptr.12620](https://doi.org/10.1111/ptr.12620).
 52. Fan, J.; Jing, M.; Yang, M.; Xu, L.; Liang, H.; Huang, Y.; Yang, R.; Gui, G.; Wang, H.; Gong, S., et al. Herpesvirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients seropositive for human cytomegalovirus before transplantation. *International Journal of Infectious Diseases* **2016**, *46*, 89-93.
 53. Figgins, B.; Hammerstrom, A.; Ariza-Heredia, E.; Oran, B.; Milton, D.R.; Yeh, J. Characterization of Viral Infections after Antithymocyte Globulin-Based Conditioning in Adults Undergoing Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **2019**, *25*, 1837-1843, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.05.020>.
 54. Fujimoto, A.; Hiramoto, N.; Yamasaki, S.; Inamoto, Y.; Uchida, N.; Maeda, T.; Mori, T.; Kanda, Y.; Kondo, T.; Shiratori, S., et al. Risk Factors and Predictive Scoring System For Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **2019**, *25*, 1441-1449, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.02.016>.
 55. Gao, X.N.; Lin, J.; Wang, L.J.; Li, F.; Li, H.H.; Wang, S.H.; Huang, W.R.; Gao, C.J.; Yu, L.; Liu, D.H. Risk factors and clinical outcomes of Epstein-Barr virus DNAemia and post-transplant lymphoproliferative disorders after haploidentical and matched-sibling PBSCT in patients with hematologic malignancies. *Ann Hematol* **2019**, *98*, 2163-2177, doi:<https://dx.doi.org/10.1007/s00277-019-03742-7>.
 56. Garcia-Cadenas, I.; Castillo, N.; Martino, R.; Barba, P.; Esquirol, A.; Novelli, S.; Orti, G.; Garrido, A.; Saavedra, S.; Moreno, C., et al. Impact of Epstein Barr virus-related complications after high-risk allo-SCT in the era of pre-emptive rituximab. *Bone Marrow Transplant* **2015**, *50*, 579-584, doi:[10.1038/bmt.2014.298](https://doi.org/10.1038/bmt.2014.298).

57. Han, S.B.; Bae, E.Y.; Lee, J.W.; Jang, P.S.; Lee, D.G.; Chung, N.G.; Jeong, D.C.; Cho, B.; Lee, S.J.; Kang, J.H., et al. Features of Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic hematopoietic cell transplantation in Korean children living in an area of high seroprevalence against Epstein-Barr virus. *Int J Hematol* **2014**, *100*, 188-199.
58. Hiwarkar, P.; Gaspar, H.B.; Gilmour, K.; Jagani, M.; Chiesa, R.; Bennett-Rees, N.; Breuer, J.; Rao, K.; Cale, C.; Goulden, N., et al. Impact of viral reactivations in the era of pre-emptive antiviral drug therapy following allogeneic haematopoietic SCT in paediatric recipients. *Bone Marrow Transplant* **2013**, *48*, 803-808, doi:10.1038/bmt.2012.221.
59. Hoegh-Petersen, M.; Goodyear, D.; Geddes, M.N.; Liu, S.; Ugarte-Torres, A.; Liu, Y.; Walker, J.T.; Fonseca, K.; Daly, A.; Duggan, P., et al. High incidence of post transplant lymphoproliferative disorder after antithymocyte globulin-based conditioning and ineffective prediction by day 28 EBV-specific T lymphocyte counts. *Bone Marrow Transplant* **2011**, *46*, 1104-1112.
60. Hoshino, Y.; Kimura, H.; Tanaka, N.; Tsuge, I.; Kudo, K.; Horibe, K.; Kato, K.; Matsuyama, T.; Kikuta, A.; Kojima, S., et al. Prospective monitoring of the Epstein-Barr virus DNA by a real-time quantitative polymerase chain reaction after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* **2001**, *115*, 105-111.
61. Islam, M.S.; Anoop, P.; Gordon-Smith, E.C.; Rice, P.; Datta-Nemdharry, P.; Marsh, J.C. Epstein-Barr virus infections after allogeneic stem cell transplantation: a comparison between non-malignant and malignant hematological disorders. *Hematol* **2010**, *15*, 344-350, doi:https://dx.doi.org/10.1179/102453310X12647083621047.
62. Issa, H.; Sharma, N.; Zhao, Q.; Ruppert, A.S.; Elder, P.; Benson, D.M.; Penza, S.; Vasu, S.; William, B.; Jaglowski, S., et al. Comparison of Two Doses of Antithymocyte Globulin in Reduced-Intensity Conditioning Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **2019**, *25*, 1993-2001, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.06.014.
63. Kutnik, P.; Kwiatkowska, A.; Krawczyk, D.; Polak, O.; Jawoszek, P.; Puchala, D.; Zaucha-Prazmo, A.; Kowalczyk, J. The impact of donor-recipient sex matching on transplantrelated complications in children after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation - A single-centre, retrospective study. *Pediatr Pol* **2019**, *94*, 158-161, doi:http://dx.doi.org/10.5114/polp.2019.86436.
64. Jaskula, E.; Dlubek, D.; Sedzimirska, M.; Duda, D.; Tarnowska, A.; Lange, A. Reactivations of cytomegalovirus, human herpes virus 6, and Epstein-Barr virus differ with respect to risk factors and clinical outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Proc* **2010**, *42*, 3273-3276.
65. Juvonen, E.; Aalto, S.; Tarkkanen, J.; Volin, L.; Hedman, K.; Ruutu, T. Retrospective evaluation of serum Epstein Barr virus DNA levels in 406 allogeneic stem cell transplant patients. *Haematologica* **2007**, *92*, 819-825.
66. Kalra, A.; Roessner, C.; Jupp, J.; Williamson, T.; Tellier, R.; Chaudhry, A.; Khan, F.; Taparia, M.; Jimenez-Zepeda, V.H.; Stewart, D.A., et al. Risk factors for post-transplant lymphoproliferative disorder after Thymoglobulin-conditioned hematopoietic cell transplantation. *Clin Transplant* **2018**, *32*, 01, doi:https://dx.doi.org/10.1111/ctr.13150.

67. Kullberg-Lindh, C.; Mellgren, K.; Friman, V.; Fasth, A.; Ascher, H.; Nilsson, S.; Lindh, M. Opportunistic virus DNA levels after pediatric stem cell transplantation: serostatus matching, anti-thymocyte globulin, and total body irradiation are additive risk factors. *Transpl Infect Dis* **2011**, *13*, 122-130.
68. Laberko, A.; Bogoyavlenskaya, A.; Shelikhova, L.; Shekhovtsova, Z.; Balashov, D.; Voronin, K.; Kurnikova, E.; Boyakova, E.; Raykina, E.; Brilliantova, V., et al. Risk Factors for and the Clinical Impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Pediatric Recipients of TCR-alpha/beta- and CD19-Depleted Grafts. *Biol Blood Marrow Transplant* **2017**, *23*, 483-490, doi:10.1016/j.bbmt.2016.12.635.
69. Landgren, O.; Gilbert, E.S.; Rizzo, J.D.; Socie, G.; Banks, P.M.; Sobocinski, K.A.; Horowitz, M.M.; Jaffe, E.S.; Kingma, D.W.; Travis, L.B., et al. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* **2009**, *113*, 4992-5001.
70. Li, S.; Wang, B.; Fu, L.; Pang, Y.; Zhu, G.; Zhou, X.; Ma, J.; Su, Y.; Qin, M.; Wu, R. Hematopoietic stem cell transplantation without in vivo T-cell depletion for pediatric aplastic anemia: A single-center experience. *Pediatr Transplant* **2018**, *22*, e13204.
71. Lin, R.; Wang, Y.; Huang, F.; Fan, Z.; Zhang, S.; Yang, T.; Xu, Y.; Xu, N.; Xuan, L.; Ye, J., et al. Two dose levels of rabbit antithymocyte globulin as graft-versus-host disease prophylaxis in haploidentical stem cell transplantation: a multicenter randomized study. *BMC Medicine* **2019**, *17*, 156, doi:https://dx.doi.org/10.1186/s12916-019-1393-7.
72. Liu, J.; Gao, H.; Xu, L.P.; Mo, X.D.; Liu, R.; Liang, S.; Wu, N.; Wang, M.; Wang, Z.; Chang, Y.J., et al. Immunosuppressant indulges EBV reactivation and related lymphoproliferative disease by inhibiting Vdelta2⁺ T cells activities after hematopoietic transplantation for blood malignancies. *J Immunother Cancer* **2020**, *8* (1) (no pagination), doi:http://dx.doi.org/10.1136/jitc-2019-000208.
73. Liu, Q.; Xuan, L.; Liu, H.; Huang, F.; Zhou, H.; Fan, Z.; Zhao, K.; Wu, M.; Xu, L.; Zhai, X., et al. Molecular monitoring and stepwise preemptive therapy for Epstein-Barr virus viremia after allogeneic stem cell transplantation. *Am J Hematol* **2013**, *88*, 550-555.
74. Liu, J.; Bian, Z.; Wang, X.; Xu, L.P.; Fu, Q.; Wang, C.; Chang, Y.J.; Wang, Y.; Zhang, X.H.; Jiang, Z., et al. Inverse correlation of Vdelta2(+) T-cell recovery with EBV reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* **2018**, *180*, 276-285, doi:10.1111/bjh.15037.
75. Marinho-Dias, J.; Baldaque, I.; Pinho-Vaz, C.; Leite, L.; Branca, R.; Campilho, F.; Campos, A.; Medeiros, R.; Sousa, H. Association of Epstein-Barr virus infection with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients in Portugal. *Mol Med Rep* **2019**, *19*, 1435-1442, doi:http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2018.9794.
76. Meijer, E.; Dekker, A.W.; Lokhorst, H.M.; Petersen, E.J.; Nieuwenhuis, H.K.; Verdonck, L.F. Low incidence of infectious complications after nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* **2004**, *6*, 171-178.
77. Mountjoy, L.; Jain, T.; Kunze, K.L.; Khera, N.; Sproat, L.Z.; Jennifer, W.; McCallen, M.; Leis, J.F.; Noel, P.; Slack, J.L., et al. Clinical outcomes with low

- dose anti-thymocyte globulin in patients undergoing matched unrelated donor allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Leuk Lymphoma* **2020**, <http://dx.doi.org/10.1080/10428194.2020.1747067>, doi:<http://dx.doi.org/10.1080/10428194.2020.1747067>.
78. Neumann, T.; Schneidewind, L.; Thiele, T.; Pink, D.; Schulze, M.; Schmidt, C.; Krüger, W. No indication of increased infection rates using low-dose alemtuzumab instead of anti-thymocyte globulin as graft-versus-host disease prophylaxis before allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* **2018**, *20*, e12822.
79. Nowak, J.; Gwozdowicz, S.; Graczyk-Pol, E.; Mika-Witkowska, R.; Rogatko-Koros, M.; Nestorowicz, K.; Szlendak, U.; Malinowska, A.; Kaczmarek, B.; Nasilowska-Adamska, B., et al. Epstein-Barr virus infections are strongly dependent on activating and inhibitory KIR-HLA pairs after T-cell replate unrelated hematopoietic stem cell transplantation, the principles, and method of pairing analysis. *Hla* **2019**, *94*, 40-48, doi:<http://dx.doi.org/10.1111/tan.13770>.
80. Omar, H.; Hagglund, H.; Gustafsson-Jernberg, A.; LeBlanc, K.; Mattsson, J.; Remberger, M.; Ringden, O.; Sparrelid, E.; Sundin, M.; Winiarski, J., et al. Targeted monitoring of patients at high risk of post-transplant lymphoproliferative disease by quantitative Epstein-Barr virus polymerase chain reaction. *Transpl Infect Dis* **2009**, *11*, 393-399.
81. Pagliuca, S.; Bommier, C.; Michonneau, D.; Meignin, V.; Salmona, M.; Robin, M.; Prata, P.H.; Xhaard, A.; de Fontbrune, F.S.; Feghoul, L., et al. Epstein-Barr Virus-Associated Post-Transplantation Lymphoproliferative Disease in Patients Who Received Anti-CD20 after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **2019**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.08.006>, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.08.006>.
82. Park, J.; Lim, S.H.; Kim, S.H.; Yun, J.; Kim, C.K.; Lee, S.C.; Won, J.H.; Hong, D.S.; Park, S.K. Is immunological recovery clinically relevant at 100 days after allogeneic transplantation? *Korean J Intern Med*. **2020**, *21*, doi:<http://dx.doi.org/10.3904/kjim.2018.414>.
83. Peric, Z.; Cahu, X.; Chevaller, P.; Brissot, E.; Malard, F.; Guillaume, T.; Delaunay, J.; Ayari, S.; Dubruille, V.; Le Gouill, S., et al. Features of EBV reactivation after reduced intensity conditioning unrelated umbilical cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* **2012**, *47*, 251-257, doi:10.1038/bmt.2011.64.
84. Peric, Z.; Cahu, X.; Chevaller, P.; Brissot, E.; Malard, F.; Guillaume, T.; Delaunay, J.; Ayari, S.; Dubruille, V.; Le Gouill, S., et al. Features of Epstein-Barr Virus (EBV) reactivation after reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia* **2011**, *25*, 932-938, doi:<https://dx.doi.org/10.1038/leu.2011.26>.
85. Ru, Y.; Zhang, X.; Song, T.; Ding, Y.; Zhu, Z.; Fan, Y.; Xu, Y.; Sun, A.; Qiu, H.; Jin, Z., et al. Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: multifactorial impact on transplant outcomes. *Bone Marrow Transplant*. **2020**, <http://dx.doi.org/10.1038/s41409-020-0831-7>, doi:<http://dx.doi.org/10.1038/s41409-020-0831-7>.
86. Rustia, E.; Violago, L.; Jin, Z.; Foca, M.D.; Kahn, J.M.; Arnold, S.; Sosna, J.; Bhatia, M.; Kung, A.L.; George, D., et al. Risk Factors and Utility of a Risk-Based Algorithm for Monitoring Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus

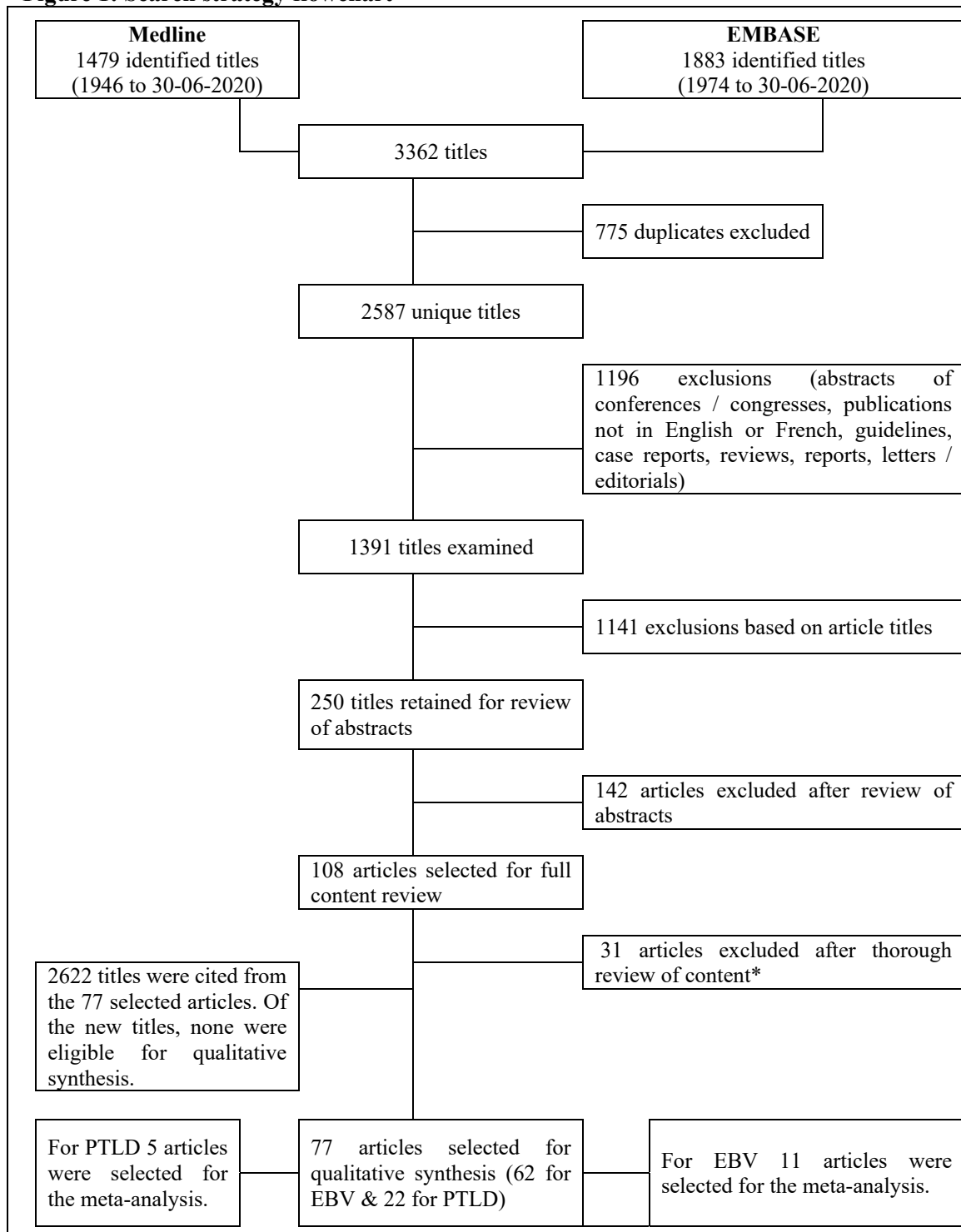
- Infections in Pediatric Recipients after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **2016**, *22*, 1646-1653.
87. Sanz, J.; Arango, M.; Senent, L.; Jarque, I.; Montesinos, P.; Sempere, A.; Lorenzo, I.; Martin, G.; Moscardo, F.; Mayordomo, E., et al. EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disorder after umbilical cord blood transplantation in adults with hematological diseases. *Bone Marrow Transplant* **2014**, *49*, 397-402, doi:<https://dx.doi.org/10.1038/bmt.2013.190>.
 88. Sirvent-Von Bueltzingsloewen, A.; Morand, P.; Buisson, M.; Souillet, G.; Chambost, H.; Bosson, J.L.; Bordigoni, P. A prospective study of Epstein-Barr virus load in 85 hematopoietic stem cell transplants. *Bone Marrow Transplant* **2002**, *29*, 21-28.
 89. Styczynski, J.; Gil, L.; Tridello, G.; Ljungman, P.; Donnelly, J.P.; Van Der Velden, W.; Omar, H.; Martino, R.; Halkes, C.; Faraci, M., et al. Response to rituximab-based therapy and risk factor analysis in Epstein-Barr virus-related lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplant in children and adults: A study from the infectious diseases working party of the European group for blood and marrow transplantation. *Clin Infect Dis* **2013**, *57*, 794-802.
 90. Torre-Cisneros, J.; Roman, J.; Torres, A.; Herrera, C.; Caston, J.J.; Rivero, A.; Mingot, E.; Rojas, R.; Martin, C.; Martinez, F., et al. Control of Epstein-Barr virus load and lymphoproliferative disease by maintenance of CD8+ T lymphocytes in the T lymphocyte-depleted graft after bone marrow transplantation. *J Infect Dis* **2004**, *190*, 1596-1599.
 91. Trottier, H.; Buteau, C.; Robitaille, N.; Duval, M.; Tucci, M.; Lacroix, J.; Alfieri, C. Transfusion-related Epstein-Barr virus infection among stem cell transplant recipients: A retrospective cohort study in children. *Transfusion* **2012**, *52*, 2653-2663.
 92. Tsoumakas, K.; Giamaïou, K.; Goussetis, E.; Graphakos, S.; Kossyvakis, A.; Horefti, E.; Mentis, A.; Elefsiniotis, I.; Pavlopoulou, I.D. Epidemiology of viral infections among children undergoing hematopoietic stem cell transplant: Alpha prospective single-center study. *Transpl Infect Dis* **2019**, *21*, e13095, doi:<https://dx.doi.org/10.1111/tid.13095>.
 93. Uhlin, M.; Wikell, H.; Sundin, M.; Blennow, O.; Maeurer, M.; Ringden, O.; Winiarski, J.; Ljungman, P.; Remberger, M.; Mattsson, J. Risk factors for Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* **2014**, *99*, 346-352, doi:10.3324/haematol.2013.087338.
 94. Van Der Velden, W.J.F.M.; Mori, T.; Stevens, W.B.C.; De Haan, A.F.J.; Stelma, F.F.; Blijlevens, N.M.A.; Donnelly, J.P. Reduced PTLTD-related mortality in patients experiencing EBV infection following allo-SCT after the introduction of a protocol incorporating pre-emptive rituximab. *Bone Marrow Transplant* **2013**, *48*, 1465-1471.
 95. Van Esser, J.W.J.; Van Der Holt, B.; Meijer, E.; Niesters, H.G.M.; Trenchel, R.; Thijsen, S.F.T.; Van Loon, A.M.; Frassoni, F.; Bacigalupo, A.; Schaefer, U.W., et al. Epstein-Barr virus (EBV) reactivation is a frequent event after allogeneic stem cell transplantation (SCT) and quantitatively predicts EBV-lymphoproliferative disease following T-cell-depleted SCT. *Blood* **2001**, *98*, 972-978.

96. Wang, H.; Zhang, T.T.; Qi, J.Q.; Chu, T.T.; Miao, M.; Qiu, H.Y.; Fu, C.C.; Tang, X.W.; Ruan, C.G.; Wu, D.P., et al. Incidence, risk factors, and clinical significance of Epstein-Barr virus reactivation in myelodysplastic syndrome after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol* **2019**, *98*, 987-996, doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s00277-019-03603-3>.
97. Xu, L.P.; Zhang, C.L.; Mo, X.D.; Zhang, X.H.; Chen, H.; Han, W.; Chen, Y.H.; Wang, Y.; Yan, C.H.; Wang, J.Z., et al. Epstein-Barr Virus-Related Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder after Unmanipulated Human Leukocyte Antigen Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Incidence, Risk Factors, Treatment, and Clinical Outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant* **2015**, *21*, 2185-2191.
98. Xuan, L.; Huang, F.; Fan, Z.; Zhou, H.; Zhang, X.; Yu, G.; Zhang, Y.; Liu, C.; Sun, J.; Liu, Q. Effects of intensified conditioning on Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies. *J Hematol Oncol* **2012**, *5* (no pagination).
99. Yu, X.X.; Cao, X.H.; Yan, H.; Luo, X.Y.; Zhao, X.S.; Sun, Y.Q.; Wang, Y.; Xu, L.P.; Zhang, X.H.; Chang, Y.J., et al. Delay expression of NKp30 on NK cells correlates with long-term mycophenolate mofetil treatment and higher EBV viremia post allogeneic hematological stem cells transplantation. *Clin Immunol* **2019**, *205*, 49-56, doi:<https://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2019.05.010>.
100. Zhou, L.; Gao, Z.Y.; Lu, D.P. Incidence, risk factors, and clinical outcomes associated with Epstein-Barr virus-DNAemia and Epstein-Barr virus-associated disease in patients after haploidentical allogeneic stem cell transplantation: A single-center study. *Clin Transplant* **2020**, *34* (6) (no pagination), doi:<http://dx.doi.org/10.1111/ctr.13856>.
101. Zhou, L.; Gao, Z.Y.; Lu, D.P. Comparison of ATG-thymoglobulin with ATG-Fresenius for Epstein-Barr virus infections and graft-versus-host-disease in patients with hematological malignancies after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: a single-center experience. *Ann Hematol* **2020**, *99*, 1389-1400, doi:<https://dx.doi.org/10.1007/s00277-020-04014-5>.
102. Sundin, M.; Le Blanc, K.; Ringden, O.; Barkholt, L.; Omazic, B.; Lergin, C.; Levitsky, V.; Remberger, M. The role of HLA mismatch, splenectomy and recipient Epstein-Barr virus seronegativity as risk factors in post-transplant lymphoproliferative disorder following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* **2006**, *91*, 1059-1067.
103. Hoegh-Petersen, M.; Amin, M.; Liu, Y.; Ugarte-Torres, A.; Williamson, T.; Podgorny, P.; Russell, J.; Grigg, A.; Ritchie, D.; Storek, J. Anti-thymocyte globulins capable of binding to T and B cells reduce graft-vs-host disease without increasing relapse. *Bone marrow transplant* **2013**, *48*, 105-114.
104. Mohty, M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia* **2007**, *21*, 1387-1394.
105. Kekre, N.; Antin, J.H. ATG in allogeneic stem cell transplantation: standard of care in 2017? Counterpoint. *Blood Adv* **2017**, *1*, 573-576.
106. Ram, R.; Storb, R. Pharmacologic prophylaxis regimens for acute graft-versus-host disease: past, present and future. Taylor & Francis: 2013.

107. Shimabukuro-Vornhagen, A.; Hallek, M.J.; Storb, R.F.; von Bergwelt-Baildon, M.S. The role of B cells in the pathogenesis of graft-versus-host disease. *Blood* **2009**, *114*, 4919-4927.
108. Zeiser, R.; Blazar, B.R. Acute graft-versus-host disease—biologic process, prevention, and therapy. *N Engl J Med* **2017**, *377*, 2167-2179.
109. Société Française de Greffe de Moelle et Thérapie cellulaire. Greffe de cellules souches hématopoïétiques: Livret d'information et d'aide à la décision à l'usage des patients. 2013.
110. Andréoli, A.L.; de Latour, R.P.; Thépot, S.; Socié, G. La maladie chronique du greffon contre l'hôte. *Hématologie* **2010**, *16*, 420-429.
111. Čičkušić, E.; Mustedanagić-Mujanović, J.; Iljazović, E.; Karasalihović, Z.; Škaljić, I. Association of Hodgkin's lymphoma with Epstein Barr virus infection. *Bosn J Basic Med Sci* **2007**, *7*, 58.
112. Glaser, S.L.; Lin, R.J.; Stewart, S.L.; Ambinder, R.F.; Jarrett, R.F.; Brousset, P.; Pallesen, G.; Gulley, M.L.; Khan, G.; O'Grady, J. Epstein-Barr virus-associated Hodgkin's disease: epidemiologic characteristics in international data. *Int J Cancer* **1997**, *70*, 375-382.
113. Hakim, H.; Gibson, C.; Pan, J.; Srivastava, K.; Gu, Z.; Bankowski, M.J.; Hayden, R.T. Comparison of various blood compartments and reporting units for the detection and quantification of Epstein-Barr virus in peripheral blood. *J Clin Microbiol* **2007**, *45*, 2151-2155, doi:10.1128/JCM.02308-06.
114. Greenfield, H.M.; Gharib, M.I.; Turner, A.J.; Guiver, M.; Carr, T.; Will, A.M.; Wynn, R.F. The impact of monitoring Epstein-Barr virus PCR in paediatric bone marrow transplant patients: can it successfully predict outcome and guide intervention? *Pediatr Blood Cancer* **2006**, *47*, 200-205, doi:10.1002/pbc.20604.

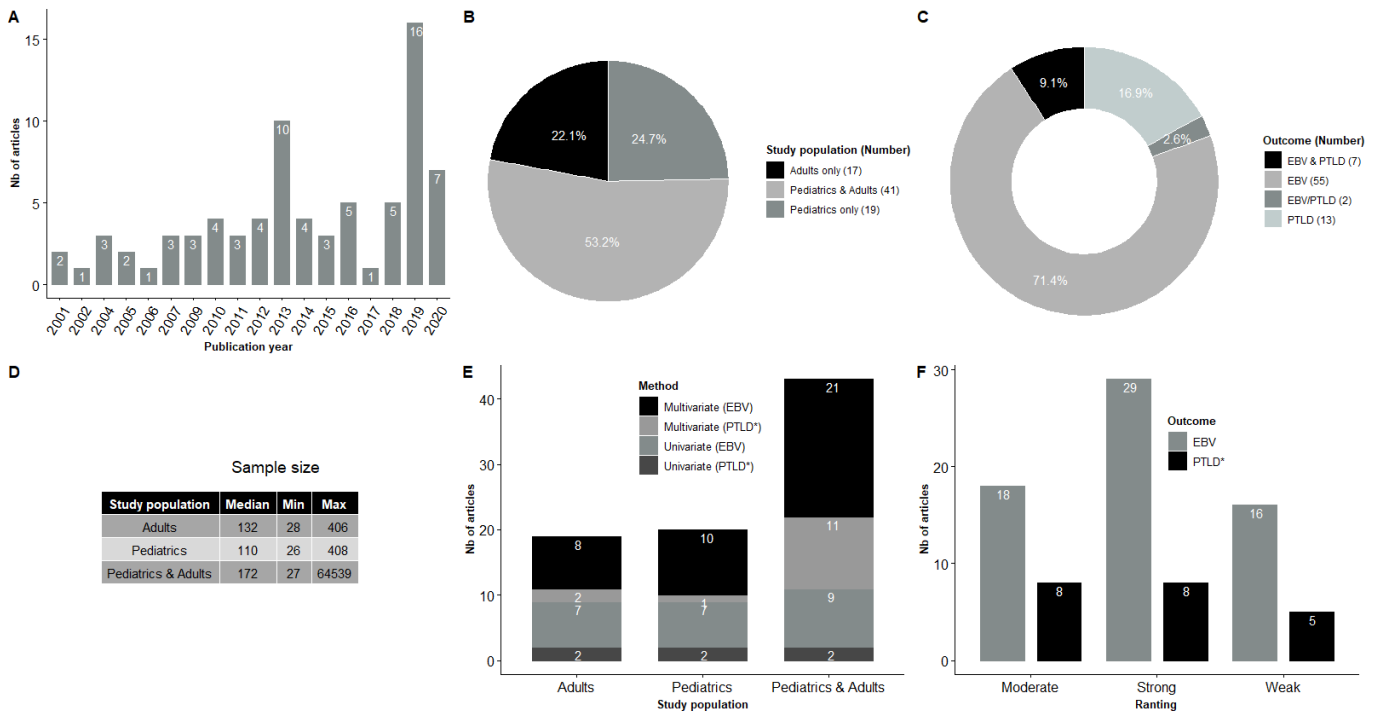
Figures

Figure 1: Search strategy flowchart



*The reasons for exclusion of these articles were as follows: Two articles were excluded because their sample is a subset of the sample from two other articles. There was no univariate or multivariate statistical analysis for the identification of risk factors for post-transplant active EBV infection or PTLD in 26 articles and in three articles EBV post-transplant infection was combined with other viral infections in a single variable.

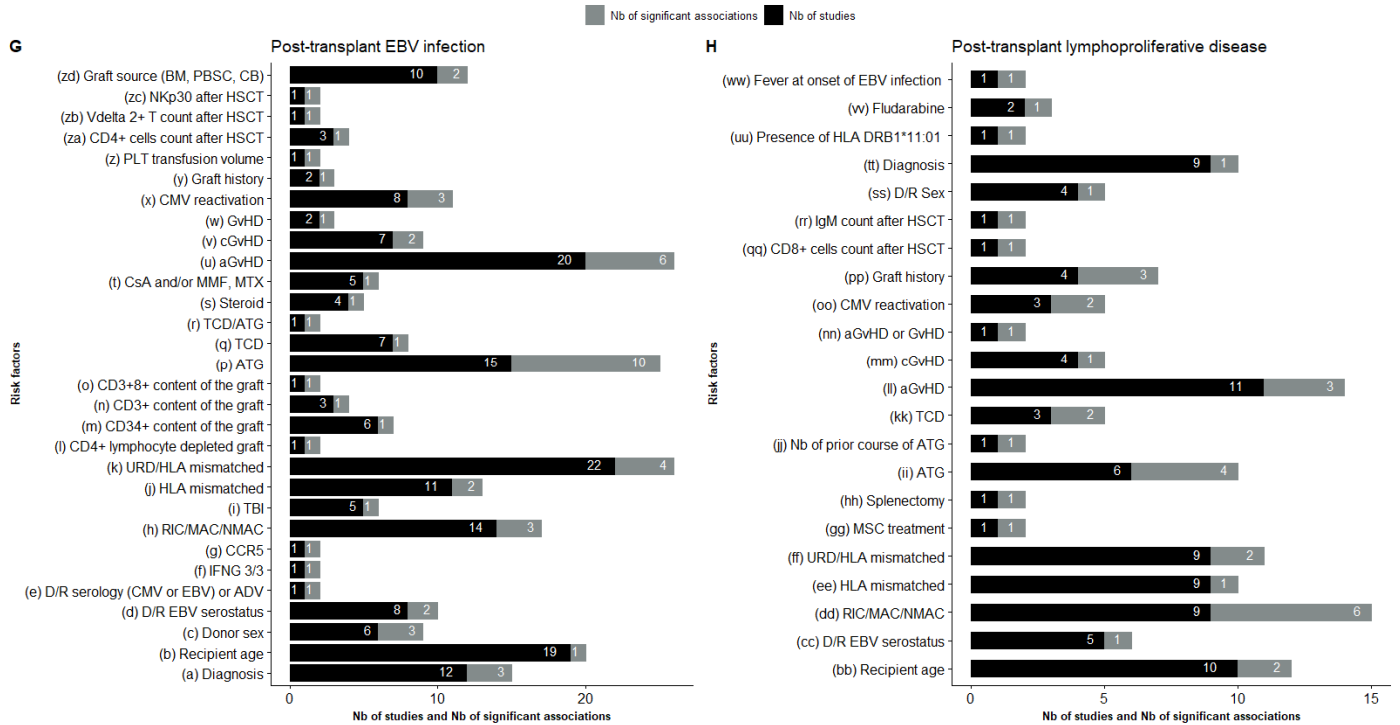
Figure 2: Summary of some characteristics of the studies included in the systematic review



EBV & PTLTD : The two outcomes were studied separately in the same article; **EBV/PTLD**: The two outcomes were combined into one.

*Studies with the outcome PTLTD/EBV and the studies with outcome PTLTD were considered together.

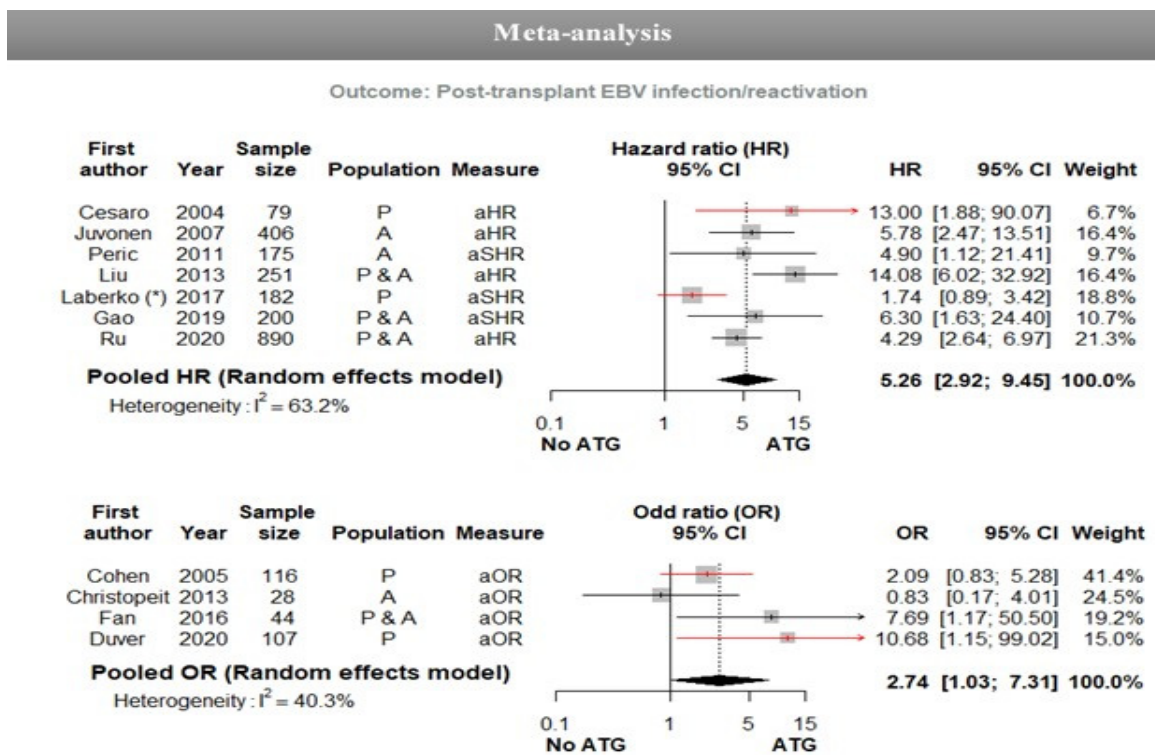
Figure 3: Summary of risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the studies that controlled for confounding



Abbreviations:

ADV: Adenovirus; **aGvHD:** acute graft-versus-host disease; **ATG:** anti-thymocyte globulin; **BM:** bone marrow; **CB:** cord blood; **CCR5:** C-C chemokine receptor 5; **cGvHD:** chronic graft-versus-host disease; **CMV:** cytomegalovirus; **CsA:** cyclosporine A; **D/R:** donor/recipient; **GvHD:** graft-versus-host disease **HLA:** human leukocyte antigen; **HSCT:** hematopoietic stem cell transplantation; **IFNG:** Interferon- γ gene; **MAC:** myeloablative conditioning; **MMF:** mycophenolate mofetil; **MSC:** mesenchymal stromal cells; **MTX:** methotrexate; **NK:** natural killer cells; **NMAC:** Nonmyeloablative conditioning; **PBSC:** peripheral blood stem cells; **PLT:** platelets; **RIC:** reduced-intensity conditioning; **TBI:** total body irradiation; **TCD:** T-cell depletion; **URD:** unrelated donor

Figure 4: Forest plots for the association between ATG use and post-transplant EBV infection according to studies estimating adjusted HR/SHR and adjusted OR.



Sensitivity analysis

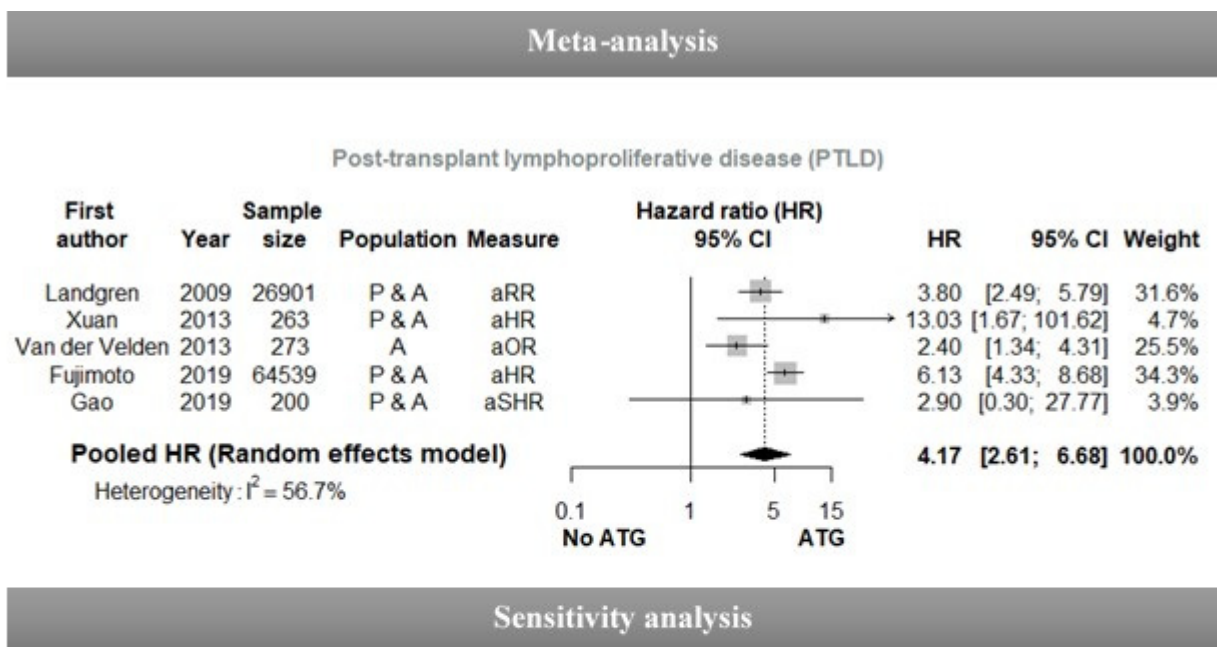
Pooled estimates obtained after one-study-removed in meta-analysis and measure of heterogeneity

Study omitted	Pooled aHR/aSHR			Pooled aOR			
	HR	95% CI	I^2	OR	95% CI	I^2	
Laberko 2017	6.49	3.99-10.56	0.22	Christopeit 2013	4.00	1.31-12.19	0.28
Liu 2013	4.13	2.46-6.93	0.41	Duver 2020	2.11	0.90-4.95	0.37
Cesaro 2004	4.93	2.67-9.09	0.67	Fan 2016	2.07	0.85-5.07	0.41
Juvonen 2007	5.24	2.60-10.57	0.69	Cohen 2005	3.61	0.69-18.92	0.58
Gao 2019	5.19	2.68-10.04	0.69				
Ru 2020	5.64	2.73-11.66	0.69				
Peric 2011	5.35	2.78-10.33	0.69				

(*) In the study by Laberko et al., two estimates of the hazard ratio (HR) of the association between the use of ATG and post-transplant EBV infection were reported, corresponding to the use of Horse ATG on the one hand and Rabbit ATG on the other. These two HRs were combined using a meta-analysis with inverse variance as a method. The results obtained were used to carry out the meta-analysis including the other studies.

Abbreviations: **OR**: odd ratio; **HR**: Hazard ratio; **SHR**: subhazard ratio; **CI**: confidence intervals; **ATG**: anti-thymocyte globulin.

Figure 5: Forest plots for the association between ATG use and post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD)



Sensitivity analysis

Pooled estimates obtained after one-study-removed in meta-analysis and measure of heterogeneity

Study omitted	HR	95% CI	I^2
Fujimoto 2019	3.34	2.25-4.97	0.09
Van der Velden	5.02	3.30-7.64	0.25
Xuan 2013	3.94	2.41-6.44	0.63
Landgren 2009	4.37	2.14-8.91	0.64
Gao 2019	4.24	2.58-6.98	0.67

Abbreviations: **OR**: odd ratio; **HR**: Hazard ratio; **SHR**: subhazard ratio; **CI**: confidence intervals; **ATG**: anti-thymocyte globulin.

Table 1: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country	Study type	Study population	Sample size	Outcome	Median (range) of follow-up	Statistical analysis	Overall rating (Table S2)
Ali, 2019[30]	Canada	Retrospective	P	408	PTLD	NR	Univariate	Weak
Althubaiti, 2019[31]	Canada	Retrospective	P	26	PTLD	NR	Univariate	Weak
Atay, 2018[32]	Turkey	Retrospective	P	171	EBV [±]	14 months	Univariate	Weak
Auger, 2014[33]	France	Retrospective	A	190	EBV	36.6 months (95% IC 31.5 -45.7)	Multivariate	Weak
Bogunia-Kubik, 2007[34]	Poland	Retrospective	P & A	92	EBV	NR	Multivariate	Strong
Bogunia-Kubik, 2005[35]	Poland	Retrospective	P & A	83	EBV	NR	Multivariate	Strong
Bordon, 2012[36]	Belgium	Retrospective	P	80	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Brunstein, 2006[37]	USA	Multicenter retrospective	P & A	335	EBV/PTLD	1.2 (77 days-9.2 years)	Multivariate	Moderate
Burns, 2016[38]	United Kingdom	Retrospective	P & A	186	EBV	28 months	Multivariate	Strong
Buyck, 2009[39]	United Kingdom	Retrospective	P & A	87	PTLD	NR	Multivariate	Moderate
Carpenter, 2010[22]	United Kingdom	Retrospective	P & A	111 ^a	EBV	2.4 years	Multivariate	Strong
Cesaro, 2004[40]	Italy	Retrospective	P	79 ^b	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Cesaro, 2010[41]	Italy	Retrospective	P	89	EBV	NR	Univariate	Weak
Chiereghin, 2016[42]	Italy	Prospective	P	28	EBV	7.1 months	Univariate	Weak
Chiereghin, 2019[43]	Italy	Prospective	P & A	51	EBV	NR	Univariate	Weak
Christopeit, 2013[44]	USA	Retrospective	A	28 ^c	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Cohen, 2005[45]	United Kingdom	Prospective	P	128	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Cohen, 2005[45]	United Kingdom	Prospective	P	128	PTLD	NR	Multivariate	Moderate
Comoli, 2007[46]	Italy	Prospective	P & A	27	EBV	23 months	Univariate	Weak
Czyżewski, 2019[47]	Poland	Retrospective multicenter study	P & A	1569	EBV	NR	Univariate	Weak
D'Aveni, 2011[48]	France	Retrospective	P & A	40 ^d	EBV	NR	Univariate	Weak
Dumas, 2013[49]	France	Multicenter retrospective	P & A	175	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Düver, 2020[50]	Germany	Retrospective	P	107	EBV	365 (range: 22-365) days	Multivariate	Strong
Elmahdi, 2016[51]	Japan	Retrospective	P	37	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Fan, 2016[52]	China	Retrospective	P & A	44 ^e	EBV [±]	NR	Multivariate	Moderate
Figgins, 2019[53]	USA	Retrospective	A	123	EBV	12.8 (range: 1.0-23.1) months	Univariate	Weak
Fujimoto, 2019[54]	Japan	Multicenter retrospective	P & A	64539	PTLD	NR	Multivariate	Strong
Gao, 2019[55]	China	Retrospective	P & A	200	EBV	NR	Multivariate	Strong
Gao, 2019[55]	China	Retrospective	P & A	200	PTLD	NR	Multivariate	Strong
Garcia-Cadenas, 2015[56]	Spain	Prospective	A	93	EBV	NR	Multivariate	Strong
Garcia-Cadenas, 2015[56]	Spain	Prospective	A	93	PTLD	NR	Multivariate	Strong

Table 1: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country	Study type	Study population	Sample size	Outcome	Median (range) of follow-up	Statistical analysis	Overall rating (Table S2)
Han, 2014[57]	Korea	Retrospective	P	248	EBV	NR	Univariate	Weak
Hiwarkar, 2013[58]	United Kingdom	Retrospective	P	278	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Hoegh-Petersen, 2011[59]	Canada	Retrospective	A	307	PTLD	375 (28-1727) days	Univariate	Weak
Hoshino, 2001[60]	Japan	Prospective	P & A	38	EBV	NR	Univariate	Weak
Islam, 2010[61]	United Kingdom	Retrospective	P & A	83	EBV	4.2 (0.9-8.1) years	Univariate	Weak
Issa, 2019[62]	USA	Retrospective	A	357	EBV	NR	Univariate	Weak
Kutnik, 2019[63]	Poland	Retrospective	P	198	EBV	12 months	Univariate	Weak
Jaskula, 2010[64]	Poland	Prospective	P & A	102	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Juvonen, 2007[65]	Finland	Retrospective	A	406	EBV	NR	Multivariate	Strong
Kalra, 2018[66]	Canada	Retrospective	P & A	554	PTLD	509 days	Multivariate	Strong
Kullberg-Lindh, 2015[67]	Sweden	Retrospective	P	47	EBV	NR	Multivariate	Strong
Laberko, 2017[68]	Russia	Retrospective	P	182	EBV	27 months	Multivariate	Strong
Landgren, 2009[69]	CIBMTR	Multicenter retrospective	P & A	26901	PTLD	>12 months	Multivariate	Strong
Li, 2018[70]	China	Retrospective	P	62	EBV [±]	32.5 (0.5- 132) months	Univariate	Weak
Lin, 2019[71]	China	Multicenter randomized study	P & A	408	EBV	NR	Multivariate	Strong
Liu, 2020[72]	China	Prospective	A	170	EBV	NR	Multivariate	Strong
Liu, 2020[72]	China	Prospective	A	170	PTLD	NR	Univariate	Weak
Liu, 2013[73]	China	Prospective	P & A	251 ^f	EBV	327 (27-1408) days	Multivariate	Strong
Liu, 2013[26]	China	Prospective	P & A	172	EBV	495 (45-1158) days	Multivariate	Strong
Liu, 2013[26]	China	Prospective	P & A	172	PTLD	495 (45-1158) days	Multivariate	Strong
Liu, 2018[74]	China	Prospective	A	132	EBV	NR	Univariate [‡]	Strong
Marinho-Dias, 2019[75]	Portugal	Prospective	P & A	40	EBV	>120 days	Multivariate	Strong
Meijer, 2004[76]	Netherlands	Prospective	A	78 ^g	EBV	(6-32) months	Univariate	Weak
Mountjoy, 2020[77]	USA	Retrospective	A	209	EBV	Non-ATG group 677 (7-3147) days ATG group 504 (33-2156) days	Univariate	Weak
Neumann, 2018[78]	Germany	Case-control	A	44	EBV [±]	NR	Univariate [§]	Strong
Nowak, 2019[79]	Poland	Retrospective	P & A	239	EBV	2.1 (0.2-67.8) months	Univariate	Weak
Omar, 2009[80]	Sweden	Prospective	P & A	131	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Pagliuca, 2019[81]	France	Retrospective	P & A	208	PTLD	47.33 (3.18-126.20) months	Multivariate	Strong
Park, 2020[82]	Korea	Retrospective	P & A	114	EBV	NR	Univariate	Weak
Patriarca, 2013[4]	Italy	Prospective	A	100 ^h	EBV	7 (2-36) months	Multivariate	Strong

Table 1: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country	Study type	Study population	Sample size	Outcome	Median (range) of follow-up	Statistical analysis	Overall rating (Table S2)
Peric, 2012[83]	France	Retrospective	A	33	EBV	468 (92-1277) days	Univariate	Weak
Peric, 2011[84]	France	Retrospective	A	175	EBV	655 (92-1542) days	Multivariate	Strong
Ru, 2020[85]	China	Retrospective	P & A	890	EBV	NR	Multivariate	Strong
Rustia, 2016[86]	USA	Retrospective	P	140	EBV	NR	Univariate	Weak
Sanz, 2014[87]	Spain	Retrospective	P & A	288	EBV	> 6 months	Multivariate	Strong
Sanz, 2014[87]	Spain	Retrospective	P & A	288	PTLD	> 6 months	Multivariate	Strong
Sirvent-von Buelzingsloewen, 2002[88]	France	Multicenter prospective	P & A	85 ⁱ	EBV	306 (26-867) days	Multivariate	Strong
Styczynski, 2013[89]	EBMT	Multicenter retrospective	P & A	4466	PTLD	NR	Univariate	Weak
Torre-Cisneros, 2004[90]	Spain	Prospective	P & A	100 ^j	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Trottier, 2012[91]	Canada	Retrospective	P	238	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Tsoumakas, 2019[92]	Greece	Prospective	P	110	EBV	≥1 year	Multivariate	Strong
Uhlin, 2014[93]	Sweden	Retrospective	P & A	1021	PTLD	NR	Multivariate	Strong
Van der Velden, 2013[94]	Netherlands	Retrospective	A	273	EBV/PTLD	≥ 6 months	Multivariate	Moderate
Van Esser, 2001[95]	Italy, Germany, Netherlands	Multicenter prospective	P & A	152	EBV	NR	Multivariate	Strong
Van Esser, 2001[95]	Italy, Germany, Netherlands	Multicenter prospective	P & A	152	PTLD	NR	Multivariate	Strong
Wang, 2019[96]	China	Retrospective	P & A	186	EBV	NR	Multivariate	Strong
Xu, 2015[97]	China	Case-control	P & A	180	PTLD	NR	Multivariate	Strong
Xuan, 2012[98]	China	Prospective	P & A	185	EBV	319 (27-1194) days	Multivariate	Strong
Xuan, 2013[16]	China	Prospective	P & A	263	PTLD	374 (27-1554) days	Multivariate	Strong
Yu, 2019[99]	China	Prospective	P & A	90	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Zallio, 2013[23]	Italy	Prospective	A	100	EBV	NR	Multivariate	Moderate
Zhou, 2020[100]	China	Retrospective	P & A	131	EBV	59.2 (range: 2.03-113.8) months	Multivariate	Strong
Zhou, 2020[101]	China	Retrospective	P & A	160	PTLD	64.7 (range: 2.03-113.8) months	Univariate	Weak

^aAlemtuzumab has been considered in the conditioning protocol of all patients and only patients with at least 6 months of follow-up were considered.
^bAlmost all patients received the standard conditioning regimen.
^cAll of these patients had positive EBV serology, survived beyond 40 days and received cyclosporine beyond 30 days post-transplant.
^dOf the 40 patients, 5 were excluded: 3 because of related early transplant mortality and 2 due to relapse before 60 days of follow-up.
^eAll patients in the study had positive CMV serology and negative PCR tests for herpes viruses (EBV, CMV, and HHV-6) one week after transplantation.
^fAll patients had a negative EBV PCR test at the start of follow-up.
^gAll except 1 (receiving bone marrow), received a peripheral blood stem cell graft.
^hAll patients had a follow-up duration > 30 days post-transplant.
ⁱFive patients with post-transplant lymphoproliferative syndrome were excluded. Analysis of risk factors for EBV reactivation concerns 80 patients.
^jAll patients had positive EBV serology before transplantation.
^kThe individuals were matched according to the variables age, diagnosis, and conditioning regimen.
^lChi 2 test and Mann-Whitney U test were used to verify that the distributions of potential confounding factors were not significantly different.
^mThe outcome has not been explicitly defined.

Table 1: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country	Study type	Study population	Sample size	Outcome	Median (range) of follow-up	Statistical analysis	Overall rating (Table S2)
Abbreviation: ATG: anti-thymocyte globulin; CIBMTR: Center for International Blood and Marrow Transplant Research; EBV: Epstein-Barr virus; EMBT: European Group for Blood and Marrow Transplantation; NR: not reported; P: Pediatrics; P & A: Pediatrics & adults; PTLD: Post-transplant lymphoproliferative disease								

Table 2: Summary of risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD in the studies using multivariate analysis

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors	Estimate (95% CI); p-value
Recipient age				
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	> vs. ≤ 25 years	OR=1.54 (1.136-2.703); p=0.034
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	<30 vs. ≥30 years	HR=1.041 (0.763-1.420); p=0.799
Düver, 2020[50]	EBV	P	Age (continuous)	OR=1.08 (1.00–1.17); p=0.057
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	Continuous	Slope=-0.06; p=0.09
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	≥40 vs. <40 years	HR=0.4 (0.2-0.9); p=0.032
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	≥50 years	RR=5.1 (2.8-8.7)
Diagnosis				
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	NHL vs. AML/MDS	HR=0.18 (0.05-0.57); p=0.004
			ALL vs. AML/MDS	HR=0.89 (0.45-1.75); p=0.734
			HL vs. AML/MDS	HR=1.63 (0.64-4.16); p=0.308
			CLL vs. AML/MDS	HR=0.87 (0.41-1.85); P=0.724
			MPD vs. AML/MDS	HR=0.95 (0.43-2.11); P=0.907
			Other vs. AML/MDS	HR=3.01 (0.94-9.65); P=0.063
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	HL vs. AML	HR=3.53 (1.51-8.25); p=0.004
			NHL vs. AML	HR=0.678 (0.249-1.848); p=0.448
			MPD vs. AML	HR=2.01 (0.828-4.858); p=0.123
			CLL vs. AML	HR=3.767 (1.375-10.322); p=0.01
			Other disease vs. AML	HR=1.449 (0.486-4.319); p=0.506
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	Hodgkin's disease vs. other diagnosis	SHR=11.6 (3.4-40.0); P<0.0001
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Underlying disease (AA vs. AL)	HR=4.369 (0.484-39.451); p=0.189
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	ALL vs. AML/MDS	HR=1.08 (0.75-1.57); p=0.68
			CML/MPD vs. AML/MDS	HR=1.55 (0.89-2.69); p=0.12
			Lymphoid malignancies vs. AML/MDS	HR=1.33 (0.92-1.92); p=0.13
			AA vs. AML/MDS	HR=5.19 (3.32-8.11); p<0.001
			Others vs. AML/MDS	HR=1.94 (0.97-3.89); p=0.06
Genotype				
Bogunia-Kubik, 2005[35]	EBV	P & A	Recipient having IFNG 3/3 genotype vs. other IFNG	OR=7.28; p=0.005
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	Presence of CCR5 deletion mutation (Yes vs. No)	OR=0.17 (0.034-0.803); p=0.026
Pagliuca, 2019[81]	PTLD	P & A	Presence of HLA DRB1*11:01 (Yes vs. No)	SHR=4.85 (1.57-14.97); p=0.006
Recipient, donor EBV, CMV serostatus				
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	P	D+ and R+ (CMV or EBV) or host adenoviral infection	Significant but NR
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	EBV D+/R- vs. D+/R+	HR= 2.85 (1.12-7.28); p= 0.028
			EBV D-/R+ vs. D+/R+	HR= 0.32 (0.05-2.0); p= 0.22
			EBV D-/R- vs. D+/R+	No events
			EBV Unknown vs. D+/R+	HR= 1.23 (0.53-2.9); p= 0.63
Lin, 2019[71]	EBV	P & A	D/R EBV serostatus (D-/R+ vs. Other)	HR=1.58 (1.01-2.46); p=0.046
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	EBV D+ R- vs. Others	SHR=4.97 (2.30-10.7); p<0.001

Table 2: Summary of risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD in the studies using multivariate analysis

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors	Estimate (95% CI); p-value
Brunstein, 2006[37]	EBV/PTLD	P & A	CMV (R- vs. R+)	HR=3.0 (0.9-9.7) p=0.07
			Donor sex	
Fan, 2016[52]	EBV	P & A	Male donor	OR=13.24 (2.006-87.387); p=0.007
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	Female donor	OR=2.816; p=0.044
			Donor type	
Düver, 2020[50]	EBV	P	Unrelated donor vs. Related donor	OR=5.05 (1.24–20.63); p=0.024
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	Unrelated donor (Yes vs. No)	HR=8.8, p=0.030 at D+150
Tsoumakas, 2019[92]	EBV	P	Related donor vs. Unrelated donor	HR=0.38 (0.15-0.98); p=0.045
Omar, 2009[80]	EBV	P & A	URD + MMRD vs. HLA-matched donor	p=0.04
Pagliuca, 2019[81]	PTLD	P & A	Unrelated (Yes vs. No)	SHR=2.11 (1.00-4.45); p=0.051
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	MMRD vs. MRD	HR=4.39 (2.39-8.07); p<0.001
			MURD vs. MRD	HR=4.08 (2.39-6.99); p<0.001
			MMURD vs. MRD	HR=3.20 (1.58-6.47); p=0.001
			CB vs. MRD	HR=8.03 (4.72-13.7); p<0.001
Sirvent-von Buelzingsloewen, 2002[88]	EBV	P & A	HLA incompatibility (Yes vs. No)	OR=5 (1.5-16.4)
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	P & A	No HLA-matched sibling donor	HR=2.1 (0.8-6.2); p=0.069
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Haploidentical donors vs. Matched sibling donors	HR=2.0 (0.8-5.1); p=0.130
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	HLA-haploidentical vs. HLA-identical	HR=1.830 (1.275-2.627); p=0.001
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Haploidentical donors vs. Matched sibling donors	HR=2.0 (0.5-8.3); p=0.350
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	HLA mismatch vs. Match	SHR=5.89 (2.43-14.3) p<0.001
			Graft source	
Tsoumakas, 2019[92]	EBV	P	PBSC vs. BM	HR=2.51 (1.04-6.05); p=0.041
Wang, 2019[96]	EBV	P & A	PB + BM vs. PB	HR=7.89; p=0.003
			BM vs. PB	HR=18.69; p<0.001
			Graft content	
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CD3 ⁺ (≥ vs. < median)	OR=0.11 (0.02-0.78); p=0.027
			CD3 ⁺ CD8 ⁺ (≥ vs. < median)	OR=0.05 (0.006-0.431); p=0.007
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	CD34 ⁺ (>1,35x10 ⁶ /kg)	HR=2.6 (1.5-4.6); p=0.001
			Conditioning regimens & GvHD prophylaxis/treatment	
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	TBI (Yes vs. No)	Slope=1.60; p=0.001
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	Intensified MAC vs. Standard MAC	HR=1.72 (1.03-2.88); P=0.038
Lin, 2019[71]	EBV	P & A	Intensified conditioning vs. Standard MAC	HR=1.73 (1.18-2.54); p=0.005
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	RIC vs. MAC	SHR=6.0 (2.0-17.6); p=0.001
	PTLD		SHR=5.5 (1.8-17.1); p=0.003	
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	RIC vs. MAC	HR=0.82 (0.60-1.12); p=0.22
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	RIC vs. No RIC	SHR=3.25 (1.53-6.89) p=0.002
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	Standard vs. Intensified	HR=4.46 (1.20-16.61); p=0.026
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	Intensified MAC vs. Standard MAC	p=0.018
Brunstein, 2006[37]	EBV/PTLD	P & A	NMAC without ATG vs. MAC	HR=0.7 (0.1-6.5); p=0.51
			NMAC with ATG vs. MAC	HR=15.4 (2.0-116.1); p<0.01
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	MAC without ATG	OR=2.6 (1.05-7.15); p=0.01
			NMAC with ATG	OR=2.1 (0.92-4.8); p=0.08
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Use of fludarabine (Yes vs. No)	HR=3.8 (1.4-10.6); p=0.010
Cohen, 2005[45]	EBV	P	ATG vs. Campath	OR=2.09 (0.83-5.29)
Cesaro, 2004[40]	EBV	P	Use of ATG (Yes vs. No)	HR=13.0 (2-96); p=0.01
Düver, 2020[50]	EBV	P	Use of ATG (Yes vs. No)	OR=10.68 (1.15–98.86); p=0.037
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	HR=6.3 (1.6-24.0); p=0.008

Table 2: Summary of risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD in the studies using multivariate analysis

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors	Estimate (95% CI); p-value
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	Use of ATG (Yes vs. No)	Slope=1.34; p=0.004
Juvonen, 2007[65]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No) [†]	HR=5.78 (2.47-13.5); p<0.001
Peric, 2011[84]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No)	SHR=4.9 (1.1-21.0); p=0.03
Fan, 2016[52]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	OR=7.69 (1.17-50.49); p=0.034
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Horse ATG vs. No serotherapy	HR= 2.47 (0.95-6.38); p=0.063
			Rabbit ATG vs. No serotherapy	HR= 1.22 (0.467-3.18); p= 0.69
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No)	OR=0.83 (0.17-4.01); p=0.820
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	HR=14.08 (6.02-32.92); p<0.001
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	HR=4.288(2.638-6.97); p<0.001
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.038
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	Use of ATG (Yes vs. No)	OR=2.4 (1.3-4.2) p=0.001
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Use of ATG (Yes vs. No) [†]	RR=3.8 (2.5-5.8)
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	HR=13.03 (1.67-101.58) p=0.014
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	Use of ATG in conditioning regimen (Yes vs. No)	HR=6.13 (4.33-8.68); p<0.001
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	Use of ATG for GvHD treatment (Yes vs. No) [†]	HR=2.09 (1.17-3.72); p=0.01
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	HR=2.9 (0.3-27.5); p=0.350
Lin, 2019[71]	EBV	P & A	ATG dose (10.0 mg/kg vs. 7.5 mg/kg)	HR=2.02 (1.37-2.97); p<0.001
Buyck, 2009[39]	PTLD	P & A	Number of prior courses of ATG	HR=7.23 (1.67-31.32); p=0.008;
Fan, 2016[52]	EBV	P & A	MMF + CsA + prednisone vs. MMF + CsA	OR=23.68 (1.924-291.449); p=0.013
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CsA AUC (≥ vs. <6000 ng/mL x days)	OR=6.067 (1.107-33.238); p=0.038
T-cell depletion				
Bordon, 2012[36]	EBV	P	<i>In vivo</i> TCD (Yes vs. No)	p=0.04
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	P & A	Use of CD4 ⁺ lymphocyte-depleted graft (Yes vs. No)	HR=11.5 (5.8-22.8); p<0.0001
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	TCD without ATG vs. Non-TCD	HR=1.5 (0.8-2.9); p=0.3
			TCD with ATG vs. Non-TCD	HR=3.4 (1.6-7.1); p=0.001
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Broad lymphocyte depletion vs. No TCD	RR=3.1 (1.2-6.7)
			Selective TCD vs. No TCD	RR=9.4 (6.0-14.7)
Method of T-cell depletion				
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Alemtuzumab MoAb vs. No TCD	RR=3.1 (0.7-8.4)
			Elutriation/density gradient centrifugation vs. No TCD	RR=3.2 (0.8-8.8)
			Anti-T or anti-T + NK MoAb vs. No TCD	RR=8.4 (5.1-13)
			SRBC rosetting vs. No TCD	RR=14.6 (5.9-31)
			Lectins with/without SRBC or anti-T MoAb vs. No TCD	RR=15.8 (7.2-32)
			Unclassified/unknown method vs. No TCD	RR=6.0 (0.96-20)
Graft-versus-host disease				
Cohen, 2005[45]	EBV	P	aGvHD (Yes vs. No)	OR=2.20 (2.12-15.08)
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	aGvHD (Yes vs. No)	HR=3.29 (1.26-8.58); p=0.015
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	P	aGvHD ≥Grade II	Significant but NR
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	cGvHD (Yes vs. No)	Slope=-1.12; p=0.023
Juvonen, 2007[65]	EBV	A	aGvHD ≥Grade III [†]	HR=1.70 (1.11-2.62); P=0.015
Sirvent-von Buelzingsloewen, 2002[88]	EBV	P & A	aGvHD ≥Grade II	OR=3.4 (1.2-9.7)
Omar, 2009[80]	EBV	P & A	aGvHD (Yes vs. No)	p=0.009
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	aGvHD (Yes vs. No)	HR=1.0 (0.7-1.6); p=0.960
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	aGvHD (Yes vs. No)	HR=1.4 (0.5-3.8); p=0.480

Table 2: Summary of risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD in the studies using multivariate analysis

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors	Estimate (95% CI); p-value		
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	GvHD (Yes vs. No)	HR= 1.97 (1.04-3.72); p= 0.037		
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	aGvHD ≥Grade II [†]	RR=1.7 (1.2-2.5)		
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	aGvHD (Grade II-IV vs. None or Grade I)	HR=1.26 (0.89-1.78); p= 0.193		
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	aGvHD Grade II-IV (Yes vs. No) [†]	HR=1.93 (1.48-2.52); p<0.001		
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	aGvHD ≥Grade II	SHR=2.65 (1.32-5.35) p=0.006		
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	cGvHD moderate/severe or clinical extensive [†]	RR=2.0 (1.1-3.2)		
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	cGvHD (Yes vs. No)	HR= 1.413 (1.013-1.971); p= 0.042		
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	aGvHD Grade II-IV or chronic NST (Yes vs. No)	SHR=0.47, p=0.04		
Immunological reconstitution						
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Peripheral blood CD4 ⁺ lymphocyte/μl at +1 month after HSCT (≥50 vs. <50)	OR=0.1 (0.02-0.48); p=0.004		
Yu, 2019[99]	EBV	P & A	NKp30 in 1-month post-transplant (1M) (% of total NK cells)	HR= 0.957 (0.918-0.998); p= 0.04		
Liu, 2020[72]	EBV	A	Vδ2 ⁺ cells recovery at day 30 post-transplantation	HR=0.347 (0.161-0.747); p=0.007		
Liu, 2020[72]	EBV	A	CD8 ⁺ cells recovery at day 30 post-transplantation	HR=0.499 (0.207-1.201); p=0.121		
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CD8 ⁺ cells count at day 30 after HSCT (≥Median vs. <Median)	HR=0.34 (0.13-0.92) p=0.033		
	PTLD	P & A	IgM count at day 30 after HSCT (≥Median vs. <Median)	HR=0.27 (0.10-0.75) p=0.012		
CMV reactivation						
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	CMV DNAemia (Yes vs. No)	HR=5.9 (2.5-13.9); p<0.001		
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	P & A	CMV load >2500 copies/mL	HR=2.1 (0.9-7); p=0.061		
Zallio, 2013[23]	EBV	A	Yes vs. No	Significant but NR		
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	CMV DNAemia (Yes vs. No)	HR=97.754 (9.477-1008.304)		
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	CMV DNAemia (Yes vs. No)	HR=11.6 (1.2-114.4); p=0.036		
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CMV DNAemia (Yes vs. No)	HR=5.68 (1.17-27.57) p=0.031		
Transfusion						
Trottier, 2012[91]	EBV	P	RBC transfusion volume (mL)	<850 vs. 0	HR=1.99 (0.47-8.44)	p-value trend=0.047
				850-1890 vs. 0	HR=2.40 (0.56-10.24)	
				>1890 vs. 0	HR=2.86 (0.68-12.11)	
		P	FFP transfusion volume (mL)	≤200 vs. 0	HR=0.70 (0.22-2.25)	p-value trend=0.079
				>200 vs. 0	HR=3.16 (1.00-11.17)	
		P	PLT transfusion volume (mL)	1260-2530 vs. <1260	HR=1.65 (0.86-3.18)	p-value trend=0.012
>2530 vs. <1260	HR=2.19 (1.21-3.97)					
Other factors						
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	Prior SCT (Yes vs. No)	HR: 2.6 (1.1-6.4); p=0.04		
	PTLD	A	Prior SCT (Yes vs. No)	HR: 6.4 (1.3-31.9); p=0.02		
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	Number of allogeneic HSCT (Two or more vs. One)	HR=1.50 (1.05-2.15); p=0.03		
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Second transplant (Yes vs. No) [†]	RR=3.5 (1.7-6.3)		
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Splenectomy (Yes vs. No)	SHR=4.81 (1.51-15.4) p=0.008		
	PTLD	P & A	MSC treatment (Yes vs. No)	SHR=3.05 (1.25-7.48) p=0.015		
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	2+ HLA MMRD or URD, no ATG, no selective TCD vs. matched sibling or 1 HLA-Ag mismatched relative	RR=0.9 (0.3-2.2)		

Table 2: Summary of risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD in the studies using multivariate analysis

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors	Estimate (95% CI); p-value
			2+ HLA MMRD or URD, ATG and/or selective TCD vs. matched sibling or 1 HLA-Ag mismatched relative	RR=3.8 (2.4-6.1)
Van Esser, 2001[95]	PTLD	P & A	A stepwise increase of EBV-DNA by 1 log	HR=2.9 (1.7-4.8); p<0.001
Pagliuca, 2019[81]	PTLD	P & A	Fever at onset of EBV infection (Yes vs. No)	SHR=6.12 (1.74-21.58); p=0.005
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	Year of HSCT (2010-2015 vs. 1990-2009)	HR=1.87 (1.38-2.52); p<0.001
<p>Abbreviations: A: adults; Ag: antigen; aGvHD: acute graft-versus-host disease; ALL: acute lymphocytic leukemia; AML: acute myeloid leukemia; ATG: anti-thymocyte globulin; AUC: area under curve; BM: bone marrow; CB: cord blood; CCR5: C-C chemokine receptor 5; cGvHD: chronic graft-versus-host disease; CI: confidence interval; CLL: chronic lymphocytic leukemia; CMV: cytomegalovirus; CsA: cyclosporine A; D+: donor positive; D-: donor negative; D/R: donor/recipient; EBV: Epstein-Barr virus; FFP: fresh-frozen plasma; GvHD: graft-versus-host disease; HL: Hodgkin lymphoma; HLA: human leukocyte antigen; HR: hazard ratio; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; IFNG: Interferon-γ gene; MAC: myeloablative conditioning; MDS: myelodysplastic syndrome; MMF: mycophenolate mofetil; MMRD: mismatched related donor; MMUD: mismatched unrelated donor; MoAb: monoclonal antibody; MPD: myeloproliferative disease; MRD: matched related donor; MSC: mesenchymal stromal cells; MURD: matched unrelated donor; NHL: Non-Hodgkin lymphoproliferative disease; NK: natural killer cells; NMAC: non-myeloablative conditioning; NR: not reported; NST: needing systemic therapy; OR: odds ratio; P: pediatric; P & A: pediatric and adult; PB: peripheral blood; PBSC: peripheral blood stem cells; PTLD: Post-transplant lymphoproliferative disease; PLT: platelets; R+: recipient positive; R-: recipient negative; RBC: red blood cell; RIC: reduced-intensity conditioning; RR: relative risk; SCT: stem cell transplant; SHR: subhazard ratio; SRBC: sheep red blood cell; TBI: total body irradiation; TCD: T-cell depletion; URD: unrelated donor; vs.: versus.</p> <p>†Time-dependent covariate.</p>				

Supplementary materials: Table S1, Table S2a, Table S2b, TableS3 and Table S4

Table S1: Search equation used in Medline and EMBASE

Medline: search was performed using the following equation: (EBV*.mp. or HHV4*.mp. or Epstein-Barr virus*.mp. or exp Herpesvirus 4, Human/ or exp Epstein-Barr Virus Infections/) AND (risk*.mp. or reactivation*.mp or active*.mp. or chronic active*.mp. or activation*.mp. or viremia*.mp. or DNAemia*.mp. or infection*.mp. or posttranspl*.mp. or post-transpl*.mp. or lymphopro*.mp. or PTLD.mp. or exp Risk/ or exp Risk Factors/ or exp Virus Activation/ or exp Viremia/ or exp Infection/ or exp Lymphoproliferative Disorders/) AND (exp Stem Cell Transplantation/ or exp Cord Blood Stem Cell Transplantation/ or exp Hematopoietic Stem Cell Transplantation/ or exp Hematopoietic Stem Cells/ or exp Peripheral Blood Stem Cell Transplantation/ or exp Bone Marrow Transplantation/).

EMBASE: search was performed using the following equation: (EBV*.mp. or HHV4*.mp. or Epstein-Barr virus*.mp. or exp Epstein-Barr Virus / or exp Epstein-Barr Virus Infections/) AND (risk*.mp. or reactivation*.mp or active*.mp. or chronic active*.mp. or activation*.mp. or viremia*.mp. or DNAemia*.mp. or infection*.mp. or posttranspl*.mp. or post-transpl*.mp. or lymphopro*.mp. or PTLD.mp. or exp Risk/ or exp Risk Factors/ or exp recurrence risk/ or exp Virus reactivation/ or exp Viremia/ or exp Infection/ or exp posttransplant lymphoproliferative disease/) AND (exp hematopoietic stem cell transplantation/ or exp Stem Cell Transplantation/ or exp allogeneic hematopoietic stem cell transplantation or exp bone marrow transplantation/ or exp allogeneic bone marrow transplantation/ or exp peripheral blood stem cell transplantation/ or exp allogeneic peripheral blood stem cell transplantation/ or exp cord blood stem cell transplantation).

Limits	Medline	EMBASE
Language	English or French	
Year of publication	1946-June 2020	1974-June 2020
Type of publication	Journal article	Article

Table S2a: COMPONENT RATINGS OF STUDY (a modified version of the Effective Public Health Practice Project (EPHPP) Quality Assessment Tool for Quantitative Studies [24,25])

SELECTION BIAS

Strong: was assigned to a prospective cohort study or randomised control trial (RCT), if the retention of subjects in the study was not likely to be dependent on both exposure and outcome. Retention was evaluated within a follow-up of at least 3-6 months (*). In the case of a retrospective cohort study, this qualifier was assigned if the enrollment of subjects in the study was not likely to be related to both exposure and outcome and if the retention of subjects was not likely to be dependent on both exposure and outcome.

For the other used design (case-control study only), this qualifier was assigned if the cases and controls included were representative of the population and if the participation rate was not differential.

Moderate: was assigned to a prospective cohort study or RCT, if the retention of subjects within 3-6 months of follow-up in the study was somewhat likely to be dependent on both exposure and outcome. In the case of a retrospective cohort study, this qualifier was assigned if the enrollment of subjects in the study was somewhat likely to be related to both exposure and outcome or if the retention of subjects was somewhat likely to be dependent on both exposure and outcome. For the other used design (case-control study only), this qualifier was assigned if the cases and controls included were representative of the population and if the participation rate was differential.

Weak: was assigned to a prospective cohort study or RCT, if the retention of subjects within 3-6 months of follow-up in the study was very likely to be dependent on both exposure and outcome. In the case of a retrospective cohort study, this qualifier was assigned if the enrollment of subjects in the study was very likely to be related to both exposure and outcome or if the enrollment of subjects in the study was not described or if the retention of subjects was very likely to be dependent on both exposure and outcome or if the retention was not described. For the other design found (case-control study only), this qualifier was assigned if the cases and controls included were not representative of the population and if the participation rate was differential.

(*) During the first 3 months post-transplant most patients are usually still followed.

STUDY DESIGN

Strong: was assigned to a cohort study, randomised control trial (RCT)

Moderate: was assigned to a case-control study.

Weak: was assigned to a study that did not state the design used.

CONFOUNDERS

Strong: was assigned to a study that controlled for confounding bias. Specifically, a method to control for confounders was applied (ex: confounders included in the multivariate analysis model or the distributions of the confounding factors were balanced between each group).

Moderate: was assigned to a study that did not specifically consider confounding bias, but where a multivariate analysis has been performed.

Weak: was assigned when there was no control for confounding.

DATA COLLECTION METHODS

Strong: was assigned if EBV infection testing was based on the PCR technique and if the same procedures (ie. blood compartment, laboratory techniques, threshold) were used for all patients. For studies with PTLD as outcome, this rating was given if the diagnosis of PTLD was made similarly for all patients and only proven cases of PTLD were considered.

Moderate: was assigned if EBV infection testing was based on the PCR technique but the procedures used were not the same for all patients. For studies with PTLD as outcome, this rating was given if the diagnosis of PTLD was made similarly for all patients and probable and proven cases of PTLD were considered or the methods used to diagnose PTLD were not the same for all patients.

Weak: was assigned if EBV infection testing was not based on the PCR technique or no information about the test used was available. For studies with PTLD as outcome, this rating was given if probable or proven PTLD and post-transplant EBV infection were combined to define the event of interest or no information about the method used to diagnose PTLD was available.

Overall rating for a study:

Strong: no Weak rating

Moderate: one Weak rating except for the component confounders

Weak: Weak rating for the component confounders OR two or more Weak ratings for other components

Table S2b: Results of the quality evaluation of the 77 articles included in this systematic review

First author, year	Outcome	Component ratings				Overall rating
		Selection bias	Study design	Confounders	Data collection	
Ali, 2019[30]	PTLD	Weak	Strong	Weak	Moderate	Weak
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	Weak	Strong	Weak	Moderate	Weak
Atay, 2018[32]	EBV	Strong	Strong	Weak	Strong	Weak
Auger, 2014 [33]	EBV	Strong	Strong	Weak	Strong	Weak
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	Strong	Strong	Strong	Strong	Strong
Bogunia-Kubik, 2005[35]	EBV	Strong	Strong	Strong	Strong	Strong
Bordon, 2012[36]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Brunstein, 2006[37]	EBV/PTLD	Strong	Strong	Strong	Weak	Moderate
Burns,2016[38]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Buyck, 2009[39]	PTLD	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Carpenter, 2010[22]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Cesaro, 2004[40]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Cesaro, 2010[41]	EBV	Weak	Strong	Weak	Strong	Weak
Chiereghin, 2016[42]	EBV	Strong	Strong	Weak	Strong	Weak
Chiereghin, 2019[43]	EBV	Moderate	Strong	Weak	Strong	Weak
Christopeit, 2013[44]	EBV	Weak	Strong	Strong	Strong	Moderate
Cohen, 2005[45]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Cohen, 2005[45]	PTLD	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Comoli,2007[46]	EBV	Strong	Strong	Weak	Strong	Weak
Czyżewski, 2019[47]	EBV	Moderate	Strong	Weak	Weak	Weak
D’Aveni, 2011[48]	EBV	Weak	Strong	Weak	Strong	Weak
Dumas, 2013[49]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Moderate	Moderate
Düver, 2020[50]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Moderate	Strong
Elmahdi, 2016[51]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Fan, 2016[52]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Figgins, 2019[53]	EBV	Strong	Strong	Weak	Strong	Weak
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	Moderate	Strong	Moderate	Moderate	Strong
Gao, 2019[55]	EBV	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
Gao, 2019[55]	PTLD	Moderate	Strong	Moderate	Moderate	Strong
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	Moderate	Strong	Moderate	Moderate	Strong
Han, 2014[57]	EBV	Moderate	Strong	Weak	Strong	Weak
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate

Table S2b: Results of the quality evaluation of the 77 articles included in this systematic review

First author, year	Outcome	Component ratings				Overall rating
		Selection bias	Study design	Confounders	Data collection	
Hoegh-Petersen, 2011[59]	PTLD	Strong	Strong	Weak	Moderate	Weak
Hoshino, 2001[60]	EBV	Weak	Strong	Weak	Strong	Weak
Islam,2010[61]	EBV	Moderate	Strong	Weak	Strong	Weak
Issa, 2019[62]	EBV	Moderate	Strong	Weak	Strong	Weak
Kutnik, 2019[63]	EBV	Strong	Strong	Weak	Weak	Weak
Jaskula, 2010[64]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Juvonen, 2007[65]	EBV	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
Kalra, 2018[66]	PTLD	Strong	Strong	Moderate	Moderate	Strong
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
Laberko,2017[68]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Moderate	Strong
Landgren, 2009[69]	PTLD	Moderate	Strong	Moderate	Moderate	Strong
Li, 2018[70]	EBV	Strong	Strong	Weak	Weak	Weak
Lin, 2019[71]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Liu, 2020[72]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Liu, 2020[72]	PTLD	Moderate	Strong	Weak	Moderate	Weak
Liu, 2013[73]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Liu, 2013[26]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Liu, 2013[26]	PTLD	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Liu, 2018[74]	EBV	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Meijer, 2004[76]	EBV	Strong	Strong	Weak	Strong	Weak
Mountjoy, 2020[77]	EBV	Moderate	Strong	Weak	Strong	Weak
Neumann, 2018[78]	EBV	Moderate	Moderate	Moderate	Moderate	Strong
Nowak, 2019[79]	EBV	Moderate	Strong	Weak	Weak	Weak
Omar, 2009[80]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Pagliuca, 2019[81]	PTLD	Strong	Strong	Moderate	Moderate	Strong
Park, 2020[82]	EBV	Strong	Strong	Weak	Weak	Weak
Patriarca, 2013[4]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Peric, 2012[83]	EBV	Strong	Strong	Weak	Strong	Weak
Peric, 2011[84]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Ru, 2020[85]	EBV	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
Rustia, 2016[86]	EBV	Moderate	Strong	Weak	Strong	Weak
Sanz,2014[87]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong

Table S2b: Results of the quality evaluation of the 77 articles included in this systematic review

First author, year	Outcome	Component ratings				Overall rating
		Selection bias	Study design	Confounders	Data collection	
Sanz,2014[87]	PTLD	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Sirvent-von Buelzingsloewen, 2002[88]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Styczynski, 2013[89]	PTLD	Weak	Strong	Weak	Moderate	Weak
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Trottier, 2012[91]	EBV	Weak	Strong	Strong	Moderate	Moderate
Tsoumakas, 2019[92]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Uhlin, 2014[93]	PTLD	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
van der Velden, 2013[94]	EBV/PTLD	Strong	Strong	Moderate	Weak	Moderate
Van Esser, 2001[95]	EBV	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
Van Esser, 2001[95]	PTLD	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
Wang, 2019[96]	EBV	Moderate	Strong	Moderate	Strong	Strong
Xu, 2015[97]	PTLD	Moderate	Moderate	Moderate	Moderate	Strong
Xuan, 2012[98]	EBV	Strong	Strong	Strong	Strong	Strong
Xuan, 2013[16]	PTLD	Strong	Strong	Moderate	Moderate	Strong
Yu, 2019[99]	EBV	Moderate	Strong	Moderate	Weak	Moderate
Zallio, 2013[23]	EBV	Weak	Strong	Moderate	Strong	Moderate
Zhou, 2020[100]	EBV	Strong	Strong	Moderate	Strong	Strong
Zhou, 2020[101]	PTLD	Strong	Strong	Weak	Moderate	Weak
Summary of the component rating						
Strong, n (%)	EBV	29 (46)	62 (98.4)	6 (9.5)	51 (81)	27 (42.9)
Moderate, n (%)		18 (28.6)	1 (1.6)	36 (57.1)	5 (7.9)	15 (23.8)
Weak, n (%)		16 (25.4)	0 (0)	21 (33.3)	7 (11.1)	21 (33.3)
Strong, n (%)	PTLD	8 (38.1)	20 (95.2)	0 (0)	6 (28.6)	12 (57.1)
Moderate, n (%)		8 (38.1)	1 (4.8)	15 (71.4)	14 (66.7)	3 (14.3)
Weak, n (%)		5 (23.8)	0 (0)	6 (28.6)	1 (4.8)	6 (28.6)

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country of (Date graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
Ali, 2019[30]	Canada (2006-2015)	Retrospective	NR	BM, PBSC, CB	408	No PTLT group Median 7.6 years (range: 0.1-17.8 years) PTLT group Median 5.9 years (range: 2.3-17.3 years)	Pediatrics	Proven PTLT	NA	NA	Fisher's exact test
Althubaiti, 2019[31]	Canada (January 2010-December 2016)	Retrospective	NR	BM, PB, CB	26	No PTLT group Median 7 years (range: 2-14 years) PTLT group Median 9 years (range: 2-17 years)	Pediatrics	Probable or proven PTLT	NA	NA	Chi2, Fisher's exact test and Mann-Whitney U test
Atay, 2018[32]	Turkey (January 2014 to September 2016)	Retrospective	Median: 14 months Range (1-31) months	BM, PBSC, CB	171	Median: 7.38 years Range: (0.4-18) years	Pediatrics	Not mentioned	Weekly during the post-transplant period on inpatients and outpatients when symptomatic.	Not mentioned	Chi2 test
Auger, 2014 [33]	France (NR)	Retrospective	36.6 months (95% IC 31.5-45.7).	PBSC, BM and UCB	190	Median 51 years Range: (18-69) years IQR: (38-58) years	Adults	EBV viral load superior or equal to 500 copies/mL, and increasing 1 week later	Weekly during the first 6 months and monthly thereafter.	Peripheral blood	Chi2 test, Wilcoxon nonparametric test, Kruskal-Wallis test
Bogunia-Kubik, 2007[34]	Poland (NR)	Retrospective	2-3 months	PBSC, BM	92	Median: 28.5 years Range: (0.3-60) years	Pediatrics & Adults	EBV viral load >10 EBV-DNA copies/10 ⁵ cells	On average 2 measurements per patient performed 2-3 months post-transplant.	Peripheral blood	Fisher exact test for univariate analysis. Logistic regression for multivariate analysis
Bogunia-Kubik, 2005[35]	Poland (1997-2003)	Retrospective	2-3 months	PBSC, BM	83	Median: 25 years Range: (0.3-55) years	Pediatrics & Adults	EBV viral load >10 EBV-DNA copies/10 ⁵ cells	On average 2 measurements per patient performed 2-3 months post-transplant.	Peripheral blood	Fisher exact test for univariate analysis. Logistic regression for multivariate analysis
Bordon, 2012[36]	Belgium (Jan 2002-Dec 2009)	Retrospective	1 year	PBSC, BM and UCB	80	Mean: 6.3 years Range: (0.2-19.4) years	Pediatrics	EBV viral load >300 copies/ μ g DNA	Biweekly during the first 3 months, then monthly until 1 year. In the case of a positive PCR test or if clinically indicated, test was repeated weekly.	Whole blood	Fisher exact test and Mann-Whitney U-test for univariate analysis. Logistic regression for multivariate analysis

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
Brunstein, 2006[37]	USA (July 1994-March 2005)	Multicenter retrospective	Median (range): 1.2 years (77 days-9.2 years)	UCB	335	Median: 16 years Range: (0.2-69) years	Pediatrics & Adults	EBV viremia was defined as more than 1000 copies of EBV DNA per ml of whole blood and EBV PTLTLD was defined as biopsy- or autopsy-proven post-transplantation lymphoma, or viremia along with computerized tomography nodal or soft-tissue abnormalities consistent with PTLTLD.	NA	NA	Multivariate Cox regression
Burns, 2016[38]	United Kingdom, (May 2009 to September 2012)	Retrospective	Median 28 months	PBSC	186	Median 51 years Range: (17-71) years	Pediatrics & Adults	EBV-VL superior or equal to 500 genomes/m	Every 1-2 week(s) for the first 6 months and intermittently thereafter.	Whole blood	Univariate and multivariate analysis using Cox proportional hazards models
Buyck, 2009[39]	United Kingdom, (1989-2006)	Retrospective	NR	Allo-SCT	87	Median 20 years Range: (4-53) years	Pediatrics & Adults	EBV-PTLD was confirmed by radiological and/or histopathological evidence of lymphoproliferation with EBV confirmed either by PCR or immunohistochemistry.	NA	NA	Univariate and multivariate analysis using Cox proportional hazards models
Carpenter, 2010[22]	United Kingdom (May 2005-Sept 2009)	Retrospective	Median: 2.4 years	PBSC	111 ^a	Median: 43 years Range: (16-67) years	Pediatrics & Adults	EBV viral load > 200 copies/mL	Weekly until the 100 th day and then at follow-up by real-time quantitative polymerase chain reaction amplification of <i>EBNA 1</i> gene	NR	Fine Gray competitive risk model
Cesaro, 2004[40]	Italy (Jan 1998-Dec 2003)	Retrospective	180 days	BM, UCB	79 ^b	Median: 9.6 years Range: (1.4-18) years	Pediatrics	Must involve at least two consecutive positive PCR results (EBV viral load ≥ 300 genome copies $\times 10^5$ PBMC).	Weekly between the 15 th and 100 th days post-graft. Biweekly between the 101 st and 180 th days if clinically indicated	Peripheral blood	Chi2 test or Fisher's exact test and multivariate Cox models
Cesaro, 2010[41]	Italy (Jan 1998-Dec 2007)	Retrospective	180 days	BM, UCB	89	Median: 9 years Range: (0.7-18) years	Pediatrics	Defined at the first of at least two consecutive positive PCR results (EBV viral load ≥ 300 genome copies $\times 10^5$ PBMC)	Weekly between the 15 th and 100 th days post-graft. Biweekly between the 101 st and 180 th days when clinically indicated	Peripheral blood	Chi2 test or Fisher's exact test

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
Chiereghin, 2016[42]	Italy (March 2012-Nov 2013)	Prospective	Median: 7.1 months Range:(1-22) months	PBSC, BM and UCB	28	Mean: 9.4 years Range: (9 months - 18.4 years)	Pediatrics	EBV viral load ≥ 10000 copies/mL	Weekly for the first 100 days post-transplant and biweekly until the 180 th day. Subsequently the tests were performed when clinically indicated	Whole blood	Chi2 test
Chiereghin, 2019[43]	Italy (February 2014-February 2015)	Prospective	>2 months	BM, PB, CB	51	Adults Mean 40 years (range: 18-59 years) Pediatrics Mean 9 years (range: 9 months-17 years)	Pediatrics & Adults	EBV-DNA>500 copies/mL	Weekly for the first 100 days post-transplant and biweekly until the 180 th day.	Whole blood	Chi2, Fisher's exact tests
Christopeit, 2013[44]	Germany (July 2005-Sept 2008)	Retrospective	>30 days	Allo-HSCT	28 ^c	Median: 59.5 years Range: (22-70) years	Adults	EBV viral load ≥ 100 copies/mL	Biweekly during hospitalization and at each contact after discharge from the hospital	Peripheral blood	Multivariate logistic regression
Cohen, 2005[45]	United Kingdom (Jan 1999-Jun 2002)	Prospective	NR	BM, PBSC, BM+ PBSC, UCB	128	Median: 4.1 years Range: (0.2-17.7) years	Pediatrics	EBV-DNA detected in whole blood (positive) and next day plasma (semi-quantitative – approximately 100 DNA copies/mL in plasma – 10 EBV-DNA copies/cell)	Weekly until CD4 ⁺ becomes $> 0.3 \times 10^9/L$	Whole blood for DNA detection and plasma for semi-quantitative if DNA positive	Univariate, bivariate and multivariate logistic regression. Each factor with a p-value < 0.1 in univariate analysis was introduced in a bivariate model with the conditioning regime variable (RIC vs. CIC). Factors with a p-value < 0.5 are considered in the multivariate model.
								EBV-LPD was subclassified clinically as either localized or disseminated and lymphadenopathic or lymphomatous, according to the Pittsburgh classification	NA	NA	
Comoli, 2007[46]	Italy, (August 2001 to February 2005)	Prospective	Median: 23 months	PBSC	27	Median: 8 years Range: (1-21) years	Pediatrics & Adults	EBV-DNA load above 1000 copies/ 10^5 PBMC or 1000 copies/ 10^4 uL whole blood associated in two consecutive samples	Weekly during first 3 months, and monthly thereafter until 1 year after transplantation	PBM (or whole blood if prior to hematopoietic reconstitution)	Univariate analysis using Chi-square test
Czyżewski, 2019[47]	Poland (January 2012-December 2015)	Multicenter retrospective study	NR	BM, PB, CB	1,569	NR	Pediatrics & Adults	EBV but not specified	Weekly	NR	Chi 2 test
D'Aveni, 2011[48]	France (January 2006-December 2006)	Retrospective	1-year	PBSC, BM and UCB	40 ^d	Median 30 years Range: (0-64) years	Pediatrics & Adults	EBV DNA ≥ 1000 copies/mL	Twice a week during the first 3 months after transplantation and in case of DNAemia	Whole blood	Chi2 test

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
Dumas, 2013[49]	France (Jan 2003-Dec 2009)	Multicenter Retrospective	100 days ^e	UCBT	175	Median: 23 years Range: (0.6-64) years	Pediatrics & Adults	EBV viremia was defined as detection and quantification of EBV DNA in peripheral blood according to each transplant center RQ-PCR threshold	At least one test per week during the first 100 days post-transplant and thereafter when clinically indicated	Peripheral blood	The variables with a p-value <0.1 in univariate analysis were considered in the multivariate model of Fine Gray
Düver, 2020[50]	Germany (January 2005-December 2015)	Retrospective	Median 365 days (range: 22-365 days)	BM, PB, only one patient received CB	107	Median 9 years (range: 2 months-22.2 years)	Pediatrics	EBV-DNA>200 copies	One or twice a week in the first 40 days, weekly from day 40 to 60 and from day 60 on every second week until day 100.	Serum or plasma	Chi2, Fisher's exact test and binary logistic model. Only variables with p<0.20 were considered in binary logistic model.
Elmahdi, 2016[51]	Japan (July 1999-Nov 2011)	Retrospective	NR	BM, BM +PBSC, UCB	37	Median: 8 years Range: (1-19) years	Pediatrics	Peripheral virtual load >1 x 10 ^{2.5} copies/µg DNA of peripheral blood mononuclear cells or a viral load >20000 copies/mL in whole blood without the presence of symptoms	Weekly testing	Peripheral blood or whole blood	Univariate and multivariate Cox models. Only factors with a p-value <0.1 in univariate analysis were included in the multivariate model
Fan, 2016[52]	China (Jan 2012-June 2012)	Retrospective	12 months	PBSC, PBSC+ BM	44 ^f	Median: 26 years Range: (16-55) years	Pediatrics & Adults	NR	The tests were performed at least once a week during the first month, twice a week during the 2 nd and 3 rd months and then once or twice a month until December 2012	Plasma	Binary logistic regression
Figgins, 2019[53]	USA (March 2016-June 2017)	Retrospective	Median 12.8 months (range: 1.0-23.1 months)	HSCT	123	Range: 19-77 years	Adults	Positive EBV PCR test	NR	Serum	Log-rank test
Fujimoto, 2019[54]	Japan (January 1990-December 2016)	Multicenter retrospective	NR	BM, PB, CB	64,539	Range: 16-88 years	Pediatrics & Adults	Diagnosis of PTLD established by treating physicians and hematologic pathologists	NA	NA	Univariate and multivariate Cox model
Gao, 2019[55]	China (March 2014-December 2017)	Retrospective	The endpoint of follow-up was set for April 30, 2018 for all surviving subjects.	PBSC	200	Median 37 years (range: 7-63 years)	Pediatrics & Adults	EBV-VL≥1000 copies/mL	Weekly and the frequency of monitoring should be increased to twice a week in patients with rising DNA copies.	Plasma	Multivariate Fine and Gray model. Only variables with p<0.1 in univariate analysis were included in multivariate model.
								Proven or probable PTLD	NA	NA	NA

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
Garcia-Cadenas, 2015[56]	Spain (Sept 2006-May 2013)	Prospective	Follow-up was stopped after the first 6 months if no EBV reactivation occurred	UCB, PBSC, BM	93	Median: 41 years Range: (18-67) years	Adults	EBV PCR viral load in plasma above 1000 copies of DNA per mL Proven EBV-PTLD was defined as the histologically diagnosed PTLTLD with symptoms and/or signs from affected organ(s). Probable disease was defined as a typical clinical manifestation(s) of PTLTLD plus an EBV viral load >1000 copies per ml, in the absence of other causative factors or established diseases.	Performed weekly NA	Plasma NA	Variables with a p-value <0.1 in univariate analysis were considered in a multivariate Cox model. p-value<0.05 were considered statistically significant.
Han, 2014[57]	Korea (January 2008-March 2013)	Retrospective	6 months	BM, PBSC, CB	248	≤10 years group Median: 5 years Range: (0-10) years 11-20 years group Median: 14 years Range: (11-20) years	Pediatrics	EBV DNA >500 copies/mL at any time during the first 6 months after graft	The tests were initially performed 2 or 3 weeks after graft and then routinely at 1, 3, and 6 months after graft. Depending on positivity outcome, additional tests were performed at 1- to 2-week intervals	Whole blood	Chi2 test
Hiwarkar, 2013[58]	United Kingdom (Jun 2005-Dec 2010)	Retrospective	NR	PBSC, BM, UCB	278	Median: 33 months Range: (0.5-197) months	Pediatrics	EBV load ≥40000 copies/mL	Twice weekly until recovery of the CD4 T-cell count >0.3 x 10 ⁹ L ⁻¹	Whole blood	Chi2 test with Yates correction was used to identify the potential risk factors for EBV. Variables with a p-value <0.2 in univariate analysis were considered in a multivariate logistic regression model
Hoegh-Petersen, 2011[59]	Canada (Jan 2004-Jan 2009)	Retrospective	Median: 375 days Range: 28-1727 days	PBSC, BM	307 No PTLTLD: 282 PTLTLD:25	No PTLTLD: Median:47 years Range:18-66 years PTLTLD:	Adults All patients received ATG	Proven PTLTLD was defined as histologically diagnosed PTLTLD. Probable PTLTLD was defined as typical clinical manifestation(s) of PTLTLD	NA	NA	Chi 2 test or Fisher's exact test for categorical variable, Mann-Whitney-Wilcoxon rank-sum test for

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
						Median:53 years Range:20-65 years		(unexplained fever, lymphadenopathy, splenomegaly, lymphocytosis or imaging-diagnosed mass), with EBV DNAemia above 400 copies per µg blood DNA			continuous variables
Hoshino, 2001[60]	Japan (July 1998-july 2000)	Prospective	NR	BM, UCB, PBSC	38	Mean: 8.6 years Range: (5 months -35 years)	Pediatrics & Adults	EBV load >10 ^{2.5} copies/ µg DNA	Collection of blood samples started from the 2 nd or 3 rd week post-transplant. Tests were performed weekly if there were symptoms of lymphoproliferative syndrome. In the absence of symptoms by 3 months, routine follow-up was stopped.	Peripheral blood	Fisher's exact test
Islam, 2010[61]	United Kingdom (March 2001 to July 2008)	Retrospective	Median: 4.2 years Range: (0.9-8.1) years	BM, PBSC, UCB	48 non-malignant subgroup and 35 malignant subgroup)	NR	Pediatrics & Adults	50 EBV genome copies/mL	Twice weekly until 3 months; once weekly until 6 months and thereafter once every 3 weeks until 12 months post-transplant; additional when clinically indicated	Whole blood	Mann-Whitney, Chi2 test, Fisher's exact test Univariate logistic regression
Issa, 2019[62]	USA (October 2007-September 2016)	Retrospective	NR	BM, PSBC	357	Median 57 years (range: 19-74 years)	Adults	EBV but not specified	Weekly through day +100 post-transplant	Serum	Gray's test
Jaskula, 2010[64]	Poland (2004-2009)	Prospective	1 year	Allogeneic-HSCT	102	≤16 years (16 persons, mean 6.5 years) >16 years (86 persons, mean 42 years)	Pediatrics & Adults	EBV DNA >100 copies/10 ⁵ cells	The tests were performed weekly until the 30 th post-transplant day. Then, monthly for 1 year as well as when there were clinical symptoms of reactivation. The number of measurements ranges between 3 and 30 (median, 9).	Peripheral blood	Fisher's exact test and Mann-Whitney test for univariate analysis. Logistic regression for multivariate analysis
Juvonen, 2007[65]	Finland (1988-1999)	Retrospective	>52 months (mainly in the first 3 months after	BM, PBSC	406	NR	Adults	EBV DNA levels >500 genome equivalents/mL	At least 1 sample of each patient's serum was collected weekly during hospitalization and during post-	Serum	Multivariate Cox model

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
			transplant)						discharge visits. The median number of samples per patient was 14 (range: 1-26).		
Kalra, 2018[66]	Canada (Jan 2007-Sept 2015)	Retrospective	Median: 509 days Range: 6-2576 days	UCB, PBSC, BM	554 No PTLT: 500 PTLD:54	No PTLT: Median:51 years Range:16-67 years PTLD: Median:44.5 years Range:18-66 years	Pediatrics & Adults All patients received ATG	Between Jan 2007 and Apr 2012 PTLT was diagnosed by biopsy. Between May 2012 and Sept 2015 PTLT was diagnosed as at least one symptom/sign/radiologic evidence of PTLT plus EBV DNAemia >40 000 copies/ml. If fever was the only manifestation of PTLT, EBV DNAemia of >400 000 copies/ml was required for the diagnosis of PTLT.	NA	NA	Univariate and multivariate competing risk regression (Fine-Gray model)
Kullberg-Lindh, 2011[67]	Sweden (January 2001-December 2005)	Retrospective	6 months	BM, PBSC, CB	47	Median: 8.6 years Range: (0.9-18) years	Pediatrics	Maximum viral DNAemia	EBV DNA was followed once a week from day 0 to day 100, and, based on clinical suspicion	Serum	Univariate and multiple linear regression
Kutnik, 2019[63]	Poland (2001-2018)	Retrospective	Median 12 months	PBSC, BM	198	Range: 0-18 years	Pediatrics	EBV but not specified	NR	NR	Chi 2 test
Laberko, 2017[68]	Russia (May 2012 to December 2014)	Retrospective	Median 27 months	PBSC	182	Median 6.4 years Range:0.2-23.0	Pediatrics & Adults	EBV above 500 copies viral DNA/mL	Weekly until day 100, thereafter tailored based on continuing immunosuppression, previous history of viral reactivation, and immune reconstitution	Whole blood	2-sided log-rank test or Mann-Whitney test for univariate analysis. Fine and Gray competitive risk model, for multivariate analysis
Landgren, 2009[69]	CIBMTR, USA (1968-1994) FHCRC, Seattle (1969-1996)	Multi-institutional retrospective	>120 months Median> 12 months	Allo-BMT	271 transplant centers 26901	Median 26.6 years Range:0.1-68	Pediatrics & Adults	Of the 127 PTLT cases, 116 were confirmed by centralized histopathologic review of archived tissue or slides or by review of pathology/clinical reports. The information transferred by the transplant centers was considered for 11 cases.	NA	NA	Poisson regression methods for grouped survival data.

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
Li, 2018[70]	China (January 2006 to December 2016)	Retrospective	Median: 32.5 months Range (0.5- 132) months	BM, PBSC	62	Median: 7 years 1 months Range: (1 year 2 months to 16 years 9 months)	Pediatrics	Not provided	Not provided	Not provided	Chi2 test
Lin, 2019[71]	China (June 2013- January 2016)	Multicenter randomized study	1 year	PBSC, BM	408	Range: 14-59 years	Pediatrics & Adults	EBV-DNA in blood positive (≥ 500 copies/mL) twice consecutively	Weekly for the first 3 months after transplantation, once every 2 weeks from the 4th to the 9th month post-transplantation and then once per month from the 10th to the 12th month.	Plasma	Multivariate Cox model
Liu, 2020[72]	China (March 2016-March 2018)	Prospective	NR	PBSC, BM	170	Range: 18-60 years	Adults	EBV-DNA >1000 copies/mL on more than two consecutive occasions	Weekly until day 100 post-transplantation	Peripheral blood	Chi 2, Mann-Whitney U tests and Cox model
								Probable PTLD	NA	NA	Chi 2 and Mann-Whitney U tests
Liu, 2018[74]	China (February 2016 to August 2016)	Prospective	100 days	BM, PBSC	132	Range: (18-59) years	Adults	Two or more consecutive EBV-DNA tests at >1000 copies/mL	Weekly until day 100 after transplantation	Peripheral blood	Mann-Whitney U test, Chi2 test, time-dependent landmark study
Liu, 2013[73]	China (Feb 2009-Aug 2012)	Prospective	Median (range) : 327 (27-1408) days	PBSC, PBSC+ BM, BM	251 ^g	Median: 28 years Range: (12-63) years	Pediatrics & Adults	≥ 500 genome copies/mL.	Weekly during the first 3 months. Biweekly between the 4 th and 9 th months. Monthly between the 10 th and 24 th months. Every 3 months between the 25 th and 36 th months. Once a positive result was obtained, follow-up testing was done twice weekly.	Plasma	Univariate and multivariate Cox models. (Variables for multivariate models were selected using backward stepwise elimination with $p>0.05$ for removal)
Liu, 2013[26]	China (July 2008-May 2011)	Prospective	Median (range) : 495 (45-1158) days	PBSC, PBSC+ BM, BM	172	Median: 29.5 years Range: (12-61) years	Pediatrics & Adults	≥ 500 genome copies/mL	Weekly during the first 3 months. Biweekly between the 4 th and 9 th months. Monthly between the 10 th and 24 th months. Trimonthly between the 25 th and 36 th months. Once a positive result was obtained, follow-up testing was done twice weekly.	Plasma	Logrank test

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
Marinho-Dias, 2019[75]	Portugal (January 2015-December 2015)	Prospective	Median> 120 days	PBSC, BM, UCB	40	Median 32.2 years (range: 1-63 years)	Pediatrics & Adults	Proven PTLD	NA	NA	Chi 2 or Fisher's exact tests for univariate analysis and Cox model for multivariate analysis.
Meijer, 2004[76]	Netherlands (September 2001-December 2003)	Prospective	Nonmyeloablative group Mean: 19 months Range: (7-32) months Myeloablative group Mean: 14 months Range: (6-31) months	BM PBSC	78 ^b 40 in nonmyeloablative group 38 in myeloablative group	Nonmyeloablative group Median: 56 years Range: (24-67) years Myeloablative group Median: 44 years Range: (21-55) years	Adults	≥1000 copies/mL	Weekly until day 120 post-transplant. Thereafter monitoring was continued bi-weekly until day 180 for recipients of an myeloablative regimen, and until 1-year post-transplant for recipients of a non-myeloablative regimen.	Plasma	Wald test
Mountjoy, 2020[77]	USA (January 2007-December 2016)	Retrospective	Non-ATG group Median 677 days (range: 7-3147 days) ATG group Median 504 days (33-2156 days)	HSCT	209	Non-ATG group Median: 53 years (range:18-74 years) ATG group Median: 56 years (range:19-71 years)	Adults	Elevation in viral copy number	At least every 2 weeks until day 100 post-transplant and then at the discretion of the doctor depending on the immunosuppression and the clinical status of the patient.	Peripheral blood	Chi 2 test
Neumann, 2018[78]	Germany (2001 to 2012)	Case-control	2 years	Not provided	44	Median: 49.2 years Range: (19.8-70.0) years	Adults	Not provided	Not provided	Peripheral blood	Wilcoxon rank sum test
Nowak, 2019[79]	Poland (2002-2012)	Retrospective	Median 2.1 months (range 0.2-67.8 months)	PBSC, BM	239	Median 31.6 years (range: 1.0-61.5 years)	Pediatrics & Adults	EBV infection but not specified	NR	NR	Univariate Cox model
Omar, 2009[80]	Sweden (July 2005-June 2007)	Prospective	NR	BM, PBSC, CB	131	Median: 39 years Range:(0.3-70) years	Pediatrics & Adults	EBV viral load was analysed as a continuous variable. The interval of 50-500 copies/mL was set to 225 copies/mL and log ₁₀ values	High-risk group: weekly during first 3 months. Standard risk group: no routine monitoring, only if clinical suspicion of EBV infection.	Serum	Multiple linear regression

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country of Study type	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
								were used in analyses.			
Pagliuca, 2019[81]	France (2010-2017)	Retrospective	Median 47.33 months (range: 3.18-126.20 months)	BM, CB, PB	208	Median: 42.52 years (range: 8.35-74.77 years)	Pediatrics & Adults	Proven or probable EBV-PTLD	NA	NA	Fine and Gray model. Stepwise backward procedure was used. All predictors with a p <0.10 were considered and sequentially removed if the pvalue in the multivariable model was >0.05.
Park, 2020[82]	Korea (August 2004-April 2016)	Retrospective	NR	HSCT	114	Median 43.5 years (range: 2-71 years)	Pediatrics & Adults	EBV infection but not specified	NR	NR	Chi 2 or Fisher's exact tests
Patriarca, 2013[4]	Italy (Jan 2008-Dec 2010)	Prospective	Median: 7 months Range: (2-36) months	PBSC, BM	100 ⁱ	Median: 50 years Range: (20-70) years	Adults	≥10000 genome copies/mL	Weekly during the first 3 months post-transplant and biweekly between the 3 rd and 6 th months.	Whole blood	Variables with a p-value ≤0.1 in univariate analysis were considered in a multivariate logistic model
Peric, 2012[83]	France (Jan 2005-Jun 2009)	Retrospective	Median: 468 days Range: (92-1277) days	UCBT	33	Median: 50 years Range: (18-66) years	Adults	EBV PCR load above 1000 copies EBV DNA/10 ⁵ cells	The tests were performed weekly during the first 6 months post-transplant. After 6 months, if there was no reactivation, the tests were performed monthly and whenever clinically relevant.	Peripheral blood	Mann-Whitney test and Fisher's Exact test
Peric, 2011[84]	France (Jan 2005-Jun 2009)	Retrospective	Median: 655 days Range: (92-1542) days	PBSC, BM	175	Median: 56 years Range: (18-71) years	Adults	EBV PCR load above 1000 copies EBV DNA/10 ⁵ cells	Weekly during the first 6 months post-transplant and thereafter when clinically relevant.	Peripheral blood	The variables with a p-value <0.3 in univariate analysis (Mann-Whitney test or Fisher's exact test) were considered in a Fine Gray model
Ru, 2020[85]	China (July 2011-July 2014)	Retrospective	NR	HSCT	890	Median 32 years (range: 2-63 years)	Pediatrics & Adults	EBV-VL≥10 ² copies/mL	Weekly until day 90 post-transplant and once every 2 weeks from +90 days until +180 days. After this date, tests were carried out in the presence of clinical signs	Whole peripheral blood	Univariate and multivariate Cox models. Only variables with pvalue <0.1 in univariate analyse were considered in multivariate model.

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
Rustia, 2016[86]	United States of America (2008-2014)	Retrospective	180 days	CB, PBSC, BM	140	Mean: 9.46 years SD: (6.09) Range: (0.25-22) years	Pediatrics	≥1000 copies/mL on 2 consecutive PCR tests	Weekly for 180 days after transplant	NR	Chi2 test
Sanz, 2014[87]	Spain (May 1997 to December 2012)	Retrospective	3 years	UCB	288 -241 MAC group - 47 RIC group	MAC group Median: 34 years Range: (16-57) years	Pediatrics & Adults	EBV viremia detected on at least 2 consecutive samples (positivity cut-off: 900 copies of EBV DNA per mL of plasma)	Weekly from day 7 post-transplant to day 100, every 2 weeks until day 180 and monthly thereafter for the first year.	Plasma	Gray test for comparisons cumulative incidence. Fine and Gray for competing events (relapse and death without EBV reactivation) used for multivariate analyses with variables with a p-value < 0.10.
						RIC group Median: 46 years Range: (13-65) years		Proven EBV-PTLD was defined according to the European Conference on Infections in Leukemia guidelines.	NA	NA	
Sirvent-von Buelzingsloewen, 2002[88]	France (Oct 1995-May 1998)	Multicenter Prospective	Median: 306 days Range: (26-867) days	SCT	85 ⁱ	NR	Pediatrics & Adults	>300 copies/μg DNA	Prior to transplantation and on days +30, +60 and +90 post-transplantation	Peripheral blood	Chi-square test, and logistic regression for multivariate analysis
Styczynski, 2013[89]	EBMT (1999-2011)	Multicenter retrospective	NR	CB, PBSC, BM	19 transplant centers 4466	NR	Pediatrics & Adults	Proven PTLD was diagnosed by biopsy or other invasive procedure, with a test with appropriate sensitivity and specificity together with symptoms and signs from the affected organ. Probable PTLD was defined as significant lymphadenopathy or other end-organ disease accompanied by a high EBV-DNA blood load, in the absence of other etiologic factors or established diseases	NA	NA	NR
Torre-Cisneros, 2004[90]	Spain (Oct 1999-Jan 2002)	Prospective	12 months	BMT	100 ^k	Median: 22 years Range: (5-50) years	Pediatrics & Adults	≥ 50 genome equivalents/mL plasma	Biweekly for the first 100 days and then monthly until the 12 th month post-transplant. Further tests were carried out when	Plasma	Univariate and Multivariate Cox models

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
									clinically indicated.		
Trottier, 2012[91]	Canada (1993-2009)	Retrospective	1 year	PBSC, UCB, BM	238	NR	Pediatrics	EBV-VL above minimum threshold value (value NR)	EBV-viral load was tested at regular intervals of two weeks or less for approximately 4 months or as long as immunosuppression persisted (following hospital protocol)	NR	Multivariate Cox model
Tsoumakas, 2019[92]	Greece (September 2011-September 2015)	Prospective	≥1 year	BM, PBSC	110	Median: 8 years (range: 0.08-18.5 years)	Pediatrics	Positive EBV PCR test	Weekly until day 100. After that, tested whenever clinically suspected	Peripheral blood	Univariate and multivariate Cox models
Uhlen, 2014[93]	Sweden (1996-2011)	Retrospective	NR	PBSC, BM and UCB	1021	Patients without PTLT Median: 38 years Range: <1-77 years Patients with PTLT Median: 37 years Range: 1-67 years	Pediatrics & Adults	PTLT was diagnosed according the histological criteria reported for B-cell lymphoproliferative states following transplantation.	NA	NA	Gray test for univariate analysis and Fine-Gray competitive risk model for multivariate analysis. All factors with p≤0.1 in univariate analysis were included in the multivariate model. A stepwise backward procedure has used to retain in the model factors with p≤0.05.
van der Velden, 2013[94]	The Netherlands (2006-2011)	Retrospective	Minimum 6 months of follow-up	Allo-SCT	273 EBV infection (61) No EBV infection (212)	EBV infection Median: 47 years Range: (19-66) years No EBV infection Median: 51 years Range: (19-66) years	Adults	EBV-DNAemia was considered synonymous with infection when the PCR for EBV-DNA was ≥log 3 copies/ml. and EBV disease was defined as either probable EBV disease or proven disease	NA	NA	t-test, Mann-Whitney U-test or Fisher's exact test for the univariate analysis. Only variables with p≤0.2 on univariate analysis were considered in backward logistic regression analysis.
Van Esser, 2001[95]	Netherlands, Germany, Italy (March 1996-Jun 1999)	Multi-country Prospective	180 days	Allo-SCT	Total: 152 TCD-SCT and 67 non-TCD-SCT	TCD-SCT group Median: 41 years Range: (17-55) years	Pediatrics & Adults	EBV DNA level in plasma exceeding 50 genomes equivalents/mL Proven PTLT	Biweekly up to 180 days post-transplant. NA	Plasma NA	Variables with a p-value <0.05 in univariate analysis (Log-rank test and Cox model) were considered

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
						non-TCD-SCT group Median: 31 years Range: (17-56) years					in a multivariate Cox model
Wang, 2019[96]	China (December 2007 - June 2016)	Retrospective	Until death or 08 February 2017	BM, PBSC	186	Median 39 years (range: 7-62 years)	Pediatrics & Adults	EBV-VI \geq 1000 copies/mL	Every week for three months post-transplantation, and every two weeks between day 90 to day 180 post-transplantation	Peripheral blood	Univariate and multivariate Fine and Gray models.
Xu, 2015[97]	China (2006-2012)	Case-control study	NR	Haploidentical HSCT	PTLD: 45 Controls: 135 Each PTLD case was matched to 3 controls randomly selected from the same the cohort. Matching criteria included age at the time of HSCT (\pm 5 years), time of the HSCT (\pm 4 months), and transplantation duration (\pm 3 months).	PTLD Median:25 years Range:3-49 years Controls Median:27 years Range:3-48 years	Pediatrics & Adults	Proven PTLD was diagnosed if EBV were detected in a specimen obtained from an organ by biopsy or other invasive procedure according to a test with appropriate sensitivity and specificity together with symptoms and signs from the affected organ. Probable PTLD was defined as significant lymphadenopathy or other end organ disease accompanied by a positive EBV-DNA blood load in the absence of other etiologic factors and established diseases.	NA	NA	Univariate and multivariate Cox regression. Factors with p-value <.10 in the univariate analysis were included in the multivariate regression
Xuan, 2012[98]	China (Feb 2009- Dec 2011)	Prospective	Median (range): 319 (27-1194) days	PBSC, PBSC+BM, BM	185	Median: 28 years Range: (12-63) years	Pediatrics & Adults	\geq 500 genome copies/mL	Weekly during the first 3 months. Biweekly between the 4 th and 9 th months. Monthly between the 10 th and 24 th months. Trimonthly between the 25 th and 36 th months. Once a result was positive, the testing was done twice weekly.	Plasma	Univariate and multivariate Cox models (backward stepwise elimination with p \geq 0.05 for removal) Conditioning group variable was included regardless of significance.
Xuan, 2013[16]	China (July 2008 - June 2012)	Prospective	Median (range): 374 (27-	Allo-HSCT	263	Median: 29 years Range: (11-63) years	Pediatrics & Adults	EBV-PTLD was diagnosed according to the criteria of World	NA	NA	Univariate and multivariate Cox regression models

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
			1554) days					Health Organization			
Yu, 2019[99]	China (September 2016-March 2017)	Prospective	NR	Allo-HSCT	90 (45 for long-term MMF treatment group and 45 for short-term treatment group)	Long-term group Median 29 years (range: 15-58 years) Short-term group Median 35 (range: 14-58 years)	Pediatrics & Adults	EBV infection but not specified	NR	NR	Univariate and multivariate Cox models. Only variables with p-value <0.1 in univariate analyse were considered in multivariate model. Using a forward stepwise approach, only variables with pvalue<0.05 were retained in final model.
Zallio, 2013[23]	Italy (March 2005-Dec 2011)	Prospective	180 days	PBSC, BM, UCB	100	Median: 50 years Range: (20-70) years	Adults	>500 genome copies/mL	Weekly during the first 3 months post-transplant. If GvHD after day 100, test was continued until immunosuppressive therapy discontinuation	Whole blood	Chi2 test for univariate analysis and Logistic regression model for multivariate analysis ¹
Zhou, 2020[100]	China (November 2008-June 2016)	Retrospective	Median 59.2 months (range: 2.03-113.8 months)	BM, PBSC	131	Median 18 years (range: 2-58 years)	Pediatrics & Adults	EBV DNA>500 copies/mL in two consecutive time points without EBV-associated disease.	Every week in the first 30 days post-transplant and every two weeks until 3 months post-transplant or until EBV DNA copies was undetectable.	Whole blood	Univariate and multivariate Cox models. Only variables with pvalue <0.1 in univariate analyse were considered in multivariate model.
Zhou, 2020[101]	China (November 2007-June 2015)	Retrospective	Median 64.7 months (range, 2.03-113.8 months),	Haplo-HSCT	116	Range: 4-58 years	Pediatrics & Adults	Probable and proven PTLD	NA	NA	Cumulative incidence method in presence of competing event

^aAlemtuzumab has been considered in the conditioning protocol of all patients and only patients with at least 6 months of follow-up were considered.
^bAlmost all patients received the standard conditioning regimen.
^cAll of these patients had positive EBV serology, survived beyond 40 days and received cyclosporine beyond 30 days post-transplant.
^dOf the 40 patients, 5 were excluded: 3 because of related early transplant mortality and 2 due to relapse before 60 days of follow-up.
^eFactors associated with EBV reactivation were assessed after 100 days of follow-up. It should be noted, however, that a follow-up period of 2 years was considered for the diagnosis of cases of post-transplantation lymphoproliferative syndrome.
^fAll patients in the study had positive CMV serology and negative PCR tests for herpes viruses (EBV, CMV, and HHV-6) one week after transplantation.
^gAll patients had a negative EBV PCR test at the start of follow-up.
^hAll except 1 (receiving bone marrow), received a peripheral blood stem cell graft.
ⁱAll patients had a follow-up duration > 30 days post-transplant.
^jFive patients with post-transplant lymphoproliferative syndrome were excluded. Analysis of risk factors for EBV reactivation concerns 80 patients.
^kAll patients had positive EBV serology before transplantation.
^lThe information on the use of the logistic regression model does not appear in the article; it was given to us by the first author of the article.

Abbreviations:

Table S3: Characteristics of the 77 studies included in the systematic review

First author, year	Country (Date of graft)	Study type	Post-graft follow-up duration	Population				EBV DNAemia/PTLD definition	Frequency of testing	Blood compartment used for the test	Statistical methods
				Graft type	Sample	Age	Pediatrics /Adults				
<p>Allo: allogeneic; Allo-HSCT: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; BM: bone marrow; BMT: bone marrow transplant; CB: cord blood; CIBMTR: Center for International Blood and Marrow Transplant Research; CIC: conventional-intensity conditioning; DNA: deoxyribonucleic acid; EBV: Epstein-Barr virus; ; EBV-VL: EBV viral load; EMBT: European Group for Blood and Marrow Transplantation; FHCRC: Fred Hutchinson Cancer Research Center; GvHD: graft-versus-host disease; Haplo-HSCT: haploidentical hematopoietic stem cell transplantation; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; IBMTR: International Bone Marrow Transplant Registry; IQR: interquartile range; MAC: myeloablative conditioning; MMF: mycophenolate mofetil; NA: not applicable; NR: not reported; PBMC: peripheral blood mononuclear cells; PBSC: peripheral blood stem cells; PCR: polymerase chain reaction; PTLD: post-transplant lymphoproliferative disorders; RIC: reduced-intensity conditioning; SCT: stem cell transplant; SD: standard deviation; TCD: T-cell depletion; UCB: umbilical cord blood; UCBT: umbilical cord blood transplant.</p>											

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Recipient age					
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	> vs. ≤ 25 years	NR	OR=1.54 (1.136-2.703); p=0.034
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	≥ 50 years vs. < 50 years	HR=1.54 (1.02-2.31); p=0.039	HR=1.30 (0.76-2.23); P=0.342
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	>18 vs. ≤18 years	p=0.008	NS
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	≥10 vs. <10 years	HR=0.646 (0.261-1.741); p=0.39	
Tsoumakas, 2019[92]	EBV	P	≥ 8 vs <8 years	HR=1.22 (0.52-2.88)	NI
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	< 20 vs. ≥20 - ≤40 vs. >40 years	NS	NS
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	≥40 vs. <40 years	p=0.229	NI
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	≥20 vs. <20 years	OR=2.50 (0.62-10.1); p=0.173	-
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	≥35 vs. <35 years	OR=1.61 (0.41-6.34); p=0.366	-
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	<30 vs. ≥30 years	HR=1.218 (1.049-1.413); p=0.010	HR=1.041 (0.763-1.420); p=0.799
Czyżewski, 2019[47]	EBV	P & A	Children vs. Adults	OR=15.7 (9.2-26.1); p<0.0001	-
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	≤18 vs. >18 years	HR=0.750 (0.307-1.835); p=0.529	NI
Sirvent-von Buelzingsloewen, 2002[88]	EBV	P & A	< 18 vs. ≥18 years	p=0.12	NS
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	Continuous	NR	HR=0.989 (0.9-1.01); p=0.318
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	Continuous	slope=-0.03; p=0.58	slope=-0.06; p=0.09
Düver, 2020[50]	EBV	P	Age (continuous)	-	OR=1.08 (1.00–1.17); p=0.057
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Continuous		HR= 1.026 (0.97-1.08); p= 0.36
Peric, 2011[84]	EBV	A	Continuous	p=0.97	-
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Continuous	p=0.498	-
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	Continuous	NS	
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	Continuous	NR	NR (NS)
Auger, 2014[33]	EBV	A	Median age of patients with EBV reactivation vs. median age of patients without EBV reactivation	NS	-
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	< vs. ≥8.97 (median) years	p=0.6	
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	Categories unspecified	NS (NR)	
Han, 2014[57]	EBV	P	≤10 vs. 11-20 years	p=0.857	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	Median age of patients with EBV reactivation vs. median age of patients without EBV reactivation (Non-malignant group, Malignant group)	(p=0.20, p=0.23)	-
Peric, 2012[83]	EBV	A	Continuous	p=0.36	-
Ali, 2019[30]	PTLD	P	Age (continuous)	p=0.542	-
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	≥40 vs. <40 years	p=0.115	HR=0.4 (0.2-0.9); p=0.032
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	≥50 years	-	RR=5.1 (2.8-8.7)
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	< 20 yrs vs. ≥20 - ≤40 yrs vs. >40 yrs	0.185	0.444
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	≤45 vs. >45	SHR=1.67; p=0.05	SHR=1.09, p=0.79
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	≥18 vs. <18 years	HR=0.62 (0.29-1.30); p=0.205	
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	<20 vs. ≥20 & ≤40 vs. > 40 years	NS	NS
Buyck, 2009[39]	PTLD	P & A	Continuous	HR=1.05 (0.99-1.12); p=0.12	-
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	Continuous	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	Categories unspecified	-	NR (NS)
Donor age					
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Lin, 2019[71]	EBV	P & A	≥27 vs. <27 years		HR=0.90 (0.63-1.29); p=0.570
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	≥40 vs. <40 years	p=0.510	NI
Tsoumakas, 2019[92]	EBV	P	≥31.7 vs. <31.7 years	HR=5.35 (1.8-15.92); p=0.003	NI
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	≥40 vs. <40 years	p=0.792	NI
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	≤45 vs. >45	SHR=2.09, p=0.03	SHR=1.93, p=0.10
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	≥ vs. < Median	HR=1.55 (0.77-3.15); p=0.224	
Recipient sex					

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	Male vs. female	HR=1.22 (0.80-1.88); p=0.360	-
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	Categories unspecified	p>0.15	-
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	Male vs. Female	HR=0.70 (0.27-1.84); p=0.472	-
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	Female vs. Male	p=0.07	OR=2.48; p=0.070
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	Male vs. Female	slope=-0.20; p=0.69	slope=-0.08; p=0.86
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Male vs. Female	p=0.55	HR= 0.97 (.51-1.85); p=0.92
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	Male vs. Female	NS	NS
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Categories unspecified	p=0.277	-
Peric, 2011[84]	EBV	A	Categories unspecified	p=0.85	-
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	Female vs. Male	NR	NR (NS)
Sirvent-von Buelzingsloewen, 2002[88]	EBV	P & A	Categories unspecified	p=0.2	NS
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	Categories unspecified	NS	-
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Female vs. Male	p=0.512	NI
Lin, 2019[71]	EBV	P & A	Female vs. Male		HR=0.70 (0.47-1.05); p=0.084
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	Female vs. Male	OR=8.33 (0.93-100); p=0.033	-
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	Female vs. Male	NR (at day +150 post-transplantation)	NS (NR)
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	Male vs. Female	HR= 1.016 (0.847-1.181); p 0.835	NI
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Female vs. Male	HR=1.240 (0.506-3.085); p=0.628	NI
Auger, 2014[33]	EBV	A	Male vs. Female	NS	-
Peric, 2012[83]	EBV	A	Male vs. Female	p=1.00	-
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Male vs. Female	p=0.8	-
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	Male vs. Female	p=0.190	-
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	Categories unspecified	NS (NR)	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	Male vs. Female (Non-malignant group, Malignant group)	(p=0.82, p=0.18)	-
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Female vs. Male	p=0.746	-
Buyck, 2009[39]	PTLD	P & A	Female vs. Male	HR=0.93 (0.16-5.57); p=0.94	-
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	Male vs. Female	p=0.333	p=0.276
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	Male vs. Female	HR=0.79 (0.36-1.75) p=0.562	-
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	Male vs. Female	NS	NS
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	Female vs. Male	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Male/Female	NR	NR (NS)
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	Categories unspecified	-	NR (NS)
Donor sex					
Fan, 2016[52]	EBV	P & A	Male donor	NR	OR=13.240 (2.0-87.39); p=0.007
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	Female donor	p=0.03	OR=2.82; p=0.044
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Female vs. Male	p=0.002	HR=0.6 (0.4-1.0); p=0.034
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Female vs. Male	HR=0.481 (0.195-1.184); p=0.111	NI
Peric, 2011[84]	EBV	A	Categories unspecified	p=0.85	-
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Female vs. Male	p=0.201	HR=0.9 (0.4-2.4); p=0.870
Donor/recipient sex					
Cesaro, 2004[40]	EBV	P	Sex D/R (Female/male vs. Other)	p=0.8	-
Kutnik, 2019[63]	EBV	P	D/R Sex (Female-Female vs. Female-Male vs. Male-Female vs. Male-Male)	p=0.29	-
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	Female donor to male recipient	p=0.09	NS
Pagliuca, 2019[81]	PTLD	P & A	Sex mismatched (Yes vs. No)	-	SHR=4.69 (1.35-16.22); p=0.015
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	Female donor to male recipient	p=0.9	-
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	Female donor to male recipient	HR=0.65 (0.26-1.64) p=0.365	-
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Female donor to male	NR	NR (NS)
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Fan, 2016[52]	EBV	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Diagnosis					
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	AL vs. (Lymphoma, MM, and others)	p=0.844	-

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Peric, 2011[84]	EBV	A	Lymphoid vs. Myeloid malignancies	p=0.14	SHR=1.3 (0.4-1.5); p=0.72
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	NHL vs. AML/MDS	HR=0.10 (0.03-0.33); p=0.0001	HR=0.18 (0.05-0.57); P=0.004
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	ALL vs. AML/MDS	HR=0.80 (0.41-1.56); p=0.513	HR=0.89 (0.45-1.75); P=0.734
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	HL vs. AML/MDS	HR=0.80 (0.34-1.84); p=0.585	HR=1.63 (0.64-4.16); P=0.308
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	CLL vs. AML/MDS	HR=1.01 (0.48-2.11); p=0.989	HR=0.87 (0.41-1.85); P=0.724
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	MPD vs. AML/MDS	HR=0.95 (0.43-2.10); p=0.905	HR=0.95 (0.43-2.11); P=0.907
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	Other vs. AML/MDS	HR=1.26 (0.54-2.93); p=0.591	HR=3.01 (0.94-9.65); P=0.063
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	HL vs. AML	NR	HR=3.534 (1.514-8.249); p=0.004
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	NHL vs. AML	NR	HR=0.678 (0.249-1.848); p=0.448
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	MPD vs. AML	NR	HR=2.006 (0.828-4.858); p=0.123
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	CLL vs. AML	NR	HR=3.767 (1.375-10.322); p=0.01
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	Other disease vs. AML	NR	HR=1.449 (0.486-4.319); p=0.506
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	Hodgkin's disease vs. other diagnosis	NR	SHR=11.6 (3.4-40.0); P<0.0001
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Malignant vs. Non-malignant	p=0.49	HR= 1.19 (0.59-2.41); p=0.63
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	P	hematological vs. primary immunodeficiency vs. metabolic	p>0.2	-
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Lymphoid malignancies vs. Myeloid malignancies	p=0.526	NI
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	Lymphoma vs. Other	HR=1.218 (0.692-2.143); p=0.494	NI
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Underlying disease (MDS vs. AL)	HR=1.705 (0.372-7.872); p=0.492	NI
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Underlying disease (AA vs. AL)	HR=3.411 (0.932-12.475); p=0.064	HR=4.369 (0.484-39.451); p=0.189
Cohen, 2005[45]	EBV	P	PID vs. Not PID	OR=2.53 (1.07-5.97)	OR=1.19 (0.45-3.12)
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Non-malignant vs. Malignant	p=1.0	-
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	Acute lymphoblastic leukemia vs. Severe aplastic anemia vs. Acute myeloid leukemia vs. Other	p=0.027	-
Chiereghin, 2019[43]	EBV	P & A	ALL vs. AML vs. CML vs. Other	p=0.924	-
Peric, 2012[83]	EBV	A	Myeloid malignancies vs. Lymphoid malignancies vs. Aplastic	p=0.28	-
Auger, 2014[33]	EBV	A	Aplastic anemia vs. Chronic myeloid leukemia vs. Acute leukemia and Myelodysplastic syndromes	NS	-
Auger, 2014[33]	EBV	A	Lymphoproliferative disorders (Lymphoma vs. Chronic lymphocytic leukemia vs. Myeloma)	NS	-
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	Categories unspecified	NS (NR)	-
Cohen, 2005[45]	PTLD	P	PID vs Not PID	OR=2.69 (0.72-10.1)	-
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	ALL vs. AML/MDS	HR=0.99 (0.69-1.44); p=0.98	HR=1.08 (0.75-1.57); p=0.68
			CML/MPD vs. AML/MDS	HR=0.94 (0.56-1.57); p=0.81	HR=1.55 (0.89-2.69); p=0.12
			Lymphoid malignancies vs. AML/MDS	HR=1.24 (0.88-1.75); p=0.22	HR=1.33 (0.92-1.92); p=0.13
			AA vs. AML/MDS	HR=4.95 (3.47-7.07); p<0.001	HR=5.19 (3.32-8.11); p<0.001
			Others vs. AML/MDS	HR=1.91 (0.97-3.76); p=0.06	HR=1.94 (0.97-3.89); p=0.06
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Lymphoid malignancies vs. Myeloid malignancies	p=0.509	NI

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Ali, 2019[30]	PTLD	P	ALL	p=0.022	-
			AML/MDS		
			SAA		
			Thalassemia		
			Metabolic disease		
			Other benign diseases		
			Other malignant diseases		
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Malignant vs. Non-malignant	p=0.616	-
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	Acute leukemia vs. Non acute leukemia	HR=0.93 (0.64-1.35) p=0.710	
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	Categories unspecified	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Lymphoma vs. Other	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Lymphoid vs. Myeloid	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Malignant vs. Non-malignant	NR	NR (NS)
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	Categories unspecified	-	NR (NS)
			Genotype		
Bogunia-Kubik, 2005[35]	EBV	P & A	Recipient having Interferon- γ gene (IFNG) 3/3 genotype vs. other IFNG genotype	p<0.001	OR=7.284; p=0.005
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	Presence of the C-C chemokine receptor 5 (CCR5) deletion mutation	p=0.008	OR=0.17 (0.034-0.803); p=0.026
Nowak, 2019[79]	EBV	P & A	Presence of inhibitory KIR:HLA (Yes vs. No)	HR=7.79 (1.88-32.32); p=0.0047	-
Nowak, 2019[79]	EBV	P & A	Presence of activating KIR:HLA (Yes vs. No)	HR=0.24 (0.07-0.79); p=0.019	-
Wang, 2019[96]	EBV	P & A	Karyotype (Good vs. Int vs. Poor)	p=0.233	NI
Pagliuca, 2019[81]	PTLD	P & A	Presence of HLA DRB1*11:01 (Yes vs. No)	-	SHR=4.85 (1.57-14.97); p=0.006
			Recipient, donor EBV, CMV serostatus		
Bordon, 2012[36]	EBV	P	EBV (R+ vs. R-)		NS
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	EBV (R+ vs. R-)	p>0.15	-
Sirvent-von Bueltzingsloewen, 2002[88]	EBV	P & A	EBV serostatus (R+ vs. R-)	p=0.15	NS
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	EBV serostatus (R+ vs. R-)	NR	NR (NS)
Düver, 2020[50]	EBV	P	EBV serostatus (R+ vs. R- vs. Unknown)	p=0.37	NI
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	EBV serostatus (R- vs. R+)	p=0.5	
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	EBV serostatus (R+ vs. R-)	p=0.133	-
Düver, 2020[50]	EBV	P	Donor EBV serostatus (D+ vs. D- vs. Unknown)	p=0.032	NS (NR)
Lin, 2019[71]	EBV	P & A	D/R EBV serostatus (D-/R+ vs. Other)		HR=1.58 (1.01-2.46); p=0.046
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	EBV serostatus D+/R- vs. D+/R+	p=0.3	HR= 2.85 (1.12-7.28); p= 0.028
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	EBV serostatus D-/R+ vs. D+/R+	p=0.26	HR= 0.32 (0.05-2.0); p= 0.22
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	EBV serostatus D-/R- vs. D+/R+	No events	No events
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	EBV serostatus Unknown vs. D+/R+	p=0.97	HR= 1.23 (0.53-2.9); p= 0.63
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	D/R EBV serostatus Matches vs. Mismatches	NS	NS
Cesaro, 2004[40]	EBV	P	EBV (D-/R- vs. Other)	p=0.08	-
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	EBV serostatus (D+/R+ vs. D+/R-)	HR=3.316 (0.388-28.316); p=0.273	NI
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	Mismatch of EBV recipient serological status with maternal serology	p>0.15	-
Peric, 2011[84]	EBV	A	EBV serostatus R+ and D+ vs. R- and D- vs. R- and D+	p=1.00	-
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	D/R EBV serostatus (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	D/R IgG serostatus (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	EBV serostatus (D- vs. D+)	p=0.1	

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	D/R EBV serostatus NR	NS (NR)	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	EBV IgG D- vs D+ (Non-malignant group, Malignant group)	(p=0.4, p=1)	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	EBV IgG R- vs R+ (Non-malignant group, Malignant group)	(p=0.14, p=0.60)	-
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	Presence of EBV IgG antibodies in the donor (Yes vs. No)	p=0.03	NS (NR)
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	EBV serostatus (R+ vs. R-)	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	D EBV+ R EBV- vs. Others	NR	SHR=4.97 (2.30-10.7); p<0.001
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	EBV serostatus D+R- vs D+R+	SHR=2.96, p=0.03	
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	EBV serostatus D-R+ vs D+R+	SHR=1.36 p=0.47	
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	EBV serostatus D+R- vs D-R+	SHR=2.09 p=0.24	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	EBV serostatus (D+/R- vs. others)	HR=1.00 (0.58-1.71) p=1.000	
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	D/R EBV serostatus matched vs. mismatched	NS	NS
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	EBV serostatus (D+ or R+, R-/D+)	-	NR (NS)
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	CMV serostatus R+ vs. R-	p>0.15	-
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	CMV serostatus (R+ vs. R-)	NR	NR (NS)
Xuan, 2012[98]	EBV	P & A	D/R CMV serostatus matched vs. mismatched	NS	NS
Cesaro, 2004[40]	EBV	P	CMV serostatus (D-/R- vs. Other)	p=0.4	-
Peric, 2011[84]	EBV	A	CMV serostatus (R+ or D+ vs. R- and D-)	p=0.84	-
Peric, 2012[83]	EBV	A	CMV serostatus (R+ vs. R-)	p=1.00	-
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	CMV serostatus (R- vs. R+)	p=1.0	-
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	CMV serostatus (D- vs. D+)	p=0.6	-
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	Categories unspecified	NS (NR)	-
Buyck, 2009[39]	PTLD	P & A	CMV serostatus (R+ vs. R-)	HR=0.25 (0.03-2.20); p=0.21	-
Brunstein, 2006[37]	EBV/PTLD	P & A	CMV serostatus (R- vs. R+)	-	HR=3.0 (0.9-9.7) p=0.07
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	CMV serostatus (R+ vs. R-)	NR	NR (NS)
			CMV reactivation/infection		
Bordon, 2012[36]	EBV	P	CMV viremia (Yes vs. No)		NS
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	CMV reactivation (Yes vs. No)	NR	HR=0.89 (0.50-1.59); p=0.690
Zallio, 2013[23]	EBV	A	CMV reactivation (Yes vs. No)	p=0.013	Significant but NR
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	CMV infection (Yes vs. No)	p=0.690	-
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	CMV reactivation (Yes vs. No) [†]	p=0.22	-
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	CMV reactivation (Yes vs. No)	p=0.369	-
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	CMV DNAemia (Yes vs. No)	p<0.001	HR=5.9 (2.5-13.9); p<0.001
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	CMV DNAemia (Yes vs. No)	HR=84.00 (10.159-694.585); p=0.000	HR=97.754 (9.477-1008.304); p=0.000
Chiereghin, 2019[43]	EBV	P & A	CMV infection (Yes vs No)	p=0.492	-
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	P & A	Replication of CMV (Yes vs. No)	HR=3 (1.5-6); p=0.0013	HR=2 (0.7-7.1); p=0.12
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	P & A	CMV load >2500 copies/mL	HR=3 (1.7-6); p=0.0004	HR=2.1 (0.9-7); p=0.061
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	P & A	CMV disease	HR=1.3 (0.6-2.8); p=0.53	NI
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	P	Positive donor and recipient serology (CMV or EBV) or host adenoviral infection	OR=4.6; p<0.0001	Significant but NR
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	CMV reactivation (Yes vs. No)	p=0.1	NS
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	CMV DNAemia (Yes vs. No)	p<0.001	HR=11.6 (1.2-114.4); p=0.036
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CMV DNAemia (Yes vs. No)	HR=6.12 (1.26-29.64); =0.024	HR=5.68 (1.17-27.57); p=0.031
			Donor type		
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	Sibling vs. unrelated	HR=1.24 (0.83-1.87); p=0.291	-
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	(Sibling, family haploidentical/matched unrelated)	NR	NR (NS)
Juvonen, 2007[65]	EBV	A	Unrelated vs. Sibling	p<0.0001	HR=0.96 (0.41-2.26); P=0.93
Cesaro, 2004[40]	EBV	P	Familial vs. Unrelated	p=0.01	NS
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	(Sibling, matched unrelated)	NR	NR (NS)
Cohen, 2005[45]	EBV	P	Unrelated vs. Related	OR=1.36 (0.59-3.15)	-

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Düver, 2020[50]	EBV	P	Unrelated donor vs. Related donor	p<0.001	OR=5.05 (1.24-20.63); p=0.024
Tsoumakas, 2019[92]	EBV	P	Related donor vs. Unrelated donor	HR=0.37 (0.15-0.96); p=0.042	HR=0.38 (0.15-0.98); p=0.045
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	Unrelated donor (Yes vs. No)	OR=8.0; p=0.043 at day (D) +150 post-transplant	HR=8.8, p=0.030 at D+150
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Unrelated vs. Related	p=0.016	NS
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	MMRD vs. MRD	NR	HR=0.601 (0.081-4.459); p=0.618
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	MUD vs. MRD	NR	HR=0.843 (0.431-1.649); p=0.619
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	MMUD vs. MRD	NR	HR=0.866 (0.387-1.942); p=0.727
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	MRD vs. MUD vs. MMUD		OR=4.00 (0.37-43.14); p=0.253
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	Sibling vs. Unrelated	HR=1.8 (1.1-2.9); p=0.02	HR=0.9 (0.3-2.9); p=0.8
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	Related vs. unrelated	p<0.001	NS
Zallio, 2013[23]	EBV	A	MUD vs. MMUD vs. Sibling	p=0.032	NS
Peric, 2011[84]	EBV	A	MUD vs. MRD	p=0.19	SHR=1.59 (0.8-3.3)
Peric, 2011[84]	EBV	A	MMUD vs. MRD		SHR=2.72 (0.8-8.7)
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Matched unrelated vs. Haploidentical	p=0.76	HR= 1.13 (0.60-2.10); p=0.71
Omar, 2009[80]	EBV	P & A	Unrelated + family mismatched donor vs. HLA-matched donor	NR	p=0.04
Chiereghin, 2019[43]	EBV	P & A	Related donor vs. Unrelated donor	p=0.406	-
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	HLA mismatches ≥ 1 Ag vs. None	HR=0.93 (0.55-1.57); p=0.794	-
Cohen, 2005[45]	EBV	P	HLA-mismatch vs. HLA-match	OR=1.74 (0.74-4.12)	-
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	HLA disparity 6 of 6 vs. 5 of 6 vs. 4 of 6 vs. ≤ 3 of 6	p>0.15	
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	HLA mismatch 2-3 vs. 0-1	HR=1.74 (0.667-4.249); p=0.256	
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	P	≥ 1 HLA Ag mismatch	OR=2.2; p<0.05	NS
Sirvent-von Bueltzingsloewen, 2002[88]	EBV	P & A	HLA non-genoidentical vs. HLA genoidentical	p<0.01	OR=5 (1.5-16.4)
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	P & A	No HLA-matched sibling donor	HR=2.8 (1.5-5.3); p=0.0014	HR=2.1 (0.8-6.2); p=0.069
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	HLA-mismatched vs. HLA-matched	p=0.006	NS
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	HLA Matched vs. mismatched	p<0.001	NS
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	HLA mismatched (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
Fan, 2016[52]	EBV	P & A	HLA mismatched	NR	NR (NS)
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	HLA compatibility (6 of 6, 5 of 6, 4 of 6)	NR	NR (NS)
Peric, 2012[83]	EBV	A	HLA matching 5/6 vs. 4/6	p=0.18	
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Haploidentical donors vs. Matched sibling donors	p<0.001	HR=2.0 (0.8-5.1); p=0.130
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	HLA-haploidentical vs. HLA-identical	HR=2.670 (1.984-3.594); p<0.001	HR=1.830 (1.275-2.627); p=0.001
Tsoumakas, 2019[92]	EBV	P	Matched graft vs. Mismatched graft	HR=0.51 (0.21-1.22)	NI
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Full A, B, DR matched vs. At least 1 allele or antigen mismatched	p=0.4	
Hoshino, 2001[60]	EBV	P & A	HLA Matched vs. Mismatched	p=0.627	-
Hoshino, 2001[60]	EBV	P & A	HLA-matched sibling vs. Alternative donor	p=0.559	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	HLAIDSIB vs. MUD (Non-malignant group, Malignant group)	(p=1, p=0.39)	-
Atay, 2018[32]	EBV	P	MRD vs. 10/10 HLA allele-MUD vs. 9/10 HLA allele-MUD vs. HLA-haploidentical	p=0.25	
Auger, 2014[33]	EBV	A	Unrelated vs. Related vs. Cord blood	NS	-
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	Matched unrelated vs. Related	p=0.039	-

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Li, 2018[70]	EBV	P	Haploidentical donor vs. MRD/MUD	p=0.11	
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Related donor vs. Unrelated donor	p=1.00	-
Ali, 2019[30]	PTLD	P	MRD vs. MMRD vs. MUD vs. MMURD	p=0.446	-
Pagliuca, 2019[81]	PTLD	P & A	Unrelated (Yes vs. No)	-	SHR=2.11 (1.00-4.45); p=0.051
Cohen, 2005[45]	PTLD	P	Donor unrelated vs. related	OR=2.22 (0.55-8.99)	
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	Donor related vs. unrelated	p=0.001	p=0.112
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	Donor related vs. unrelated	p<0.001	NS
Buyck, 2009[39]	PTLD	P & A	Matched unrelated donor vs. HLA identical sibling	HR=2.26 (0.38-13.51); p=0.37	-
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	8/8 matched unrelated donor vs. matched sib donor	SHR=1.51, p=0.19	
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	2+ HLA antigen-mismatched related or unrelated donor, no ATG, no selective T-cell depletion vs. matched sibling or 1 HLA-Ag mismatched relative	-	RR=0.9 (0.3-2.2)
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	2+ HLA antigen-mismatched related or unrelated donor, ATG and/or selective T-cell depletion vs. matched sibling or 1 HLA-Ag mismatched relative	-	RR=3.8 (2.4-6.1)
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	MMRD vs. MRD	HR=10.4 (6.35-17.1); p<0.001	HR=4.39 (2.39-8.07); p<0.001
			MURD vs. MRD	HR=4.89 (3.07-7.79); p<0.001	HR=4.08 (2.39-6.99); p<0.001
			MMURD vs. MRD	HR=5.46 (2.88-10.3); p<0.001	HR=3.20 (1.58-6.47); p=0.001
			CB vs. MRD	HR=7.24 (4.56-11.5); p<0.001	HR=8.03 (4.72-13.7); p<0.001
Cohen, 2005[45]	PTLD	P	HLA mismatched vs. matched	OR=1.49 (0.39-5.59)	
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Haploidentical donors vs. Matched sibling donors	p<0.001	HR=2.0 (0.5-8.3); p=0.350
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	HLA mismatched vs. matched	NR	SHR=5.89 (2.43-14.3); p<0.001
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	HLA matched vs. mismatched	p=0.008	p=0.691
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	HLA matched vs. mismatched	p<0.001	NS
Brunstein, 2006[37]	EBV/PTLD	P & A	HLA, engrafted in doubles (5 of 6 vs. 6 of 6)		HR=0.2 (0.1-1.5) p=0.12
Brunstein, 2006[37]	EBV/PTLD	P & A	HLA, engrafted in doubles (3-4 of 6 vs. 6 of 6)	-	HR=0.9 (0.2-4.7) p=0.94
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	HLA compatibility (6 of 6, 5 of 6, 4 of 6)	NR	NR (NS)
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	8/8 matched vs ≤7/8 matched	SHR=1.30, p=0.34	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	HLA disparity 2-3 loci vs. 1 locus	HR=0.65 (0.18-2.34) p=0.509	
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	HLA mismatched (Categories unspecified)	-	NR (NS)
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Degree of HLA match 10/10 vs. Others	p=0.497	-
sStyczynski, 2013[89]	PTLD	P & A	MMFD/haplo vs. MFD	HR=2.47 (1.17-5.17) p=0.015	-
Styczynski, 2013[89]	PTLD	P & A	MUD vs. MFD	HR=3.43 (2.07-5.74) p<0.001	-
Styczynski, 2013[89]	PTLD	P & A	MUD vs. MMUD	HR=9.72 (5.53-17.17) p<0.001	-
Styczynski, 2013[89]	PTLD	P & A	MMFD or unrelated donor vs. MFD	HR=4.11 (2.55-6.69) p<0.001	-
Graft source					
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	P	PBSC vs. Others	OR=1.8; p=NS	
Juvonen, 2007[65]	EBV	A	PBSC vs. BM	p=0.69	HR=1.42 (0.43-4.68); P=0.57
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	BM vs. PBSC	p=0.511	-
Peric, 2011[84]	EBV	A	BM vs. PBSC	p=0.41	-
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	CB vs. others	p=0.46	-
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	BM vs. PBSC	NS	-
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	(BM, PBSC)	NR	NR (NS)

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Wang, 2019[96]	EBV	P & A	PB + BM vs. PB BM vs. PB	p=0.001	HR=7.89; p=0.003 HR=18.69; p<0.001
Tsoumakas, 2019[92]	EBV	P	PBSC vs. BM	HR=2.55 (1.05-6.15); p=0.038	HR=2.51 (1.04-6.05); p=0.041
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	BM vs. CB	p=0.047	-
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	BM vs. PBSC vs. CB	p=0.529	-
Chiereghin, 2019[43]	EBV	P & A	PBSC vs. CB vs. BM	p= 0.597	-
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	PBSC vs. CB or BM	OR=2.00 (0.37-11.1); p=0.414	-
Auger, 2014[33]	EBV	A	PBSC vs. UCB vs. BM	p=0.06	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	BM vs. PBSC vs. UCB (Non-malignant group, Malignant group)	(p=1, p=0.69)	-
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	CB vs. others	p=0.88	-
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	BM vs. PBSC	Could not be analyzed	-
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	CB vs. PBSC	SHR=2.20, p=0.12	-
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	(BM, PBSC, CB)	NR	NR (NS)
Styczynski, 2013[89]	PTLD	P & A	CB vs. Others	HR=3.61 (1.74-7.46) p<0.001	-
Ali, 2019[30]	PTLD	P	PBSC vs. CB vs. BM	p= 0.017	-
Graft content					
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CD3 ⁺ graft content ≥ vs. < median		OR=0.111 (0.02-0.78); p=0.027
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	CD3 ⁺ cell counts, ×10 ⁸ /kg (>1.92 vs. ≤1.9)	HR=0.608(0.246-1.500); p=0.280	NI
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	Number of CD3 ⁺ infused	NS	-
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CD3 ⁺ CD8 ⁺ graft content ≥ vs. < median		OR=0.05 (0.01-0.43); p=0.007
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CD3 ⁺ CD4 ⁺ graft content ≥ vs. < median		OR=0.48 (0.09-2.63); p=0.395
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	CD4 ⁺ cell counts, ×10 ⁸ /kg (>1.12 vs. ≤1.12)	HR=0.608 (0.246-1.500); p=0.280	NI
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	CD8 ⁺ cell counts, ×10 ⁸ /kg (>0.83 vs. ≤0.83)	HR=0.432 (0.173-1.081); p=0.073	HR=0.731 (0.190-2.667); p=0.615
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ ratio, ×10 ⁸ /kg (>1.38 vs. ≤1.38)	HR=1.752 (0.710-4.323); p=0.224	NI
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CD16 ⁺ graft content ≥ vs. < median		OR=0.31 (0.05-1.85); p=0.200
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CD19 ⁺ graft content ≥ vs. < median		OR=0.48 (0.09-2.63); p=0.395
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CD34 ⁺ graft content ≥ vs. < median		OR=1.8 (0.40-8.18); p=0.447
Peric, 2011[84]	EBV	A	CD34 ⁺ cell count (x10 ⁶ /kg recipient body weight)	p=0.52	-
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	CD34 ⁺ cell count of the graft (>1.35x10 ⁶ /kg)	HR=2.4 (1.4-4.1); P=0.001	HR=2.6 (1.5-4.6); p=0.001
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	Number of CD34 ⁺ cells infused	p>0.15	-
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	Number of CD34 ⁺ cells infused	NR	NR (NS)
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	CD34 ⁺ cell counts, ×10 ⁸ /kg (>3.85 vs. ≤3.85)	HR=1.000 (0.411-2.431); p>.99	NI
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	Number of nucleated cells infused	p>0.15	-
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Dose of α/β T cells > vs. < Median	p=0.70	-
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	B cell dose > vs. < median	p=0.30	-
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	Number of MNCs infused	NS	-
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	MNCs from BM, ×10 ⁸ /kg (>5.60 vs. ≤5.60)	HR=1.393 (0.571-3.394); p=0.466	NI
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	MNCs from PBSCs, ×10 ⁸ /kg (>5.03 vs. ≤5.03)	HR=0.882 (0.363-2.146); p=0.783	NI
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	Number of CFU-GMs infused	NS	-
Xuan, 2012[98]	EBV	P & A	Donor lymphocyte infusion (Yes vs. No)	NS	NS
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	Graft content of CD3 ⁺ (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	Graft content of CD34 ⁺ (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	Number of TNC cells infused	NR	NR (NS)

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Median TNC infused (bone marrow) \geq vs. $<4 \times 10^8/\text{kg}$	p=0.02	
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Dose of TNC infused (bone marrow) \geq vs. $<$ median	p=0.03	
Peric, 2012[83]	EBV	A	Median CD34 ⁺ cell count ($\times 10^5/\text{kg}$ recipient body weight)	p=0.94	
Peric, 2012[83]	EBV	A	Median total nucleated cells infused ($\times 10^7/\text{kg}$ recipient body weight)	p=0.18	
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	CD34 count $< 2 \times 10^6/\text{kg}$ vs. $\geq 2 \times 10^6/\text{kg}$ (Non-malignant group, Malignant group)	(p=0.17, p=0.45)	-
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	Number of CD34 ⁺ cells present in the graft	NS (NR)	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	D100 Lymph count $< 1000/\text{mm}^3$ vs. $\geq 1000/\text{mm}^3$ (Non-malignant group, Malignant group)	(p=0.053, p=1)	-
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	Number of TNC cells infused	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Nucleated dose ($10^8/\text{kg}$)	NR	NR (NS)
Buyck, 2009[39]	PTLD	P & A	Total nucleated cell count per $1 \times 10^8/\text{kg}$	HR=1.01 (0.90-1.14); p=0.82	-
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	TLC for infusion	HR=0.89 (0.18-4.27) p=0.879	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CD3 ⁺ cells count for infusion \geq vs. $<$ median	HR=0.65 (0.13-3.42) p=0.614	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CD4 ⁺ cells count for infusion \geq vs. $<$ median	HR=0.75 (0.22-2.62) p=0.657	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CD34 ⁺ cells count for infusion \geq vs. $<$ median	HR=0.79 (0.32-1.95) p=0.610	
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	Number of CD34 ⁺ cells infused	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Number of CD34 ⁺ cells infused	NR	NR (NS)
Conditioning regimen & GvHD prophylaxis/treatment					
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	MAC vs. RIC	p=0.49	-
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	RIC vs. MAC	p=0.186	-
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	MAC vs. RIC	HR=0.76 (0.44-1.29); p=0.309	-
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	RIC/NMAC vs. MAC		OR=0.257 (0.042-1.573); p=0.142
Cohen, 2005[45]	EBV	P	RIC vs. CIC	OR=5.66 (2.00-15.99)	NR
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	P	RIC vs. others	OR=2.1; p<0.05	NS
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	RIC vs. MAC	NR	SHR=6.0 (2.0-17.6); p=0.001
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	MAC vs. RIC	NR (at day +150 post-transplantation)	NS (NR)
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	RIC vs. MAC	HR=1.049 (0.782-1.406); p=0.750	NI
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	Intensified MAC vs. Standard MAC	p=0.006	HR=1.72 (1.03-2.88); P=0.038
Lin, 2019[71]	EBV	P & A	Intensified conditioning vs. Standard MAC		HR=1.73 (1.18-2.54); p=0.005
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	RIC with ATG vs. MAC	p=0.03	NS
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	RIC without ATG vs. MAC	p=0.26	NS
Bogunia-Kubik, 2007[34]	EBV	P & A	(MAC, RIC)	NR	NR (NS)
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	(MAC, RIC)	NR	NR (NS)
Auger, 2014[33]	EBV	A	MAC vs. RIC	NS	-
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	MAC vs. RIC	p=0.013	-
Chiereghin, 2019[43]	EBV	P & A	MAC vs. RIC	p=0.023	-
Meijer, 2004[76]	EBV	A	MAC vs. NMAC	p<0.05	-
Buyck, 2009[39]	PTLD	P & A	RIC vs. No RIC	HR=8.8 (1.47-52.7); p=0.02	HR=5.00 (0.75-33.30); p=0.1
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	MAC vs. RIC	p=0.97	-
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	RIC vs. MAC	HR=2.00 (1.56-2.55); p<0.001	HR=0.82 (0.60-1.12); p=0.22
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	Standard vs. intensified conditioning	p=0.003	HR=4.46 (1.20-16.61) p=0.026
Brunstein, 2006[37]	EBV/PTLD	P & A	NMAC without ATG vs. MAC	-	HR=0.7 (0.1-6.5) p=0.51
Brunstein, 2006[37]	EBV/PTLD	P & A	NMAC with ATG vs. MAC	-	HR=15.4 (2.0-116.1) p<0.01
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	Intensified MAC vs. Standard MAC	p=0.016	p=0.018

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	RIC vs. MAC	p=0.001	SHR=5.5 (1.8-17.1); p=0.003
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	RIC vs. No RIC	NR	SHR=3.25 (1.53-6.89); p=0.002
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	MAC without ATG	-	OR=2.6 (1.05-7.15) p=0.01
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	NMAC with ATG	-	OR=2.1 (0.92-4.8) p=0.08
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	MAC vs. non-MAC	p=0.052	-
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	Use of TBI (Yes vs. No)	slope=0.98; p=0.05	slope=1.60; p=0.001
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	TBI (Yes vs. No)	HR=1.037 (0.796-1.352); p=0.786	NI
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	Use of TBI (Yes vs. No)	p=0.00	NS
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	Use of TBI (Yes vs. No)		OR=0.556 (0.11-2.9); p=0.486
Juvonen, 2007[65]	EBV	A	Use of TBI (Yes vs. No)	p=1.00	HR=0.79 (0.36-1.75); P=0.57
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Bu/Cy vs. Bu/Flu	HR=0.832 (0.337-2.057); p=0.690	NI
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	Cy TBI vs. Flu Mel	HR=0.63 (0.37-1.08); p=0.092	HR=0.69 (0.35-1.36); P=0.284
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	BEAM+/- Flu vs. Flu Mel	No events	No events
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	Other vs. Flu Mel	HR=0.81 (0.25-2.56); p=0.714	HR=0.27 (0.05-1.36); P=0.112
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Use of TBI (Yes vs. No)	p=0.1	
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	Use of TBI (Yes vs. No)	NS (NR)	-
Hoshino, 2001[60]	EBV	P & A	Use of TBI (Yes vs. No)	p=0.5592	-
Peric, 2012[83]	EBV	A	Use of TBI (Yes vs. No)	p=1.00	
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	Use of Flu (Yes vs. No)	NS	NS
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	Use of Flu or Bu	p>0.15	-
Auger, 2014[33]	EBV	A	Use of Flu (Yes vs. No)	NS	-
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	Use of TBI (Yes vs. No)	p=0.1	NS
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Use of TBI (Yes vs. No)	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Use of Bu (Yes vs. No)	NR	NR (NS)
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	Use of Flu (Yes vs. No)	NS	NS
Hoegh-Petersen, 2011[59]	PTLD	A	Flu+Bu+ATG	p=0.97	
Hoegh-Petersen, 2011[59]	PTLD	A	Flu+Bu+TBI+ATG		
Hoegh-Petersen, 2011[59]	PTLD	A	Cy+ATG		
Hoegh-Petersen, 2011[59]	PTLD	A	Flu+Mel+ATG		
Hoegh-Petersen, 2011[59]	PTLD	A	VP16+TBI+ATG		
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Type of ATG for GVHD prophylaxis (ATG-T vs. ATG-F)	HR=4.378 (1.360-14.093); p=0.013	HR=2.981 (0.522-17.031); p=0.219
Figgins, 2019[53]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No)	Cumulative incidence (20% vs. 9%); p=0.08	-
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	OR=2.91 (0.70-12.1); p=0.135	-
Mountjoy, 2020[77]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No)	Proportion (18.6% vs. 8.8%); p=0.08	-
Peric, 2012[83]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.57	
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	Use of ATG (Yes vs. No)	slope=1.20; p=0.01	slope=1.34; p=0.004
Cesaro, 2004[40]	EBV	P	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.0006	HR=13.0 (2-96); p=0.01
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	<i>In vivo</i> TCD with ATG (Yes vs. No)	p=0.081	-
Juvonen, 2007[65]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No)	p<0.0001	HR=5.78 (2.47-13.5); p<0.001
Fan, 2016[52]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	NR	OR=7.69 (1.17-50.49); p=0.034
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	p<0.001	HR=14.08 (6.02-32.92); p<0.001
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Horse ATG (Yes vs. No)	-	HR= 2.47 (0.95-6.38); p=0.063
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Rabbit ATG (Yes vs. No)	-	HR= 1.22 (0.467-3.18); p= 0.69
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No)		OR=0.83 (0.17-4.01); p=0.820
Peric, 2011[84]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.006	SHR=4.9 (1.1-21.0); p=0.03
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	p<0.001	HR=6.3 (1.6-24.0); p=0.008

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Düver, 2020[50]	EBV	P	Use of ATG (Yes vs. No)	p<0.001	OR=10.68 (1.15–98.86); p=0.037
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	HR=5.125 (3.247–8.089); p<0.001	HR=4.288(2.638-6.97); p<0.001
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	No ATG vs. Low dose vs. Standard dose	p=0.002	NS
Cohen, 2005[45]	EBV	P	ATG vs. Campath	OR=2.72 (1.10-6.73)	OR=2.09 (0.83-5.29)
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	Dose of ATG (15 mg/kg vs. 10 mg/kg)	HR=1.61 (0.62-3.97); p=0.331	
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	ATG median (4 wk) \geq vs. $<$ 13,7 μ g/mL	HR=0.60 (0.28-1.57); p=0.249	
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	ATG threshold (4 wk) \geq vs. $<$ 6,2 μ g/mL	HR=0.56 (0.21-1.48); p=0.245	
Neumann, 2018[78]	EBV	A	Campath vs. ATG	p=0.317	Campath group and ATG group have been matched according to the variables age, diagnosis, and conditioning regimen
Hoshino, 2001[60]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.0005	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	Previous therapy: Non ATG vs. ATG (Non-malignant group)	OR=0.286; p=0.04	-
Auger, 2014[33]	EBV	A	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.004	-
D'Aveni, 2011[48]	EBV	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.005	-
Zhou, 2020[101]	PTLD	P & A	Type of ATG for GVHD prophylaxis (ATG-T vs. ATG-F)	Cumulative incidence 28.4% (19.0–38.5%) vs. 25.8% (12.6–41.0%); p=0.717	-
Ali, 2019[30]	PTLD	P	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.055	-
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	-	RR=3.8 (2.5-5.8)
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	Use of ATG (Yes vs. No)	-	OR=2.4 (1.3-4.2) p=0.001
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.001	p=0.038
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	p<0.001	HR=13.03 (1.67-101.58); p=0.014
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	Use of ATG in conditioning regimen (Yes vs. No)	HR=7.76 (6.03-9.99); p<0.001	HR=6.13 (4.33-8.68); p<0.001
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	Use of ATG for GvHD treatment (Yes vs. No) [†]	HR=6.87 (4.00-11.8); p<0.001	HR=2.09 (1.17-3.72); p=0.01
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Use of ATG (Yes vs. No)	p=0.001	HR=2.9 (0.3-27.5); p=0.350
Lin, 2019[71]	EBV	P & A	ATG dose (10.0 mg/kg vs. 7.5 mg/kg)		HR=2.02 (1.37-2.97); p<0.001
Issa, 2019[62]	EBV	A	r-ATG (6 mg/kg vs. 4.5 mg/kg)	Cumulative incidence (0.18 [0.13-0.23] vs. 0.09 [0.05-0.15]; p=0.03)	-
Cohen, 2005[45]	PTLD	P	Campath vs. ATG	OR=0.56 (0.15-2.05)	
Buyck, 2009[39]	PTLD	P & A	Number of prior courses of ATG (per course)	HR=10.39 (2.03-53.18); p=0.005	HR=7.23 (1.67-31.32); p=0.008
Buyck, 2009[39]	PTLD	P & A	Campath vs. ATG	HR=1.06 (0.12-9.46); p=0.96	-
Chiereghin, 2019[43]	EBV	P & A	In vivo T-cell depletion with ATG/ALG (Yes vs. No)	p=1.000	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	In-vivo T-cell depletion (ATG or alemtuzumab)	p=0.120	-
Cesaro, 2004[40]	EBV	P	CsA vs. CsA+other	p=0.004	NS
Fan, 2016[52]	EBV	P & A	Mycophenolate mofetil + cyclosporine + prednisone vs. Mycophenolate mofetil + cyclosporine	NR	OR=23.68 (1.92-291.45); p=0.013
Peric, 2011[84]	EBV	A	CsA alone vs. CsA+MMF vs. CsA+MTX	p=0.85	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	CsA/MTX vs. CsA with other combinations vs. MMF	p=0.261	-
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	(CsA + MMF, CsA + prednisone)	NR	NR (NS)
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	CSA vs. CSA+MTX vs. Other (Non-malignant group, Malignant group)	(p=0.35, p=0.53)	-
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	(CsA + MMF, CsA + prednisone)	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	CsA+MTX vs. Other	NR	NR (NS)
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	GvHD prophylaxis (Yes vs. No)	p=0.16	-

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	Mean (days 0-30) CsA (\geq vs. $<$ 201 ng/mL)		OR=3.00 (0.61-14.86); p=0.178
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CsA AUC (\geq vs. $<$ 6000 ng/mL x days)		OR=6.07 (1.11-33.24); p=0.038
Christopeit, 2013[44]	EBV	A	CsA/MTX vs. CsA/MPA		OR=3.67 (0.35-38.03); p=0.276
Hoshino, 2001[60]	EBV	P & A	Use of tacrolimus vs. CsA	p=0.643	-
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	Use of tacrolimus vs. CsA	HR=2.07 (1.59-2.69); p<0.001	HR=0.82 (0.59-1.12); p=0.21
Xuan, 2012[98]	EBV	P & A	Early CsA withdrawal (Yes vs. No)	NS	NS
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	GvHD prophylaxis (Categories unspecified)	NS (NR)	-
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Post-HSCT GvHD prophylaxis (Yes vs. No)	p=0.45	-
Carpenter, 2010[22]	EBV	P & A	Alemtuzumab (In vitro vs. In vivo)	NR	HR=1.63 (0.83-3.21); p=0.160
Rustia, 2016[86]	EBV	P	Alemtuzumab (Yes vs. No)	p=0.172	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Use of alemtuzumab (Yes vs. No)	p=0.500	-
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Use of fludarabine (Yes vs. No)	p=0.713	NI
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Use of fludarabine (Yes vs. No)	p=0.022	HR=3.8 (1.4-10.6); p=0.010
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	Post-transplant steroid	NS (NR)	-
Liu, 2013[26]	EBV	P & A	Use of steroid therapy (Yes vs. No)	p=0.004	p=0.733
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	Steroid (Yes vs. No)	HR=3.66 (1.05-12.75); p=0.065	
Juvonen, 2007[65]	EBV	A	High dose steroid (\geq vs. $<$ 2 mg/kg/day) +	p<0.0001	HR=0.73 (0.25-2.08); p=0.55
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	Use of steroid therapy (Yes vs. No)	0.976	0.433
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	Previous therapy: 0-2 chemo courses vs. \geq 3 chemo courses (Malignant group)	p=1	
T-cell depletion					
Bordon, 2012[36]	EBV	P	<i>In vivo</i> TCD (Yes vs. No)	p=0.02	p=0.04
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	P & A	Use of CD4 ⁺ lymphocyte-depleted graft	HR=11.5 (5.8-22.8); p<0.0001	HR=11.5; (5.8-22.8); p<0.0001
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	TCD without ATG vs. Non-TCD	HR=1.5 (0.8-2.7); p=0.02	HR=1.5 (0.8-2.9); p=0.3
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	TCD with ATG vs. Non-TCD	HR=3.5 (1.8-6.9); p<0.001	HR=3.4 (1.6-7.1); p=0.001
Cohen, 2005[45]	EBV	P	<i>In vitro</i> TCD (Yes vs. No)	OR=0.17 (0.04-0.78)	OR=0.40 (0.08-2.01)
Düver, 2020[50]	EBV	P	<i>In vitro</i> T-cell depletion (Yes vs. No)	p=0.37	NI
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	P	<i>In vivo</i> TCD (Yes vs. No)	OR=2.6; p<0.05	NS
Zallio, 2013[23]	EBV	A	<i>In vivo</i> TCD (Yes vs. No)	p=0.002	NS
Sirvent-von Bueltzingsloewen, 2002[88]	EBV	P & A	Lymphocyte depletion (Yes vs. No)	p<0.01	NS
Cohen, 2005[45]	EBV	P	Use of serotherapy (Yes vs. No)	OR=2.27 (0.49-10.58)	-
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	Use of serotherapy (Categories unspecified)	NS (NR)	-
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	T-cell depletion in the 6 months before transplant (Yes vs. No)	p<0.01	NS
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	T-cell depletion 6 months prior SCT (Yes vs. No)	p=0.16	-
Method of T-cell depletion					
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Broad lymphocyte depletion vs. No T-cell depletion	-	RR=3.1 (1.2-6.7)
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Selective T-cell depletion vs. No T-cell depletion	-	RR=9.4 (6.0-14.7)
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Broad lymphocyte depletion		
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Alemtuzumab MoAb vs. No T-cell depletion	-	RR=3.1 (0.7-8.4)
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Elutriation/density gradient centrifugation vs. No T-cell depletion	-	RR=3.2 (0.8-8.8)
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Selective T-cell depletion		
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Anti-T or anti-T + NK MoAb vs. No T-cell depletion	-	RR=8.4 (5.1-13)

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	SRBC rosetting vs. No T-cell depletion	-	RR=14.6 (5.9-31)
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Lectins with/without SRBC or anti-T MoAb vs. No T-cell depletion	-	RR=15.8 (7.2-32)
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Unclassified/unknown method vs. No T-cell depletion	-	RR=6.0 (0.96-20)
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	(CD3/CD19 depletion, CD34 selection)	-	NR (NS)
Graft-versus-host disease					
Cesaro, 2004[40]	EBV	P	aGvHD Grade 0-I vs. II-IV	p=1.0	-
Juvonen, 2007[65]	EBV	A	aGvHD Grade ≥ III [†]	p<0.0001	HR=1.70 (1.11-2.62); P=0.015
Torre-Cisneros, 2004[90]	EBV	P & A	aGvHD Grade ≥ III	HR=1.1 (0.6-2); p=0.78	NI
Düver, 2020[50]	EBV	P	aGvHD (Grade III-IV vs. None or Grade ≤II)	p=0.021	NS (NR)
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	aGVHD Grade III-IV (Yes vs. No)	HR= 2.565 (0.678-9.699); p=0.165	NI
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	aGVHD Grade I-II (Yes vs. No)	HR=1.057 (0.427-2.621); p=0.904	NI
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	aGVHD (Grade III-IV vs. Grade I-II)	HR=2.235 (0.571-8.754); p=0.248	NI
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	aGvHD (Grade II-IV vs. None or Grade I)	HR= 1.336 (0.968-1.845); p= 0.078	HR=1.257 (0.891-1.775); p= 0.193
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	aGvHD Grade ≥ II	HR=1.53 (0.91-2.57); p=0.112	-
Sirvent-von Buelzingsloewen, 2002[88]	EBV	P & A	aGvHD Grade ≥II	p<0.01	OR=3.4 (1.2-9.7)
Hiwarkar, 2013[58]	EBV	P	aGvHD Grade ≥ II	OR=3.6; p<0.001	Significant but NR
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	aGvHD Grade ≥ II [†]	p=0.48	-
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	aGvHD Grade ≥II	p=0.082	NS
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	aGvHD Grade ≥II	NS	NS
Peric, 2011[84]	EBV	A	aGvHD Grade 0-I vs. II vs. III-IV	p=0.36	-
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	aGvHD (Yes vs. No)	p=0.001	HR=1.0 (0.7-1.6); p=0.960
Marinho-Dias, 2019[75]	EBV	P & A	aGvHD (Yes vs. No)	OR=3.09 (0.75-12.8); p=0.170	-
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	aGVHD (Yes vs. No)	HR=1.791 (0.631-5.080); p=0.273	NI
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	aGvHD (Yes vs. No)	HR=3.29 (1.26-8.58); p=0.015	HR=3.29 (1.26-8.58); p=0.015
Cohen, 2005[45]	EBV	P	aGvHD (Yes vs. No)	OR=2.53 (1.07-5.97)	OR=2.20 (2.12-15.08)
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	aGvHD (Yes vs. No)	Slope=0.71; p=0.24	Slope=0.48; p=0.34
Omar, 2009[80]	EBV	P & A	aGvHD (Yes vs. No)	NR	p=0.009
Jaskula, 2010[64]	EBV	P & A	aGvHD (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	aGVHD (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	aGvHD (Absent vs. Grade I vs. Grade ≥II)	p=0.846	-
Chiereghin, 2019[43]	EBV	P & A	aGvHD (Absent vs. Grade I vs. Grade ≥II)	p=0.986	-
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	aGvHD (Categories unspecified)	NS (NR)	-
Peric, 2012[83]	EBV	A	aGvHD Grade 0-II vs. Grade III-IV	p=0.69	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	aGvHD: None vs. Grade I vs. Grade II (Non-malignant group, Malignant group)	(p=0.44, p=0.70)	-
Cesaro, 2004[40]	EBV	P	cGvHD (Yes vs. No)	p=0.8	-
Cohen, 2005[45]	EBV	P	cGvHD (Yes vs. No)	OR=1.38 (0.34-5.63)	-
Kullberg-Lindh, 2011[67]	EBV	P	cGvHD (Yes vs. No)	Slope=-0.86; p=0.09	Slope=-1.12; p=0.023
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	cGvHD (Yes vs. No)	HR=1.436 (1.051-1.96); p=0.023	HR= 1.413 (1.013-1.971); p= 0.042
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	cGvHD (Yes vs. No)	NS	NS
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	cGvHD (Mild to severe vs. Absent)	p=0.527	-
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	cGVHD (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
Chiereghin, 2016[42]	EBV	P	cGvHD (Absent vs. Mild to severe)	p=0.369	-
Chiereghin, 2019[43]	EBV	P & A	cGvHD (Absent vs. Mild to severe)	p=0.467	-
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	cGvHD: None vs. Limited vs. Extensive (Non-malignant group, Malignant group)	(p=1, p=0.71)	-
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	GvHD (Yes vs. No)	p=0.02	HR= 1.97 (1.04-3.72); p= 0.037

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Zallio, 2013[23]	EBV	A	GvHD (Yes vs. No)	p=0.037	NS
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	aGvHD Grade II-IV (Yes vs. No) [†]	HR=1.83 (1.43-2.35); p<0.001	HR=1.93 (1.48-2.52); p<0.001
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	aGvHD Grade ≥ II [†]	-	RR=1.7 (1.2-2.5)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	aGvHD Grade ≥ II	NR	SHR=2.65 (1.32-5.35); p=0.006
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	aGvHD Grade ≥ II	p=0.998	0.836
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	aGvHD Grade ≥ II	NS	NS
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	aGvHD Grade ≥ III	HR=1.31 (0.11-15.88); p=0.835	
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	aGvHD Grade ≥ II	p=0.7	-
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	aGvHD Grade ≥ II	-	NR (NS)
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	aGvHD (Yes vs. No)	p=0.134	HR=1.4 (0.5-3.8); p=0.480
Cohen, 2005[45]	PTLD	P	aGvHD (Yes vs. No)	OR=7.71 (95% CI:1.57-38.0)	
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	aGVHD (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	aGvHD Grade II-IV or chronic NST (Yes vs. No)	SHR=0.45; p=0.01	SHR=0.47, p=0.04
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	cGvHD (Yes vs. No)	NS	NS
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	cGvHD (Moderate/severe or clinical extensive) [†]	-	RR=2.0 (1.1-3.2)
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	cGvHD (None vs. Limited vs. Extensive)	0.319	0.842
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	cGVHD (Categories unspecified)	NR	NR (NS)
			Immunological reconstitution after HSCT		
Auger, 2014[33]	EBV	A	Median of CD34 ⁺ cells (x10 ⁶ /kg)	NS	-
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	CD3 ⁺ T cells at 2 months post-HSCT	NS (NR)	-
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	CD3 ⁺ CD8 ⁺ T cells at 2 months post-HSCT	NS (NR)	-
Comoli, 2007[46]	EBV	P & A	CD3 ⁺ CD4 ⁺ T cells at 2 months post-HSCT	NS (NR)	-
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Peripheral blood lymphocyte/μl at +1 month after HSCT (≥100 vs. <100)	p=0.636	-
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Peripheral blood lymphocyte/μl at +3 months after HSCT (≥100 vs. <100)	p=1.00	-
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Peripheral blood CD4 ⁺ lymphocyte/μl at +1 month after HSCT (≥50 vs. <50)	p=0.001	OR=0.1 (0.02-0.48); p=0.004
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Peripheral blood CD4 ⁺ lymphocyte/μl at +3 month after HSCT (≥50 vs. <50)	p=0.530	-
Peric, 2011[84]	EBV	A	Neutrophil recovery ANC>0.5x10 ⁹ /l (Continuous)	p=0.32	-
Liu, 2018[74]	EBV	A	CD4 ⁺ CD8 ⁻ count at day 30: Lower count (< median) vs. Higher	p>0.1	Procedures of donor priming, graft harvesting, conditioning, and GvHD prophylaxis were all the same. The possible influences of other factors on the recovery of T lymphocytes were minimized.
Liu, 2018[74]	EBV	A	Count Vδ2 ⁺ T cells at day 60: Lower count (< median) vs. Higher	p=0.078	
Liu, 2020[72]	EBV	A	CD3 ⁺ cells recovery at day 30 post-transplantation	-	HR=2.181 (0.390-12.187); p=0.374
Liu, 2020[72]	EBV	A	CD4 ⁺ cells recovery at day 30 post-transplantation	-	HR=0.717 (0.212-2.429); p=0.593
Liu, 2020[72]	EBV	A	CD8 ⁺ cells recovery at day 30 post-transplantation	-	HR=0.499 (0.207-1.201); p=0.121
Liu, 2020[72]	EBV	A	CD8 ⁺ αβT cells recovery at day 30 post-transplantation	-	HR=0.736 (0.034-15.986); p=0.845
Liu, 2020[72]	EBV	A	γδT cells recovery at day 30 post-transplantation	-	HR=2.069 (0.389-11.013); p=0.394
Liu, 2020[72]	EBV	A	Vδ1 ⁺ cells recovery at day 30 post-transplantation	-	HR=0.640 (0.237-1.730); p=0.379
Liu, 2020[72]	EBV	A	Vδ2 ⁺ cells recovery at day 30 post-transplantation	-	HR=0.347 (0.161-0.747); p=0.007

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Park, 2020[82]	EBV	P & A	Normal T-cell reconstitution vs. Abnormal T-cell reconstitution [‡]	Proportion (5.1% vs. 20.0%; p=0.045)	
Yu, 2019[99]	EBV	P & A	NKp30 in 1-month post-transplant (1M) (% of total NK cells)	beta=-0.078 (-0.119; -0.037); p= 0.000	HR= 0.957 (0.918-0.998); p= 0.04
Yu, 2019[99]	EBV	P & A	NKp46 in 1M (% of total NK cells)	beta=-0.233 (-0.033; -0.013); p= 0.000	NI
Yu, 2019[99]	EBV	P & A	NKG2D in 1M (% of total NK cells)	beta=-1.768 (-3.068; -0.467); p= 0.008	NI
Yu, 2019[99]	EBV	P & A	NKG2A ⁻ CD57 ⁺ KIR ⁺ % in 1M	beta=-0.152 (-0.256; -0.048); p= 0.004	NI
Yu, 2019[99]	EBV	P & A	NKG2A ⁻ CD57 ⁺ KIR ⁺ CD107 ⁺ % in 1M	beta=0.077 (0.987-1.300); p= 0.419	NI
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	TLCs at day 30 after HSCT ≥ vs. < median	HR=0.48 (0.22-1.05) p=0.066	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CD3 ⁺ cells count at day 30 after HSCT ≥ vs. < median	HR=0.50 (0.13-1.96) p=0.322	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CD4 ⁺ cells count at day 30 after HSCT ≥ vs. < median	HR=1.06 (0.24-4.67) p=0.939	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CD8 ⁺ cells count at day 30 after HSCT ≥ vs. < median	HR=0.35 (0.17-.72) p=0.004	HR=0.34 (0.13-0.92) p=0.033
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	CD19 ⁺ cells count at day 30 after HSCT	HR=1.26 (0.51-3.10) p=0.621	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	IgG count at day 30 after HSCT ≥ vs. < median	HR=0.87 (0.30-2.53) p=0.795	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	IgA count at day 30 after HSCT ≥ vs. < median	HR=0.96 (0.31-3.01) p=0.944	
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	IgM count at day 30 after HSCT ≥ vs. < median	HR=0.31 (0.11-.88) p=0.027	HR=0.27 (0.10-0.75) p=0.012
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median of CD20 count	p=0.335	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median of CD19 count	p=0.401	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median of CD4 count	p=0.003	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median of CD8 count	p=0.014	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median of Gamma delta count	p=0.004	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median of NK cells	p=0.250	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median of NKT cells	p=0.112	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median of CD3 count	p=0.007	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median of CD8:CD20 ratio	p=0.007	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	CD8:CD20 ratio < 1 vs. CD8:CD20 ratio > 1	p=0.0003	-
Transfusion					
Trottier, 2012[91]	EBV	P	RBC transfusion (Yes vs. No)	NR	HR=2.37 (0.58-9.70)
Trottier, 2012[91]	EBV	P	RBC transfusion volume (mL) <850 vs. 0	NR	HR=1.99 (0.47-8.44)
Trottier, 2012[91]	EBV	P	RBC transfusion volume (mL) 850-1890 vs. 0		HR=2.40 (0.56-10.24)
Trottier, 2012[91]	EBV	P	RBC transfusion volume (mL) >1890 vs. 0		HR=2.86 (0.68-12.11)
Trottier, 2012[91]	EBV	P	FFP transfusion (Yes vs. No)	NR	HR=1.34 (0.62-2.93)
Trottier, 2012[91]	EBV	P	FFP transfusion volume (mL) ≤200 vs. 0	NR	HR=0.70 (0.22-2.25)
Trottier, 2012[91]	EBV	P	FFP transfusion volume (mL) >200 vs. 0		HR=3.16 (1.00-11.17)
Trottier, 2012[91]	EBV	P	PLT transfusion volume (mL) 1260-2530 vs. <1260	NR	HR=1.65 (0.86-3.18)
Trottier, 2012[91]	EBV	P	PLT transfusion volume (mL) >2530 vs. <1260		HR=2.19 (1.21-3.97)
Other factors					
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Period of SCT (1998-2003 vs. 2004-2007)	p=0.8	
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	Year of SCT (After vs. Before 2005)	HR=1.60 (0.53-4.86); p=0.41	
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	History of previous auto-HSCT (Yes vs. No)	p=0.01	NS
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	Prior SCT (Yes vs. No)	NR	NR (NS)
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	Prior SCT (Yes vs. No)	p=0.03	HR: 2.6 (1.1-6.4); p=0.04
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	Year of SCT (Before 2010 vs. After 2010)	p=0.1	NS

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Risk group (Standard risk vs. High risk)	p=0.8	
Elmahdi, 2016[51]	EBV	P	Risk of transplant (High risk vs. Standard risk)	HR=1.29 (0.49-3.40); p=0.603	
Ru, 2020[85]	EBV	P & A	Pretransplant status (Advanced status vs. 1st or 2nd remission)	HR=1.047 (0.881-1.243); p=0.604	NI
Juvonen, 2007[65]	EBV	A	Risk of disease (High risk vs. Low risk)	p=0.35	HR=1.04 (0.60-1.81); P=0.87
Wang, 2019[96]	EBV	P & A	IPSS (Low/Int-2 risk vs. Int-2/High risk)	p=0.147	NI
Wang, 2019[96]	EBV	P & A	AML transformation (Yes vs. No)	p=0.918	NI
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Disease status (CR vs. Not CR)	p=0.003	HR=0.6 (0.4-1.1)
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Disease status before HSCT (Relapse/refractory vs. CR)	HR=2.259 (0.911-5.599); p=0.079	HR=1.279 (0.247-6.629); p=0.769
Liu, 2013[73]	EBV	P & A	Disease status (CR vs. Not CR)	NS	NS
Peric, 2011[84]	EBV	A	Disease status (High risk vs. Standard risk)	p=0.91	-
Peric, 2012[83]	EBV	A	Disease status (Standard risk vs. High risk)	p=0.36	
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	Comorbidity index (Categories unspecified)	p=0.82	-
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	EBMT risk score (Categories unspecified)	p=0.56	-
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Recipient T cell chimerism > vs. < median	p=0.41	-
Sanz, 2014[87]	EBV	P & A	Disease stage (Early, Intermediate, Advanced)	NR	NR (NS)
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Transplant phase (Early vs. Late)	p=0.239	
Patriarca, 2013[4]	EBV	A	Disease status (Resistance and progression vs. Complete and partial response)	p=0.516	-
Wang, 2019[96]	EBV	P & A	Disease progression (Yes vs. No)	p=0.526	NI
Van Esser, 2001[95]	EBV	P & A	Disease status (High risk vs. Standard risk)	HR=1.6 (1.0-2.8); p=0.07	HR=1.4 (0.8-2.6); p=0.2
Dumas, 2013[49]	EBV	P & A	Number of UCB units (Double vs. Single)	p>0.15	-
Peric, 2012[83]	EBV	A	Number of cord blood units (Single vs. Double)	p=1.00	
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Median time to PMN engraftment ≥ vs. <17,5 d	p=0.3	
Cesaro, 2010[41]	EBV	P	Median time to PLT engraftment ≥ vs. <28 d	p=0.9	
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	Engraftment: Yes vs. No (Non-malignant group, Malignant group)	(p=1, p=0.49)	-
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	Prior rituximab Within 6 months vs. No prior rituximab	HR=0.18 (0.07-0.48); p=0.001	-
Burns, 2016[38]	EBV	P & A	Prior rituximab at any time vs. No prior rituximab	HR=0.34 (0.18-0.64); p=0.001	-
Laberko, 2017[68]	EBV	P & A	Rituximab (Yes vs. No)	p=0.12	HR= 1.12 (0.43-2.86); p=0.82
Garcia-Cadenas, 2015[56]	EBV	A	Rituximab in the 6 months before transplant (Yes vs. No)	p=0.02	NS
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Early tapering of immunosuppression (Yes vs. No)	HR=1.084 (0.445-2.639); p=0.859	NI
Cohen, 2005[45]	EBV	P	Chimerism (6-week MC vs. 6-week FC)	OR=1.28 (0.43-3.80)	-
Cohen, 2005[45]	EBV	P	Chimerism (12-week MC vs. 12-week FC)	OR=0.94 (0.35-2.5)	-
Van Esser, 2001[95]	PTLD	P & A	A stepwise increase of EBV-DNA by 1 log	NR	HR=2.9 (1.7-4.8); p<0.001
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	High EBV load (>10000 copies/ml) [‡]	p=0.8	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Initial EBV viral load (copies/mL) (Continuous)	p=0.786	-

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value	
				Univariate results	Multivariate results
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Maximum EBV viral load (copies/mL) (Continuous)	p<0.001	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	EBV viral load >10 000 (copies/mL) (Continuous)	p=0.039	-
Pagliuca, 2019[81]	PTLD	P & A	Fever at onset of EBV infection (Yes vs. No)	-	SHR=6.12 (1.74-21.58); p=0.005
Fan, 2016[52]	EBV	P & A	ABO blood type mismatched	NR	NR (NS)
Gao, 2019[55]	EBV	P & A	Donor-recipient ABO match (Match vs. Mismatch)	p=0.513	NI
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Donor-recipient ABO match (Match vs. Mismatch)	p=0.852	NI
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	ABO blood type (incompatibility vs. compatibility)	HR=0.399 (0.142-0.118); p=0.080	HR=0.638 (0.156-2.616); p=0.533
Islam, 2010[61]	EBV	P & A	Survival: Alive vs. Dead (Non-malignant group, Malignant group)	(p=0.66; p=0.41)	-
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	Year of HSCT (2010-2015 vs. 1990-2009)	HR=2.77 (2.13-3.61); p<0.001	HR=1.87 (1.38-2.52); p<0.001
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	Year of SCT (Before 2010 vs. After 2010)	p=0.1	NS
Van der Velden, 2013[94]	PTLD	A	Year of transplant (2006-2008, 2009-2011)	-	NR (NS)
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	Disease stage (Early, Intermediate, Advanced)	NR	NR (NS)
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Disease stage (Early vs. Late)	NR	NR (NS)
Hoegh-Petersen, 2011[59]	PTLD	A	Disease stage: Poor risk	p=0.11	
Hoegh-Petersen, 2011[59]	PTLD	A	Disease stage: Good risk		
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	Comorbidity index (Unspecified)	p=0.4	-
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	EBMT risk score (Unspecified)	p=0.69	-
Brunstein, 2006[37]	EBV/PTLD	P & A	Number of donors (2 vs. 1)	-	HR=0.4 (0.1-2.4); p=0.29
Sanz, 2014[87]	PTLD	P & A	Prior SCT (Yes vs. No)	NR	NR (NS)
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	Prior SCT (Yes vs. No)	p=0.03	HR: 6.4 (1.3-31.9); p=0.02
Landgren, 2009[69]	PTLD	P & A	Second transplantation (Yes vs. No) [†]	-	RR=3.5 (1.7-6.3)
Fujimoto, 2019[54]	PTLD	P & A	Number of allogeneic HSCT (Two or more vs. One)	HR=2.15 (1.56-2.97); p<0.001	HR=1.50 (1.05-2.15); p=0.03
Garcia-Cadenas, 2015[56]	PTLD	A	Absence of Rituximab prior SCT (Yes vs. No)	p=0.16	-
Cohen, 2005[45]	PTLD	P	Mixed chimaeras (6-week MC vs. 6-week FC)	OR=0.59 (0.07-5.32)	
Cohen, 2005[45]	PTLD	P	Mixed chimaeras (12-week MC vs. 12-week FC)	OR=0.55 (0.11-2.82)	
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median time to 1st EBV	p=0.089	-
Althubaiti, 2019[31]	PTLD	P	Median time from EBV to T-cell subset analysis	p=0.721	-
Kalra, 2018[66]	PTLD	P & A	Time periods (prompt therapy period vs. No EBV monitoring period)	SHR=1.82, p=0.04	SHR=1.34, p=0.06
Gao, 2019[55]	PTLD	P & A	Disease status (CR vs. Not CR)	p=0.413	NI
Liu, 2013[26]	PTLD	P & A	Disease status (CR vs. Not CR)	0.207	0.212
Xuan, 2013[16]	PTLD	P & A	Disease status (CR vs. Not CR)	NS	NS
Xu, 2015[97]	PTLD	P & A	Disease status (High-risk vs. Standard-risk)	HR=0.57 (0.15-2.12); p=0.399	
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	Splenectomy (Yes vs. No)	NR	SHR=4.81 (1.51-15.4); p=0.008
Uhlin, 2014[93]	PTLD	P & A	MSC treatment	NR	SHR=3.05 (1.25-7.48); p=0.015
Wang, 2019[96]	EBV	P & A	RAEB-1 vs. RAEB-2 vs. Other	p=0.244	NI
Wang, 2019[96]	EBV	P & A	Blast (<5% vs. ≥5%)	p=0.222	NI
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Cystitis (Yes vs. No)	HR=1.987 (0.804-4.912); p=0.137	NI
Liu, 2020[72]	EBV	A	Longer duration of MMF use (until 45-60 days post-transplant) vs. Shorter duration of MMF use (withdrawn by engraftment)	p=0.033	-
Liu, 2020[72]	PTLD	A	Longer duration of MMF use (until 45-60 days post-transplant) vs. Shorter	p=0.029	-

Table S4: Risk factors for post-transplant EBV infection and for PTLD explored in the 77 retained studies

First author, year	Outcome	Study population	Risk factors explored	Estimate (95% CI); p-value		
				Univariate results	Multivariate results	
			duration of MMF use (withdrawn by engraftment)			
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Third-party cells (Yes vs. No)	HR=0.846 (0.282-2.541); p=0.766	-	
Zhou, 2020[100]	EBV	P & A	Well-control of fungus pneumonia pre-SCT (Yes vs. No)	HR=0.339 (0.114-1.008); p=0.052	HR=0.395 (0.068-2.299); p=0.301	
Wang, 2019[96]	EBV	P & A	Therapies	DAC+CT vs. Supportive care	p=0.057	HR=2.28; p=0.160
				DAC vs. Supportive care		HR=1.31; p=0.760
				CT vs. Supportive care		HR=2.24; p=0.160

Abbreviations:

A: adults; AA: aplastic anemia; Ag: antigen; aGvHD: acute graft-versus-host disease; AL: acute leukemia; ALG: antilymphocyte globulin; ALL: acute lymphocytic leukemia; AML: acute myeloid leukemia; ANC: absolute neutrophil count; ATG: anti-thymocyte globulin; ATG-F: ATG-fresenius; ATG-T: ATG-thymoglobulin; AUC: area under curve; auto-HSCT: autologous hematopoietic stem cell transplantation; BEAM: carmustine with etoposide, cytarabine and melphalan; BM: bone marrow; Bu: busulfan; CB: cord blood; CI: confidence interval; CIC: conventional-intensity conditioning; CFU-GM: granulocyte-macrophage colony-forming unit; cGvHD: chronic graft-versus-host disease; CIC: conventional-intensity conditioning; CLL: chronic lymphocytic leukemia; CML: chronic myeloid leukemia; CMV: cytomegalovirus; CR: complete remission; CsA: cyclosporine A; CT: chemotherapy; Cy: cyclophosphamide; D: donor; DAC: decitabine; D/R: donor/recipient; EBMT: European Group for Blood and Marrow Transplantation; EBV: Epstein-Barr Virus; FC: full chimeras; FFP: fresh-frozen plasma; Flu: fludarabine; GvHD: graft-versus-host disease; HIDT: haplo-identical donor transplantation; HL: Hodgkin lymphoma; HLA: human leukocyte antigen; HLAIDSIB: HLA identical sibling; HR: hazard ratio; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; IPSS: International Prognostic Scoring System; KIR: killer cell immunoglobulin-like receptor; LFI: limited field irradiation; MAC: myeloablative conditioning; MC: mixed chimeras; MDS: myelodysplastic syndrome; Mel: melphalan; MFD: matched family donor; MM: multiple myeloma; MMF: mycophenolate mofetil; MMFD: mismatched family donor; MMUD: mismatched unrelated donor; MMRD: mismatched related donor; MNC: mononuclear cells; MoAb: monoclonal antibody; MPA: mycophenolic acid; MPD: myeloproliferative disease; MRD: matched related donor; MSC: mesenchymal stromal cells; MSDT: matched sibling donor transplantation; MTX: methotrexate; MUD: matched unrelated donor; MUDT: matched unrelated donor transplantation; NHL: Non-Hodgkin lymphoproliferative disease; NI: Not included; NK: natural killer cells; NKT: cells, natural killer T cells; NMAC: Nonmyeloablative conditioning; NR: not reported; NS: not significant; NST: needing systemic therapy; OR: odds ratio; P: pediatric; P & A: pediatric and adult; PB: peripheral blood; PBSC: peripheral blood stem cells; PID: primary immunodeficiency; PLT: platelets; PMN: polymorphonuclears; PTLD: post-transplant lymphoproliferative disorders; R: recipient; RAEB: refractory anemia with excess blasts; r-ATG: rabbit ATG; RBC: red blood cell; RIC: reduced-intensity conditioning; RR: relative risk; SAA: severe aplastic anemia; SCT: stem cell transplant; SHR: subhazard ratio; SIB: sibling; SRBC: sheep red blood cell; TBI: total body irradiation; TCD: T-cell depletion; TLC: total lymphocyte count; TNC: total nucleated cells; UCB: umbilical cord blood; VP16: etoposide; vs.: versus; +: positive; -: negative.

†Time-dependent covariate.

*normal group was defined by T-cell subsets, B-cells, or serum immunoglobulins within their reference ranges, and the abnormal group was defined by levels outside the reference ranges.

2. Deuxième article de la thèse

Titre: Transfusion-related Epstein-Barr virus (EBV) infection: a multicenter prospective cohort study among pediatric recipients of hematopoietic stem cell transplants (TREASuRE study)

Auteurs: Pascal R. Enok Bonong, Chantal Buteau, Gilles Delage, Jerome E. Tanner Jacques Lacroix, Michel Duval, Louise Laporte, Marisa Tucci, Nancy Robitaille, Philip C. Spinella, Geoffrey Cuvelier, Suzanne Vercauteren, Victor Lewis, Margaret Fearon, Steven J Drews, Caroline Alfieri, Helen Trottier

État actuel de l'article : Cet article a été accepté en septembre 2020 et publié en janvier 2021 au journal Transfusion.

Contribution de l'étudiant : PREB a réalisé le contrôle de la qualité des données, élaboré la base de données de travail, effectué les analyses statistiques et interprété les résultats, corédigé la version initiale du manuscrit et fait les mises à jour du manuscrit.

Contribution des coauteurs: HT, CA, CB, GD, JL, MT, MD, NR, PCS ont contribué à la conception et au design de l'étude. LL, GC, SV, VL, PREB ont participé à la collecte des données. HT, CA, JT, CB, GD, MD, NR, PREB ont contribué à l'analyse et à l'interprétation des résultats. CB, MD, JL ont apporté une expertise clinique dans l'interprétation des résultats. HT, CA, CB ont corédigé le premier draft du manuscrit. Tous les auteurs susmentionnés ont révisé les différentes versions du manuscrit.

Transfusion-related Epstein-Barr virus (EBV) infection: a multicenter prospective cohort study among pediatric recipients of hematopoietic stem cell transplants (TREASuRE study)

Pascal R. Enok Bonong,¹ Chantal Buteau,² Gilles Delage,³ Jerome E. Tanner⁶ Jacques Lacroix,⁴ Michel Duval,⁵ Louise Laporte,⁶ Marisa Tucci,⁴ Nancy Robitaille,⁷ Philip C. Spinella,⁸ Geoffrey Cuvelier,⁹ Suzanne Vercauteren,¹⁰ Victor Lewis,¹¹ Margaret Fearon,¹² Steven J Drews,¹³ Carolina Alfieri^{14*}, Helen Trottier^{1*}

¹Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, Sainte-Justine University Hospital, Montreal, Canada.

²Department of Pediatrics, Division of Infectious Diseases, Sainte-Justine University Hospital, Université de Montréal, Canada.

³Medical Affairs, Microbiology, Héma-Québec, Canada

⁴Department of Pediatrics, Division of Pediatric Intensive Care Medicine, Sainte-Justine University Hospital, Université de Montréal, Canada.

⁵Department of Pediatrics, Division of Hematology-Oncology, Sainte-Justine University Hospital, Université de Montréal, Canada.

⁶Sainte-Justine University Hospital, Montreal, Canada.

⁷Department of Pediatrics, Division of Hematology-Oncology, Sainte-Justine University Hospital, Université de Montréal and Medical Affairs, Transfusion Medicine, Héma-Québec, Ville Saint-Laurent, Canada.

⁸St. Louis Children's Hospital, Washington University School of Medicine, St. Louis, USA.

⁹Department of Pediatrics and Child Health, CancerCare Manitoba, University of Manitoba, Canada

¹⁰Department of Pathology and Laboratory Medicine, BC Children's Hospital, University of British Columbia, Canada.

¹¹Department of Pediatrics and Department of Oncology, Alberta Children's Hospital, University of Calgary, Canada.

¹²Medical Microbiology, Canadian Blood Services, Toronto, Canada.

¹³ Medical Affairs and Innovation, Microbiology, Canadian Blood Services and University of Alberta, Laboratory Medicine and Pathology, Edmonton, Canada.

¹⁴Department of Microbiology, Infectiology and Immunology, Université de Montréal, Sainte-Justine University Hospital Research Centre, Université de Montréal, Canada.

* Helen Trottier and Carolina Alfieri have contributed equally as senior authors.

Corresponding author: Dr. Helen Trottier, Sainte-Justine Hospital Research Center, Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, 3175 Côte Sainte-Catherine, Room B.17.002, Montreal H3T 1C5, QC, Canada; Tel: (514) 345-4931, ext. 7152, helen.trottier@umontreal.ca

Funding source: Canadian Blood Services (CBS)

Running head: Transfusion-acquired EBV infection

Conflict of interest statement: All authors have no conflicts of interest

Word count: 250 (abstract), 3998 (text)

ABSTRACT

Background: Epstein-Barr virus (EBV) is carried in the blood of most adults, and transfusion-related infections have been reported. EBV is particularly deleterious in immunosuppressed transplant patients. The aim was to determine if EBV transmission occurred through leukodepleted blood product transfusion in pediatric recipients of hematopoietic stem cell transplants (HSCT).

Study Design and Methods: This prospective, Canadian multi-center cohort study includes 156 allogeneic HSCT pediatric recipients. The association between EBV and transfusion was analysed using Cox regressions. EBV infection, defined by a PCR+ test in the blood of seronegative recipients of an EBV-negative graft, was monitored in order to correlate the recipient EBV strain with that of the blood donors. EBV genotypes were determined by PCR amplification followed by DNA sequencing at two loci (EBNA3b and LMP1).

Results: No statistically significant associations were found between transfusions and EBV. One case of post-transplant EBV infection was identified among the 21 EBV-seronegative recipients receiving an EBV-negative graft. A total of 22 blood donors were retraced to determine whether the recipient's EBV strain matched that of a donor. One donor strain showed 100% sequence homology at the EBNA3b locus, but differed by one or two point mutations and by a 132-bp deletion at the LMP1 locus. The blood donor in question was alone among the 22 donors to show amplifiable virus in plasma. Blood from this donor readily produced an immortalized lymphoblastoid cell line in culture.

Conclusion: While considered a rare event, EBV transmission through transfusion may occur in the context of severe immunosuppression.

Keywords: EBV, Transfusion, HSCT, Pediatric, Prospective cohort, Genotyping, EBNA3b, LMP1, CTAR

INTRODUCTION

Epstein-Barr virus (EBV) is an oncogenic herpesvirus with the potential to cause serious morbidity and mortality in immunocompromised patients.¹⁻⁴ In the context of immune suppression, EBV infection can give rise to lymphoproliferative disease, a life-threatening malignancy driven by the uncontrolled expansion of EBV-infected B cells.¹⁻⁴ While EBV can cause lymphoproliferative disease and other complications such as hepatitis and hemophagocytic syndrome in immunosuppressed graft recipients, the origin of the infection is still a matter of debate. In immunosuppressed patients, the endogenous EBV already present in the recipient's blood can undergo reactivation with consequent disease in some cases.⁵ In organ transplantation, a major risk factor for post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) is donor-recipient EBV mismatch at the time of transplant where the EBV-seronegative recipient (R-) acquires the virus from the EBV-positive graft (D+).^{2,6,7,8} In hematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients, PTLD risk has been linked primarily to anti-thymocyte globulin (ATG) use.⁹⁻¹¹ Other factors have also been associated with PTLD such as graft-versus-host disease (GvHD),^{9,12,13} cord blood transplant in the setting of non-myeloablative therapy,^{14,15} HLA mismatched/unrelated donor graft,^{12,15} EBV D+/R-status,^{12,14} reduced intensity conditioning regimens,^{12,16} recipient age at transplant,⁹ cytomegalovirus (CMV) DNAemia,¹⁷ splenectomy,¹² and treatment with mesenchymal stromal cells.¹⁸ Not surprisingly, the aforementioned factors are also involved in the occurrence of EBV DNAemia (ATG,¹⁹⁻²⁵ GvHD,^{20,22,26-31} recipient age at transplant,³² CMV DNAemia,³³ D+/R-³¹ HLA mismatched/unrelated donor graft,^{29,34}) In transplant recipients, however, little is known regarding the possible role of blood as a vehicle for EBV transmission. EBV is present in the blood of the majority of adults, and cases of EBV transfusion-related infection have been reported.³⁵⁻³⁷ Transplant patients are generally transfused with very large volumes of blood products during the peri-transplant period, which falls within the interval of severe immunosuppression. Our recent pilot study supports the possibility that transfusion-related EBV infection can be transmitted to pediatric recipients of HSCT.³⁸

The aim of TREASuRE (Transfusion-Related Epstein-Barr Virus infection among Allogeneic Stem cell transplant pediatric Recipients) was to study the link between transfusion of blood products (red blood cells (RBC) and platelets (PLT)) and EBV infection in pediatric recipients of allogeneic HSCT.

MATERIALS AND METHODS

Study design and setting

TREASuRE is a Canadian multicenter prospective cohort study of allogeneic HSCT recipients in four pediatric care centers with HSCT programs, including the Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Sainte-Justine (Montreal), CancerCare Manitoba (Winnipeg), BC Children's Hospital (Vancouver) and Alberta Children's Hospital (Calgary). From 2013 to 2017 HSCT recipients (marrow, cord and peripheral blood) were recruited approximately 1 month pre-transplant and followed to 1 year post-transplant. All patients were ≤ 21 years, and none had undergone a previous transplant.

A trained nurse collected data prospectively from patients and filled out a medical report form (MRF) at baseline and subsequent periods (0-100 days, 100 days-6 months and 6-12 months post-transplant). Figure 1 shows timelines for data collection. Site-specific clinical protocols for HSCT patients included method and frequency of EBV PCR testing. Generally, EBV viral load (EBV-VL) in recipients was tested by qPCR performed approximately every 1-2 weeks from the time of transplant until hospital discharge (approximately 6 weeks post-transplant). After hospital discharge, EBV PCR monitoring was performed at every clinical follow-up visit: approximately 2x per month for 4-6 months post-transplant or for as long as the patient remained immunosuppressed. Thereafter, approximately one EBV PCR test per month was performed until 1-year post-transplant. Data were also collected on EBV PCR testing in tissues other than blood, along with imaging (including CT scan, MRI, ultrasonography, chest X-rays), biopsy and fluid analyses. All transfusions were documented in each patient's file including transfusion date, tracking number, number of units and volume administered (in mL) for RBC, PLT and fresh frozen plasma (FFP). The completed MRFs were sent prospectively to the coordinating center at the CHU Sainte-Justine for data entry using Access 2013 software following resolution of missing data, outliers and inconsistencies with the corresponding team.

The study protocol also included surveillance to identify cases of EBV infection in HSCT recipients who were seronegative before transplant and who received an EBV-negative graft (D-/R-). The recipient's EBV strain was genotyped and respective blood donors were retraced for EBV DNA amplification and genotyping. Blood units administered to these patients 0 - 26 weeks post-transplant and before the occurrence of PCR-documented EBV infection were flagged and donors were retraced by Héma-Québec (HQ) or the Canadian Blood Services (CBS) using the unique

identification number. Traceable donors were invited to provide a blood sample for the research study. Blood (15 mL) was collected in a heparinized vacutainer tube and shipped on ice to the CHU Sainte-Justine within 24 hours for EBV amplification and genotyping.

The study protocol was approved by the research ethics boards of all participating institutions including the ethics committees at HQ and CBS. Informed consent was obtained from patients (or their legal guardians) whose EBV was genotyped and from blood donors traced by HQ and CBS. Patient consent was waived when all data were collected from medical charts.

EBV PCR testing

In this paper EBV infection was defined as the detection of EBV-VL above baseline in peripheral blood or serum samples. Routine EBV-VL testing on patient blood or serum samples was performed by in-house or commercial qPCR assays chosen by the individual centers. Details on each center's qPCR test and trigger for clinical intervention are provided in Table S1.

EBV serology testing

Pre-transplant sera from recipients and graft donors were collected and tested by in-house³⁹ or commercial assays for measuring IgG antibodies to the EB viral capsid antigen (VCA) and nuclear antigens (EBNA). Serology testing was not done on cord blood as it is virtually always negative for EBV.^{40,41} Details on the EBV serology test used by the four collaborating centers are provided in Table S1.

Blood separation, culture and EBV genotyping

EBV genotyping was performed in pre-transplant seronegative HSCT recipients of an EBV-negative graft, who developed post-transplant EBV infection, and in their blood donors. Briefly, 15-20 mL of peripheral blood from blood donors and 2 mL from infected HSCT patients were separated by centrifugation on Ficoll-paque gradients. The mononuclear cell fraction was harvested, washed, and cultured in the presence of cyclosporine to enable outgrowth of EBV-positive cells. Viral DNA within lymphoblastoid cells was extracted and PCR-amplified using primers from the EBNA3b⁴² and LMP1⁴³ coding regions of the EBV-genome, which are known to be polymorphic among the various EBV strains. Alternatively, the mononuclear cell fraction was cultured for 5 days in the presence of 1 mM sodium butyrate to stimulate EBV reactivation,

followed by DNA extraction and PCR amplification using the same primers as above. Sanger sequencing was performed at the Institut de recherche en immunologie et cancérologie (Montréal, Canada) using the ABI model 3730 sequencer.

GenBank search

A BLAST search was performed to compare recipient EBV LMP1 and EBNA3b sequences to EBV isolates deposited in the National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine GenBank database (blast.ncbi.nlm.nih.gov, 7-13-20) using the search term Epstein-Barr virus (taxid:10376).

Statistical analysis

For survival analysis the event of interest was the occurrence of EBV infection as defined by at least one positive PCR post-transplant. PCR positivity was determined based on the individual criteria used at each site (Table S1. Date of transplant corresponded to the beginning of follow-up which continued until the occurrence of EBV infection or until 6 months post-transplant. A death or a second transplant or a stop in monitoring occurring before the end of follow-up when there was no prior post-transplant EBV infection was considered a competitive event. Cumulative incidence function (CIF) was used to assess the cumulative incidence of post-transplant EBV infection. The Gray test was used to compare the CIF according to the recipient pre-transplant EBV serology and/or to the graft EBV status.⁴⁴

The association between exposure variables and EBV infection was measured using time varying Cox proportional hazards assumption regression model. Hazard ratio (HR) and 95% confidence intervals (CI) were estimated. The exposure variables included RBC and PLT transfusion (yes vs no). These binary time-dependent variables were coded as "no" before the first transfusion and "yes" afterwards. Blood products were also considered as cumulative volume (in mL) received over time and as time varying continuous variables after they were transformed using the square root to make their distribution approximately normal. Several regression models were considered. We first used unweighted time-dependent multivariate Cox models. All multivariate models considered the inclusion of the following variables: age, gender, primary diagnosis, pre-transplant recipient EBV serostatus, graft/donor EBV serostatus, donor type, graft source, conditioning and GvHD prophylaxis (myeloablative conditioning, ATG, Alemtuzumab,

cyclosporine A or tacrolimus, methotrexate (MTX) and mycophenolate mofetil (MMF)) and transfusion history 2 months before transplant. Study site was included in all multivariate models. The initial model included all variables having a p-value <0.25 in univariate analysis. Subsequently, we used the augmented backward elimination selection procedure,⁴⁵ which combines both the variable selection based on the degree of significance and the change in estimate (CIE) criteria. The degree of significance retained had a p-value of 0.2, and the CIE considered was 10%. A weighted time dependant varying Cox model was also used in order to control for selection bias (differential loss to follow-up).⁴⁶⁻⁵¹

Marginal structural Cox model was also used to control selection and confounding biases using inverse of probability of treatment weighting (IPTW).^{46,52-54} RBC and PLT binary exposures were considered as failure-time variables and Cox model was used to calculate the denominators of weights.^{51,55} The variables considered were the predictors of the main exposure and those retained in the multivariate time-dependent Cox model obtained by the above-mentioned procedure. In order to prevent individuals with very high unstabilized weights (w) from having a high contribution in terms of observations in the created pseudo-population, we used stabilized IPTW (sw).⁴⁸ The numerators of weights were calculated in the same way as denominators except that time-dependent variables were not considered. The stabilized weights (sw') used to control selection bias due to loss of follow-up were calculated using the Cox model.^{51,55} Denominators and numerators were calculated similarly as above except that no variables were considered for calculating the numerator of weights. The product of sw and sw' was used to weight the final model estimates. All weighted models were estimated using the robust variance estimator.⁵⁶ The proportional hazards assumption for the Cox model was verified using Schoenfeld residual tests⁵⁷ and, when the assumption was not fulfilled for a variable, an interaction term composed of this variable and survival time was introduced. Statistical analysis was performed using Stata/SE 14.0 and R 3.6.1.

RESULTS

A total of 156 pediatric HSCT patients were recruited consecutively into the TREASuRE study, with a median interquartile range (IQR) follow-up time of 181 days (99.5-182.625). Baseline characteristics of patients are presented in Table 1. The proportion of patients receiving at least one

transfusion (RBC, PLT or FFP) at 6 months post-transplant was 98.7%. Table 2 provides the pre- and post-transplant transfusion history.

During follow-up, 61 post-transplant EBV infections occurred. The cumulative incidence of EBV infection 6 months post-transplant was 38.5% (95% CI: 30.8-46.0). EBV infection occurred more frequently in children with positive serology (45.5% [95% CI: 35.6-54.9]) compared to children with negative serology pre-transplant (21.4% [95% CI: 10.6-34.7]) (Figure 2). For the values of EBV-VL reported in copies/mL, the range and median (IQR) highest VL level per individual were respectively 122-659000 and 5466 (1040-22759) among EBV seropositive patients and were respectively 449-14700 and 3990 (575-9840) among seronegative patients. For EBV-VL measurements reported in IU/mL, the range and median (IQR) highest VL level per individual were respectively 5489-33878 and 17826 (12924-18252) among seropositive patients (no EBV-VL was reported using this unit in seronegative patients).

Figure 3 presents the cumulative incidence of EBV infection stratified according to the pre-transplant EBV serostatus of both the recipient and the graft donor. Only one case of EBV infection occurred among the D-/R- group of patients (n=21).

Measures of association in the entire cohort

Table 3 presents the measures of association between transfusions and the occurrence of post-transplant EBV infection. According to the marginal structural Cox model, the estimated effects (HR) for binary RBC and PLT variables were respectively 1.78 (95% CI: 0.76-4.17) and 1.57 (95% CI: 0.54-4.57). For the cumulative volumes of RBC or PLTs, the HR were respectively 1.01 (95% CI: 0.99-1.04) and 0.99 (95% CI: 0.98-1.01) suggesting that each milliliter square root of RBC cumulative volume transfused increased (non-statistically) the risk of EBV infection by 1% (95% CI: -1%-5%).

EBV infection case suspected to be linked to transfusion

Clinical description

One case of EBV infection occurred among the D-/R- group. Figure 4 depicts the EBV-VL as well as the transfusion history and clinical complications for this specific case. This patient, who was 7 years of age at the time of transplant, suffered from sickle cell anemia, underwent splenectomy and received a cord blood graft after conditioning treatment that included ATG. EBV PCR testing was

done bi-weekly starting at 4 weeks post-transplant. The patient was discharged at day +23 (23 days post-transplant) and received a PLT transfusion at day +28. The first positive EBV PCR (449 copies/mL) occurred at day +123 and returned to undetectable 2 weeks later. Six months later (189 days following the first positive PCR test), the recipient tested positive again for EBV with a logarithmic increase in consecutive PCR test values. The EBV-VL peaked at 6,619,678 copies/mL 21 days following the second PCR positive test (day +332). The patient was afebrile and without clinical signs of EBV disease. No focal mass suggestive of PTLD was detectable by PET scan. Diagnosis of primary EBV infection was established 11 months post-transplant. The patient was managed by stopping cyclosporine treatment prescribed for late-onset acute grade I skin GvHD diagnosed approximately 9 months (day +283) after transplantation. Neither rituximab nor antiviral therapy were administered.

Tracing of blood donors

HQ traced 24 blood donors to this patient (six RBC and 18 PLT donors), and succeeded in contacting 22, all of whom consented to provide a blood sample for spontaneous outgrowth of EBV-positive B cells and EBV genotyping. The remaining two blood donors, unreachable by HQ, were RBC donors. One year later, the 22 blood donors were re-contacted by HQ to provide another blood sample for DNA extraction at 5 days post-culture of the mononuclear cell layer, followed by PCR amplification and genotyping as described above. Of the 22 blood donors contacted at this step, 21 consented to provide a blood sample.

EBV genotyping analysis

LMP1 sequence alignment of the recipient EBV strain with the strains of eight blood donors revealed that the sequence derived from the LCL of donor 280524 had two nucleotide mismatches within the 881-bp amplification fragment (positions 293, C/G and 707 C/T) and a single yet different nucleotide mismatch in the LMP1 sequence when derived directly from the blood of donor 280524 (position 713, C/G) (Figure S1, and Table 4). Donor 226390 also showed a single mismatch for LMP1 sequences derived directly from donor blood (position 713, C/G; Figure S1 and Table 4). LMP1 DNA fragments derived from the other blood donors showed three or more nucleotide differences (Figure S1, and Table 4). The EBNA3b sequence alignment of the recipient EBV strain with strains from six blood donors showed that donor 216584 and donor 280524 EBNA3b

sequences exactly matched the recipient's strain (Figure S2 and Table 4). The EBNA3b DNA fragments derived from other blood donors where sequencing was possible showed one or more nucleotide differences (Figure S2, and Table 4).

A BLAST search for the recipient LMP1 sequence retrieved 1879 LMP1 DNA sequences. Within this sequence dataset, which included common EBV type I and type II reference strains, no LMP1 sequence was recovered that completely spanned the recipient's DNA sequence (479 isolates) with 100% identity. Sequence homology ranged from 99.60% to 91.84% for the 479 recovered sequences. The two most homologous EBV isolates were HKHD72 (Accession MH590441) and sLCL-1.10 (accession LN827573), both of which differed from the recipient's strain by three nucleotides at the LMP1 locus. A similar BLAST search of the recipient's EBNA3b DNA fragment recovered 1040 unique sequences, where 76 (7.3%) of the isolates completely spanned the patient's EBNA3b sequence and displayed 100% identity.

Although the viral sequences from blood donors 226390 and 216584 contained, respectively, one LMP1 and 0 EBNA3b mismatches with the recipient's strain, these same donors also showed five mismatches in EBNA3b and four mismatches in LMP1, respectively, with the recipient's strain (Figures S1 and S2, and Table 4). In comparison, the strain from donor 280524, with 0 mismatch at EBNA3b and one mismatch at LMP1, is highly homologous with the recipient's strain. Comparison of the recipient's LMP1 and EBNA3b sequences with the GenBank database reveals that the degree of concordance between the recipient's EBV strain and that of donor 280524 is greater than the best expected match with a random donor.

DISCUSSION

The main objective of this work was to study the link between transfused blood products (RBC, PLT) and post-transplant EBV infection among HSCT recipients. Statistical analyses failed to show a significant positive association, suggesting that there is no relationship between blood transfusion and post-transplant EBV infection. These results are reassuring, but it should be realized that the analyses were carried out on a global scale and that a lack of statistical power could explain the lack of statistically significant associations. Likewise, although not statistically significant, most associations explored indicated an increase in EBV risk associated with blood product transfusions even after rigorous consideration for confounding and selection bias using the

marginal structural model. We also explored associations between the total volume of each blood product received and post-transplant EBV infection using logistic regression with IPTW, and results were similar (data not shown). Importantly, the detection of EBV infection in a child (who was seronegative pre-transplant and received EBV-negative cord blood), whose strain was closely related by genotyping to a strain found in one of the blood donors, points to the possibility that EBV infection can be transmitted through transfusion of leukoreduced blood components to HSCT patients. The risk of this occurrence is low since leukoreduction by filtration of blood components is very effective at removing infected leukocytes.^{58,59} In our study, only one of 21 seronegative patients receiving HSCT from a negative graft developed the infection, despite the fact that these patients collectively received a total of 87 RBC and 238 PLT concentrates. If we look globally at the results from TREASuRE, there is a risk, albeit rare, of EBV transmission occurring through leukodepleted blood transfusion in the context of severe immune suppression in HSCT recipients.

There are few studies on the risk of EBV transmission through transfusion in HSCT patients and results are divergent. A study by Wagner et al.⁶⁰ argues that leukoreduction is sufficient to eliminate the risk of EBV transmission by blood products. The study by Qu et al.⁶¹ also highlights the effectiveness of leukoreduction to eliminate the PCR-detectable signal in EBV-positive PLT pockets. On the other hand, studies by Qu et al.⁵⁹ and Trottier et al.⁶² have shown the presence of EBV-VL in leukoreduced blood products, which underlines that despite the effectiveness of leukoreduction, this procedure does not reduce to 0 the probability of EBV transmission through blood products. Trottier et al.³⁸ also found an association between the volume of blood products and post-transplant EBV infection in a cohort of pediatric HSCT recipients. This study showed a higher risk of EBV infection in patients receiving over 2530 mL of PLT (HR=2.19 [95% CI: 1.21-3.97]) or between 1260-2530 mL of PLT (HR=1.65 [95% CI: 0.86-3.18]). However, this observational study does not lend to definitive conclusions because of possible confounding bias and the absence of EBV genotyping for infected cases and their blood donors. TREASuRE is the first cohort study using genotyping to demonstrate the possibility of EBV transmission through transfused blood products.

The timeframe of the patient's EBV-VL suspected to be linked to a PLT donor is depicted in Figure 4. While most EBV infections in HSCT recipients occur early post-transplant, there is a notable distinction between D+/R-, D-/R+, D+/R+ subgroups and the D-/R- subgroup. In D+/R-, D-/R+ and D+/R+ the virus is present at the time of transplant (t0), while in D-/R- no EBV is

present at t0. Any donor B cell transferred with the graft may be either infected with donor virus (D+/R-) or may become infected with recipient virus (D-/R+). In our D-/R- patient, where the source of EBV is postulated to be a PLT unit infused at 28 days post-transplant, most of the graft-derived B cells will be eliminated given the short half-life of a mature naïve B cell.⁶³ The delay in immune reconstitution of CD34⁺-derived B cells, which can be upwards of 1-2 years following marrow ablation,⁶⁴ means that EBV from the PLT source would likely infect epithelial cells⁶⁵ (in tonsils or lymph nodes) until such time that B cells repopulate the patient's immune system. The infection would effectively be undetected in blood until a mature B cell is infected and immortalized. In this scenario, the 449 EBV-VL likely signals the first appearance in blood of an infected B cell. In the context of a very low infection dose, the delay to generate a fully immortalized phenotype able to proliferate exponentially could be quite long.

The long interval to an explosive burst in EBV-VL invokes a counter argument for the possibility of transmission from family members. If the EBV strain had derived from a family member, infection would have occurred through the normal route and the first positive PCR signal would likely be closer to the date of exponential VL increase. However, we would still need to reconcile the fact that PLT donor 280524 LMP1 and EBNA3b sequences closely match those of the recipient. Further, donor 280524 readily generated a LCL, indicative of increased numbers of EBV-infected B cells in this donor's blood. Serum from donor 280524 exhibited a >2-fold higher VCA IgG titer compared to the other donors and displayed VL levels (2.9×10^4 copies) that compare with individuals undergoing acute infectious mononucleosis.⁶⁶ While we cannot completely rule out that a family member might have been the source of the virus, the sum of the evidence weighs in favor of EBV transmission from PLT donor 280524.

It was noted that the recipient EBV LMP1 sequence contained a 132-bp deletion (position 424 to 555) within the C-terminal activation region (CTAR)3 domain.⁶⁷ The undeleted sequence was maintained in donor 280524, but partial deletions were observed in the other blood donors (Figure S1). EBV sequences in GenBank indicate that CTAR3 is deletion prone, thus barring its use in homology studies. Any functional advantage derived from the 132-bp deletion in our patient's EBV strain or similar GenBank isolates is unknown and merits further investigation.

This study has several strengths. The cohort includes a significant number of pediatric HSCT followed in four major centers in Canada, hence providing good external validity. The risk of information bias was reduced with rigorous prospective data collection and precision regarding

timing of events. We used conservative approaches to control confounding and selection bias. Lastly, DNA genotyping of EBV strains, which attempts to directly link blood donor EBV isolates to the recipient, is a notable advantage of this study. One of the limitations, however, is that the PCR tests used to detect EBV are designed to quantify increases in VL and are not standardized inter-institutionally. This situation could lead to an information bias that would be non-differential and more likely to underestimate the relative risk. Further, it is possible that we missed EBV cases among seronegative patients as data were missing for EBV serostatus of graft donors (19.9%) and pre-transplant EBV serostatus of recipients (8.3%). It is also possible that recipients with passively-acquired antibodies through pre-transplant transfusion were classified among seropositive recipients and not included in the surveillance arm. These limitations, however, did not impact the validity of the genotyping analysis.

In conclusion, the data strongly suggest that EBV transmission to pediatric recipients of HSCT through transfusion of leukoreduced blood products poses a risk that may be inadvertently overlooked if one examines EBV transmission incidence in HSCT patients at the population level.

FUNDING

TREASuRE study was supported by a grant from Canadian Blood Services (CBS). HT holds a salary award (Research Scholar) from the Fonds de la recherche du Québec en santé (FRQ-S) and a new Investigator Salary Award from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR).

AUTHOR CONTRIBUTION

All authors of this research paper have directly contributed to the conception and design (HT, CA, CB, JT, GD, JL, MT, MD, NR, PCS, MF, SJD), or acquisition of data (PREB, LL, GC, SV, VL, GD, MF, SJD), or EBV genotyping and DNA comparative analysis (JT, CA), or analysis and data interpretation (PREB, HT, CA, JT, CB, GD, MD, NR). HT, PREB and CA drafted the manuscript and all authors subsequently read, revised and approved the submitted version.

COMPETING INTERESTS

All authors have no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Héma-Québec and Canadian Blood Services. The authors graciously thank Nicole Poitras, Lucy Clayton, Ferima Sanogo, Caroline Proulx-Clerc, Isabelle Grisoni, Ilona Shemyakina, Sylvie Lacasse for coordinating the TREASuRE study; Mary-Ellen French, Djouher Nait Ladjemil, Mariana Dumitrascu, Emilie Roy-Robertson, Gaëlle Cyr, Maria Trinidad Madrid Guillen for collecting data. All authors are also grateful to the transplant team: Marie-France Vachon, Marie St-Jacques, Samira Mezziani, Marion Cortier and all nurses. Our thanks to Sylvie Tremblay and Sylvie Lebel at Héma-Québec for managing blood donor participants, to Irene Dines from CBS; to HSCT recipients and blood donors who consented to provide blood samples for EBV genotyping analysis; and to Jing Hu for technical assistance with blood separation and processing, DNA extraction, LCL generation, and preparation of samples for sequencing.

REFERENCES

1. Aalto SM, Juvonen E, Tarkkanen J, et al. Epstein-Barr viral load and disease prediction in a large cohort of allogeneic stem cell transplant recipients. *Clinical Infectious Diseases*. 2007;45(10):1305-1309.
2. Allen U, Alfieri C, Preiksaitis J, et al. Epstein-Barr virus infection in transplant recipients: Summary of a workshop on surveillance, prevention and treatment. *Can J Infect Dis*. 2002;13(2):89-99.
3. Ocheni S, Kroeger N, Zabelina T, et al. EBV reactivation and post transplant lymphoproliferative disorders following allogeneic SCT. *Bone Marrow Transplantation*. 2008;42(3):181-186.
4. Smith JM, Corey L, Healey PJ, Davis CL, McDonald RA. Adolescents are more likely to develop posttransplant lymphoproliferative disorder after primary Epstein-Barr virus infection than younger renal transplant recipients. *Transplantation*. 2007;83(11):1423-1428.
5. Cohen JL. Epstein-Barr virus lymphoproliferative disease associated with acquired immunodeficiency. *Medicine (Baltimore)*. 1991;70(2):137-160.
6. Ho M, Miller G, Atchison RW, et al. Epstein-Barr virus infections and DNA hybridization studies in posttransplantation lymphoma and lymphoproliferative lesions: the role of primary infection. *J Infect Dis*. 1985;152(5):876-886.
7. Savoie A, Perpete C, Carpentier L, Joncas J, Alfieri C. Direct correlation between the load of Epstein-Barr virus-infected lymphocytes in the peripheral blood of pediatric transplant patients and risk of lymphoproliferative disease. *Blood*. 1994;83(9):2715-2722.
8. Cen H, Breinig MC, Atchison RW, Ho M, McKnight JL. Epstein-Barr virus transmission via the donor organs in solid organ transplantation: polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis of IR2, IR3, and IR4. *J Virol*. 1991;65(2):976-980.
9. Landgren O, Gilbert ES, Rizzo JD, et al. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2009;113(20):4992-5001.
10. Van Der Velden WJFM, Mori T, Stevens WBC, et al. Reduced PTLTD-related mortality in patients experiencing EBV infection following allo-SCT after the introduction of a protocol incorporating pre-emptive rituximab. *Bone Marrow Transplantation*. 2013;48(11):1465-1471.
11. Xuan L, Jiang X, Sun J, et al. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation*. 2013;96(6):560-566.
12. Uhlin M, Wikell H, Sundin M, et al. Risk factors for Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2014;99(2):346-352.
13. Kalra A, Roessner C, Jupp J, et al. Risk factors for post-transplant lymphoproliferative disorder after Thymoglobulin-conditioned hematopoietic cell transplantation. *Clinical Transplantation*. 2018;32 (1) (no pagination)(e13150).
14. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *haematologica*. 2016;101(7):803-811.

15. Fujimoto A, Hiramoto N, Yamasaki S, et al. Risk factors and predictive scoring system for post-transplant lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2019;25(7):1441-1449.
16. Sanz J, Arango M, Senent L, et al. EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disorder after umbilical cord blood transplantation in adults with hematological diseases. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(3):397-402.
17. Xu LP, Zhang CL, Mo XD, et al. Epstein-Barr Virus-Related Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder after Unmanipulated Human Leukocyte Antigen Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Incidence, Risk Factors, Treatment, and Clinical Outcomes. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2015;21(12):2185-2191.
18. Van Esser JWJ, Van Der Holt B, Meijer E, et al. Epstein-Barr virus (EBV) reactivation is a frequent event after allogeneic stem cell transplantation (SCT) and quantitatively predicts EBV-lymphoproliferative disease following T-cell-depleted SCT. *Blood*. 2001;98(4):972-978.
19. Cesaro S, Murrone A, Mengoli C, et al. The real-time polymerase chain reaction-guided modulation of immunosuppression enables the pre-emptive management of Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2004;128(2):224-233.
20. Kullberg-Lindh C, Mellgren K, Friman V, et al. Opportunistic virus DNA levels after pediatric stem cell transplantation: serostatus matching, anti-thymocyte globulin, and total body irradiation are additive risk factors. *Transplant Infectious Disease*. 13(2):122-130.
21. Fan J, Jing M, Yang M, et al. Herpesvirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients seropositive for human cytomegalovirus before transplantation. *International Journal of Infectious Diseases*. 2016;46:89-93.
22. Juvonen E, Aalto S, Tarkkanen J, Volin L, Hedman K, Ruutu T. Retrospective evaluation of serum Epstein Barr virus DNA levels in 406 allogeneic stem cell transplant patients. *Haematologica*. 2007;92(6):819-825.
23. Liu Q, Xuan L, Liu H, et al. Molecular monitoring and stepwise preemptive therapy for Epstein-Barr virus viremia after allogeneic stem cell transplantation. *Am J Hematol*. 2013;88(7):550-555.
24. Peric Z, Cahu X, Chevallier P, et al. Features of Epstein-Barr Virus (EBV) reactivation after reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia*. 2011;25(6):932-938.
25. Gao X-N, Lin J, Wang L-J, et al. Risk factors and clinical outcomes of Epstein-Barr virus DNAemia and post-transplant lymphoproliferative disorders after haploidentical and matched-sibling PBSCT in patients with hematologic malignancies. *Ann Hematol*. 2019;98(9):2163-2177.
26. Cohen J, Gandhi M, Naik P, et al. Increased incidence of EBV-related disease following paediatric stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Br J Haematol*. 2005;129(2):229-239.
27. Elmahdi S, Muramatsu H, Narita A, et al. Correlation of rabbit antithymocyte globulin serum levels and clinical outcomes in children who received hematopoietic stem cell transplantation from an alternative donor. *Pediatr Transplant*. 2016;20(1):105-113.
28. Hiwarkar P, Gaspar HB, Gilmour K, et al. Impact of viral reactivations in the era of pre-emptive antiviral drug therapy following allogeneic haematopoietic SCT in paediatric recipients. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(6):803-808.

29. Sirvent-Von Buelzingsloewen A, Morand P, Buisson M, et al. A prospective study of Epstein-Barr virus load in 85 hematopoietic stem cell transplants. *Bone Marrow Transplantation*. 2002;29(1):21-28.
30. Omar H, Hagglund H, Gustafsson-Jernberg A, et al. Targeted monitoring of patients at high risk of post-transplant lymphoproliferative disease by quantitative Epstein-Barr virus polymerase chain reaction. *Transplant Infectious Disease*. 2009;11(5):393-399.
31. Laberko A, Bogoyavlenskaya A, Shelikhova L, et al. Risk Factors for and the Clinical Impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Pediatric Recipients of TCR-alpha/beta- and CD19-Depleted Grafts. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2017;23(3):483-490.
32. Bogunia-Kubik K, Jaskula E, Lange A. The presence of functional CCR5 and EBV reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2007;40(2):145-150.
33. Zallio F, Primon V, Tamiazzo S, et al. Epstein-Barr virus reactivation in allogeneic stem cell transplantation is highly related to cytomegalovirus reactivation. *Clin Transplant*. 2013;27(4):E491-497.
34. Tsoumakas K, Giamaiou K, Goussetis E, et al. Epidemiology of viral infections among children undergoing hematopoietic stem cell transplant: A prospective single-center study. *Transplant Infectious Disease*. 2019;21(4):e13095.
35. Alfieri C, Tanner J, Carpentier L, et al. Epstein-Barr virus transmission from a blood donor to an organ transplant recipient with recovery of the same virus strain from the recipient's blood and oropharynx. *Blood*. 1996;87(2):812-817.
36. Hudnall SD, Chen T, Allison P, Tying SK, Heath A. Herpesvirus prevalence and viral load in healthy blood donors by quantitative real-time polymerase chain reaction. *Transfusion*. 2008;48(6):1180-1187.
37. Tattevin P, Cremieux AC, Descamps D, Carbon C. Transfusion-related infectious mononucleosis. *Scand J Infect Dis*. 2002;34(10):777-778.
38. Trottier H, Buteau C, Robitaille N, et al. Transfusion-related Epstein-Barr virus infection among stem cell transplant recipients: A retrospective cohort study in children. *Transfusion*. 2012;52(12):2653-2663.
39. Carpentier L, Tapiero B, Alvarez F, Viau C, Alfieri C. Epstein-Barr virus (EBV) early-antigen serologic testing in conjunction with peripheral blood EBV DNA load as a marker for risk of posttransplantation lymphoproliferative disease. *The Journal of infectious diseases*. 2003;188(12):1853-1864.
40. Chang RS, Blankenship W. Spontaneous in vitro transformation of leukocytes from a neonate. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1973;144(1):337-339.
41. Weinberg A, Enomoto L, Li S, Shen D, Coll J, Shpall EJ. Risk of transmission of herpesviruses through cord blood transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2005;11(1):35-38.
42. Palser AL, Grayson NE, White RE, et al. Genome diversity of Epstein-Barr virus from multiple tumor types and normal infection. *Journal of virology*. 2015;89(10):5222-5237.
43. Walling DM, Andritsos LA, Etienne W, et al. Molecular markers of clonality and identity in Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disease. *Journal of medical virology*. 2004;74(1):94-101.
44. Gray RJ. A class of K-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *The Annals of statistics*. 1988:1141-1154.

45. Dunkler D, Plischke M, Leffondré K, Heinze G. Augmented backward elimination: a pragmatic and purposeful way to develop statistical models. *PLoS One*. 2014;9(11):e113677.
46. Cole SR, Hernán MA. Constructing inverse probability weights for marginal structural models. *American journal of epidemiology*. 2008;168(6):656-664.
47. Fewell Z, Hernán MA, Wolfe F, Tilling K, Choi H, Sterne JA. Controlling for time-dependent confounding using marginal structural models. *Stata J*. 2004;4(4):402-420.
48. Hernán MÁ, Brumback B, Robins JM. Marginal structural models to estimate the causal effect of zidovudine on the survival of HIV-positive men. *Epidemiology*. 2000:561-570.
49. Karim ME, Gustafson P, Petkau J, et al. Marginal structural Cox models for estimating the association between β -interferon exposure and disease progression in a multiple sclerosis cohort. *American journal of epidemiology*. 2014;180(2):160-171.
50. Robins JM, Hernan MA, Brumback B. Marginal structural models and causal inference in epidemiology. LWW; 2000.
51. van der Wal WM, Geskus RB. Ipw: an R package for inverse probability weighting. *J Stat Softw*. 2011;43(13):1-23.
52. Alonso A, Seguí-Gómez M, De Irala J, Sánchez-Villegas A, Beunza JJ, Martínez-Gonzalez MÁ. Predictors of follow-up and assessment of selection bias from dropouts using inverse probability weighting in a cohort of university graduates. *European journal of epidemiology*. 2006;21(5):351-358.
53. Buchanan AL, Hudgens MG, Cole SR, Lau B, Adimora AA, Study WsIH. Worth the weight: using inverse probability weighted Cox models in AIDS research. *AIDS research and human retroviruses*. 2014;30(12):1170-1177.
54. Hernán MA, Hernández-Díaz S, Robins JM. A structural approach to selection bias. *Epidemiology*. 2004;15(5):615-625.
55. Willems S, Schat A, van Noorden M, Fiocco M. Correcting for dependent censoring in routine outcome monitoring data by applying the inverse probability censoring weighted estimator. *Statistical methods in medical research*. 2018;27(2):323-335.
56. Austin PC. The use of propensity score methods with survival or time-to-event outcomes: reporting measures of effect similar to those used in randomized experiments. *Statistics in medicine*. 2014;33(7):1242-1258.
57. Cleves MA, Gould W, Marchenko YV. *An introduction to survival analysis using Stata*. Revised third edition. ed. College Station, Texas: Stata Press; 2016.
58. Graham DS. Leukoreduction of the blood supply. 1999.
59. Qu L, Xu S, Rowe D, Triulzi D. Efficacy of Epstein-Barr virus removal by leukoreduction of red blood cells. *Transfusion*. 2005;45(4):591-595.
60. Wagner HJ, Kluter H, Kruse A, Kirchner H. [Relevance of transmission of Epstein-Barr virus through blood transfusion]. *Beitr Infusionsther Transfusionsmed*. 1994;32:138-141.
61. Qu L, Rowe DT, Donnenberg AD, Griffin DL, Triulzi DJ. Effects of storage and leukoreduction on lymphocytes and Epstein-Barr virus genomes in platelet concentrates. *Transfusion*. 2009;49(8):1580-1583.
62. Trottier H, Delage G, Hu J, et al. Detection of Epstein-Barr virus in leucoreduced blood products. *Vox Sang*. 2016;110(2):199-201.
63. Macallan DC, Wallace DL, Zhang Y, et al. B-cell kinetics in humans: rapid turnover of peripheral blood memory cells. *Blood*. 2005;105(9):3633-3640. doi: 3610.1182/blood-2004-3609-3740. Epub 2005 Jan 3611.

64. van der Maas NG, Berghuis D, van der Burg M, Lankester AC. B Cell Reconstitution and Influencing Factors After Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:782.
65. Sixbey JW, Nedrud JG, Raab-Traub N, Hanes RA, Pagano JS. Epstein–Barr virus replication in oropharyngeal epithelial cells. *New England Journal of Medicine*. 1984;310(19):1225-1230.
66. Balfour Jr HH, Holman CJ, Hokanson KM, et al. A prospective clinical study of Epstein-Barr virus and host interactions during acute infectious mononucleosis. *Journal of Infectious Diseases*. 2005;192(9):1505-1512.
67. Izumi KM, McFarland EC, Riley EA, Rizzo D, Chen Y, Kieff E. The residues between the two transformation effector sites of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 are not critical for B-lymphocyte growth transformation. *Journal of Virology*. 1999;73(12):9908-9916.

Tables and figures

Table 1: Baseline characteristics of HSCT recipients of TREASuRE study

Variable		Number (%) or otherwise specified	
Gender	Male	83 (53.2%)	
	Female	73 (46.8%)	
Age (in years)	Mean (SD)	7.3 (5.3)	
	Range	0 - 21*	
	Median (IQR)	6.0 (2.5 - 10.5)	
Primary diagnosis	Malignant	69 (44.2%)	
	Non malignant	87 (55.8%)	
Recipient pre-transplant EBV serology	EBV+	101 (64.7%)	
	EBV-	42 (26.9%)	
	Unknown	13 (8.3%)	
Donor EBV serology [‡]	EBV+	63 (40.4%)	
	EBV-	62 (39.7%)	
	Unknown	31 (19.9%)	
Donor/recipient EBV serostatus	D+/R+	49 (31.4%)	
	D+/R-	12 (7.7%)	
	D-/R+	37 (23.7%)	
	D-/R-	21 (13.5%)	
	Unknown	37 (23.7%)	
Donor type	Match related donor	53 (34.0)	
	Alternative donor	103 (66.0)	
Graft source	Cord blood	39 (25.0%)	
	Bone marrow	98 (62.8%)	
	Peripheral blood	19 (12.2%)	
Conditioning and GvHD prophylaxis	Conditioning regimen [§]	Myeloablative conditioning	58 (37.2%)
		Other conditioning	98 (62.8%)
	ATG	No	92 (59.0%)
		Yes	64 (41.0%)
	Alemtuzumab or similar antibodies	No	117 (75.0%)
		Yes	39 (25.0%)
		Yes	100 (64.1%)
	CsA	No	59 (37.8%)
		Yes	97 (62.2%)
	FK 506 (Tacrolimus, Prograf)	No	110 (70.5%)
		Yes	46 (29.5%)
	MTX	No	92 (59.0%)
		Yes	64 (41.0%)
	MMF	No	100 (64.1%)
Yes		56 (35.9%)	
Yes		64 (41.0%)	

ATG: Anti-thymocyte globulin; CsA: Cyclosporine; D+/R+: Donor and recipient EBV seropositive; D-/R-: Donor and recipient EBV seronegative; D+/R-: Donor EBV seropositive and recipient EBV seronegative; D-/R+: Donor EBV seronegative and recipient EBV seropositive; GvHD: Graft-versus-host disease; IQR: Interquartile range; MMF: Mycophenolate mofetil; MTX: Methotrexate; SD: Standard deviation.

* There were 3 patients over 18 years old.

[§]Any conditioning regimen including total body irradiation ≥ 10 Gy or Busulfan total dose ≥ 12 mg/kg was considered myeloablative.

[‡]All cord blood grafts were considered EBV negative (i.e. seronegative donor).

Table 2: Pre- and post-transplant transfusion

Variable		Number (%) or otherwise specified	
Transfusion history 2 months pre-transplant	Patients received RBC	No	32 (20.5%)
		Yes	124 (79.5%)
	Volume of RBC received (in mL) †	Mean (SD)	1051.8 (1092.9)
		Median (IQR)	800.0 (350.0 - 1253.0)
	Patients received PLT	No	79 (50.6%)
		Yes	77 (49.4%)
	Volume of PLT received (in mL) ††	Mean (SD)	1162.7 (1158.1)
		Median (IQR)	726.0 (292.5 - 1698.0)
	Patients received FFP	No	153 (98.1%)
		Yes	3 (1.9%)
Volume of FFP received (in mL)	Mean (SD)	NC	
	Median (IQR)	NC	
Transfusions received 6 months post-transplant	Patients received RBC	No	15 (9.6%)
		Yes	141 (90.4%)
	Volume of RBC received (in mL)	Mean (SD)	1435.8 (1858.6)
		Median (IQR)	879.0 (571.0, 1658.0)
	Patients received PLT	No	6 (3.8%)
		Yes	150 (96.2%)
	Volume of PLT received (in mL)	Mean (SD)	2631.9 (3325.9)
		Median (IQR)	1452.0 (690.0, 3176.0)
	Patients received FFP	No	145 (92.9%)
		Yes	11 (7.1%)
Volume of FFP received (in mL)	Mean (SD)	3559.5 (9692.8)	
	Median (IQR)	490.0 (249.0, 1244.0)	

FFP: Fresh frozen plasma; IQR: Interquartile range; NC: Not calculated; PLT: Platelets; RBC: Red blood cells; SD: Standard deviation;

†There were 27 transfusions out of 512 for which the volume was not specified.

††There were 30 transfusions out of 481 for which the volume was not specified. Estimates were based on observed data.

Table 3: Estimates of association between blood products transfused after transplant and time to first occurrence of post-transplant EBV event

Estimated models	RBC transfusion (Yes versus No)		PLT transfusion (Yes versus No)		Cumulative volume of RBC received (continuous)		Cumulative volume of PLT received (continuous)	
	HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p
Cox with time-varying covariates								
Univariate	1.06 (0.47 - 2.40)	0.883	1.40 (0.46 - 4.23)	0.555	1.00 (0.98 - 1.02)	0.776	1.00 (0.99 - 1.01)	0.831
Multivariate*								
Unweighted	1.72 (0.70 - 4.20)	0.235	1.41 (0.44 - 4.57)	0.565	1.01 (0.99 - 1.04)	0.368	0.99 (0.97 - 1.01)	0.360
Weighted (sw') †	1.74 (0.67 - 4.48)	0.253	1.41 (0.48 - 4.17)	0.533	1.01 (0.99 - 1.04)	0.347	0.99 (0.98 - 1.01)	0.459
Marginal structural Cox model*								
Weighted (sw)	1.72 [§] (0.74 - 3.96)	0.205	1.59* (0.57 - 4.45)	0.378	//	//	//	//
Weighted (sw*sw')	1.78 (0.76 - 4.17)	0.184	1.57 (0.54 - 4.57)	0.404	//	//	//	//

CI: Confidence interval; **HR:** Hazard ratio; **p:** p-value; **PLT:** Platelets; **RBC:** Red blood cells.

*The following variables were included in all models: study sites, recipient pre-transplant EBV serology (seropositive, seronegative or unknown), graft EBV status (positive, negative or unknown), conditioning regimen (myeloablative or other conditioning regimen), use of anti-thymocyte globulin (ATG) (yes or no), tacrolimus (FK506) or cyclosporine A (CsA) (yes or no), use of mycophenolate mofetil (MMF) (yes or no). To compensate for the non-respect of the proportional hazards assumption hypothesis, we also included in all models an interaction term between survival time and each of the following: graft EBV serostatus and MMF. For the models on RBC transfusion, the variable PLT transfusion was also included and for the models on PLT transfusion, the RBC transfusion variable was included (as binary or continuous as defined by the model). Square-roots transformation was done for the PLT and RBC volumes (when analyzed as continuous variables).

† Weights were estimated with all above-mentioned variables and methotrexate (MTX) (yes or no), Alemtuzumab (yes or no).

§ Weights were estimated with all above-mentioned variables and gender (female or male), donor type (alternative or matched related donor), RBC transfusion 2 months pre-transplant (yes versus no).

* Weights were estimated with all above mentioned variables and primary diagnosis (non-malignant or malignant), donor type (alternative or matched related donor), PLT transfusion 2 months pre-transplant (yes or no).

//: Analysis not applicable as model properties were not respected (i.e. stabilized weights above 1).

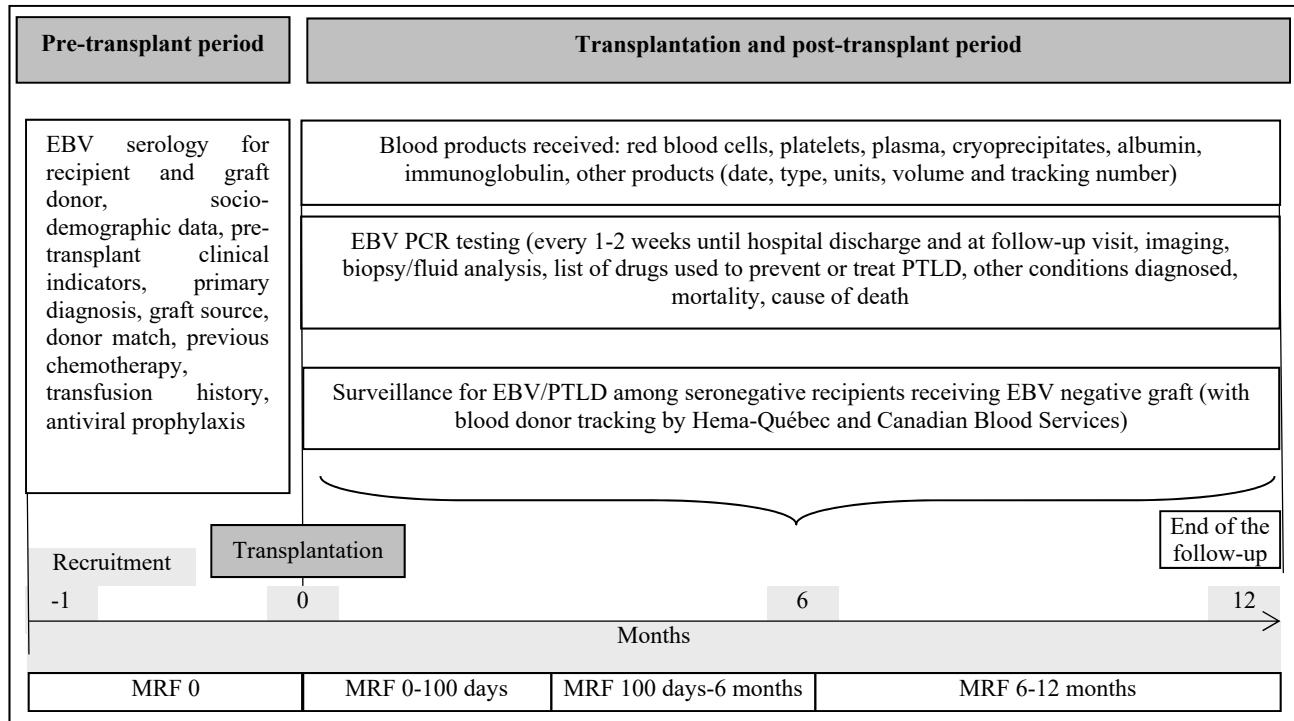
Table 4: Summary results including serology of blood donors, plasma EBV DNA presence, cell line derivation and EBNA3b/LMP1 sequence analyses from blood (B) or in vitro-derived cell line (L)

Identification number	VCA-IgG serum titer	EBV copies** plasma	Stable LCL	EBNA seq	LMP seq	Donor-patient EBNA/LMP mutations
286449	>50<100	<1			B	-/3
226390	>10<50	<1		B	B	5/1
225954	ND*	<1		L	L B	1/5 -/11
286423	ND*	<1		L	L B	14/13
271912	>50<100	<1				
216640	>50<100	<1				
272013	ND	<1	+	L	L B	5/13
305626	>50<100	<1			B	-/14
8075	<10	ND				
220573	<10	ND				
216584	ND*	<1		L	L B	0/4
280524	>100	2.9 x 10 ⁴	+	L	L B	0/2 -/1
220976	ND*	<1***				
305976	>50<100	<1				
220548	<10	<1				
227347	<10	<1				
228278	>50<100	<1				
316709	>10<50	<1				
379430	>50<100	<1				
216590	>50<100	<1				
216615	>50<100	<1				
305642	>50<100	<1				

*Viral capsid antigen (VCA) serology not done (ND) if positive signal was already available by qPCR. **Genome copies/μl by nested qPCR, performed as described in reference 13. ***0.3 copies/μl obtained by qPCR on long-term lymphocyte culture. L = sequence (seq) obtained using DNA extracted from long-term lymphocyte culture. B = sequence obtained using DNA extracted from peripheral blood after butyrate induction. LCL = lymphoblastoid cell line.

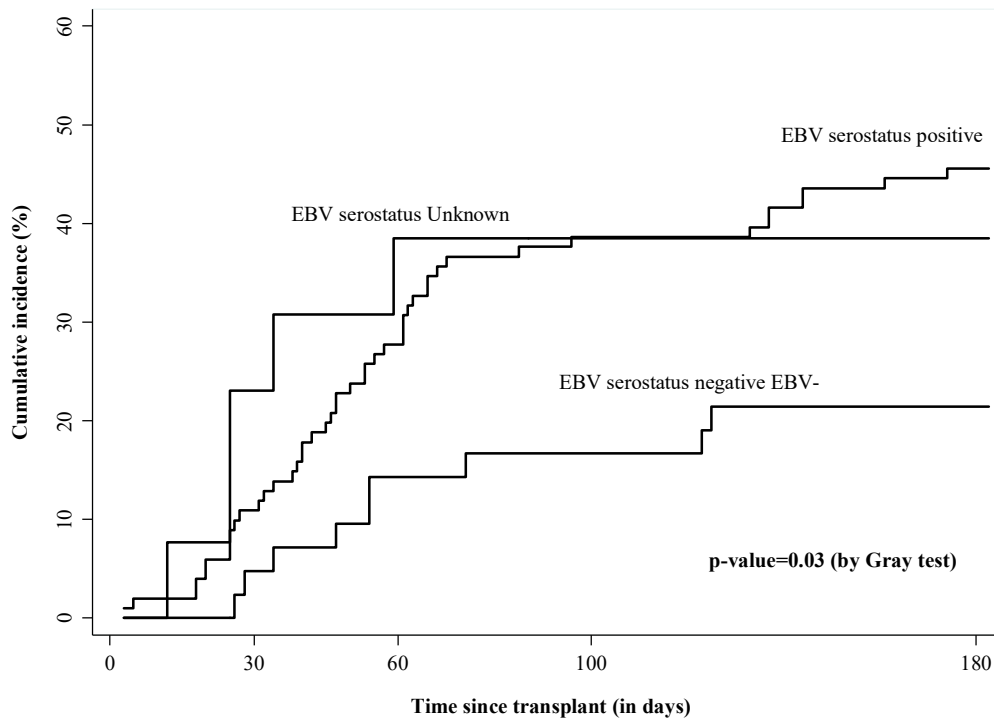
Figures

Figure 1: Timeline for data collection



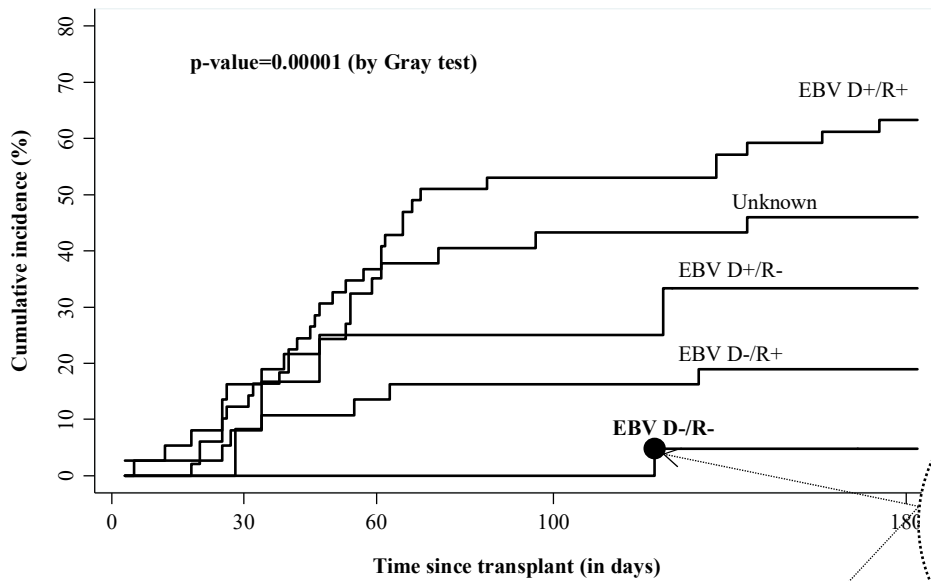
Abbreviations. MRF: medical report form, EBV: Epstein-Barr virus.

Figure 2: Cumulative incidence (%) of post-transplant EBV infection among HSCT pediatric recipients according to pre-transplant EBV serostatus



Recipient pre-transplant EBV serostatus	N	Cumulative incidence of EBV DNA infection (%) (95%CI)			
		At day 30	At day 60	At day 100	At day 180
Positive	101	10.9 (5.8-17.8)	27.7 (19.4-36.7)	38.6 (29.2-48.0)	45.5 (35.6-54.9)
Negative	42	4.8 (0.9-14.2)	14.3 (5.8-26.5)	16.7 (7.3-29.3)	21.4 (10.6-34.7)
Unknown	13	23.1 (5.6-47.5)	38.5 (14.1-62.8)	38.5 (14.1-62.8)	38.5 (14.1-62.8)
All patients	156	10.3 (6.1-15.6)	25.0 (18.5-32.0)	32.7 (25.5-40.1)	38.5 (30.8-46.0)

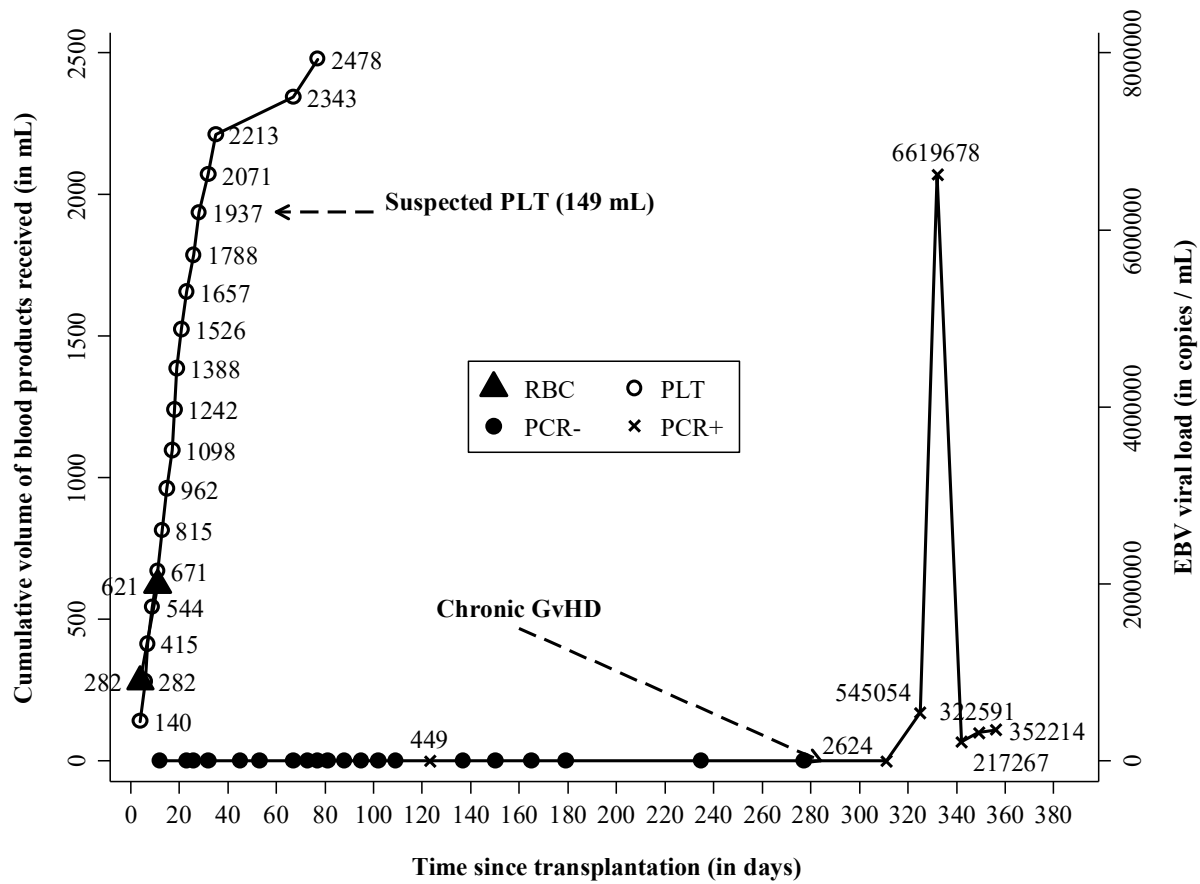
Figure 3: Cumulative incidence (%) of post-transplant EBV infection among HSCT pediatric recipients according to EBV serostatus of donor/recipient pairs



Number at risk (Number of failure)		Time since transplant (in days)									
		0	30	60	90	120	150	180			
EBV D+/R+:	49	(6)	43	(12)	28	(8)	16	(5)	9		
EBV D+/R-:	12	(1)	11	(2)	6	(0)	4	(1)	2		
EBV D-/R+:	37	(3)	33	(2)	29	(1)	23	(1)	17		
EBV D-/R-:	21	(0)	21	(0)	18	(0)	16	(1)	12		
Unknown:	37	(6)	30	(7)	22	(3)	13	(1)	5		

Abbreviations. D+/R+: Donor and recipient EBV serostatus positive, D-/R-: Donor and recipient EBV serostatus negative, D+/R-: Donor EBV serostatus positive and recipient EBV serostatus negative; D-/R+: Donor EBV serostatus negative and recipient EBV serostatus positive

Figure 4: Post-transplant EBV PCR testing results, transfusion history and clinical complications for suspected case of EBV infection through transfused platelets



Abbreviations: EBV: Epstein-Barr Virus; GvHD; graft-versus-host disease; PCR: polymerase chain reaction; PLT: platelets; RBC: red blood cells.

Supplementary materials: Table S1, Figure S1 and Figure S2

Table S1: Description of EBV qPCR and serology testing according to study site

EBV DNA detection				
Site	qPCR method	Type of specimen	qPCR detection limits	Triggers for intervention
CHU Sainte-Justine (Montreal)	In-house, Taqman	Whole blood	Baseline is 200 copies/mL	Rapidly rising EBV-VL, or at least 2 consecutive qPCR positive results (> 1000 copies/mL) or suspicious symptoms/positive PET scan.
CancerCare Manitoba (Winnipeg)	In house, Taqman	Whole blood	Lower detection limit is 500 copies/mL. The quantifiable range is 575 copies/mL to 5,750,000 copies/mL	Rapidly rising EBV-VL on repeated testing (≥ 0.5 log over period of few weeks) or PTLD or clinical suggestion of PTLD or EBV-VL >10,000 copies/mL
Alberta Children's Hospital (Calgary)	Commercial qPCR from Altona Diagnostics (Hamburg, Germany)	Whole blood	Lower detection limit is 289 IU/mL. Upper limit is 5×10^9 IU/mL. In the range of 289 – 550 IU/mL these are reported as non-quantifiable <550 IU/mL	Value > 300,000 IU/mL is phoned to submitter. Within the BMT program, however, physicians empirically treat with rituximab for EBV-VL >300,000. If there are lower numbers with symptoms, patients are worked up and treated as appropriate.
BC Children's Hospital (Vancouver)	In house, Taqman	Serum	Lower detection limit is 300 copies /mL	Three-fold increase is considered significant, but also depends on clinical symptoms and physician's assessment.
EBV serology testing				
Sites	Method (IFA or ELISA)	Source	Time when EBV serology was performed	
CHU Sainte-Justine (Montreal)	IFA (VCA-IgG, EBNA-anti-compl Ig)	In-house	1-3 months prior to transplant. Most are done at 1 month prior.	
CancerCare Manitoba (Winnipeg)	IFA (VCA IgM+IgG)	Commercial (Merifluor Meridian Bioscience)	1 month prior to transplant	
Alberta Children's Hospital (Calgary)	ELISA chemiluminescent enzyme linked immunoassay (CMEIA) (VCA IgM+IgG, EBNA IgG)	Commercial, (Abbott Diagnostics)	1 month prior to transplant	

286449-bld TGTCGTTGTC CATGGTAATA CATCCAGATT AAAATCGCCA GAAACAGGAG GAGCCAAAGG AGATCAACCA ATAGAGTCCA CCAGTTTTGT TGTAGATAGA G
 226390-bld TGTCGTTGTC CATGGTAATA CATCCAGATT AAAATCGCCA GAAACAGGAG GAGCCAAAGG AGATCAACCA ATAGAGTCCA CCAGTTTTGT TGTAGAT
 225954-lcl TGTCGTTGTC CATGGTAATA CATCCAGATT AAAATCGCCA GAAACAGGAG GAGCCAAAGG AGATCA
 272013 TGTCGTTGTC CATGGTAATA CATCCAGATT AAAATCGCCA GAAACAGGAG GAGCCAAAGG AGATCAACCA ATAGAGTCCA CCAGTTTTGT TGTAGA
 280524-bld TGTCGTTGTC CATGGTAATA CATCCAGATT AAAATCGCCA GAAACAGGAG GAGCCAAAGG AGATCAACCA ATAGAGTCCA CCAGTTTTGT TGTAGA
 216584 TGTCGTTGTC CATGGTAATA CATCCAGATT AAAATCGCCA GAAACAGGAG GAGCCAAAGG AGATCAACCA ATAGAGTCCA CCAGTTTTGT TGTAGA
 286423 TGTCGTTGTC CATGGTAATA CATCCAGATT AAAATCGCCA GAAACAGGAG GAGCCAAAGG AGATCAACCA ATAGAGTCCA CCAGTTTTGT TGTAGA
 280524-bld TGTCGTTGTC CA
 225954-bld TGTCGTTG

Figure S2: Patient vs Blood Donors EBV EBNA3b Sequence Comparison

1 130
 Patient CAACAGTATA CGGCAGGCC CGCGTGTGTTG ACCGAAAGTC AGATGCAAAA TCAACCAAAA AATGCAGGGC CATAGTAACT GACTTTAGTG TAATCAAGGC CATTGAAGAG GAACACAGAA AGAAGAAGGC
 216584 CAACAGTATA CGGCAGGCC CGCGTGTGTTG ACCGAAAGTC AGATGCAAAA TCAACCAAAA AATGCAGGGC CATAGTAACT GACTTTAGTG TAATCAAGGC CATTGAAGAG GAACACAGAA AGAAGAAGGC
 225954 CAACAGTATA CGGCAGGCC CGCGTGTGTTG ACCGAAAGTC AGATGCAAAA TCAACCAAAA AATGCAGGGC CATAGTAACT GACTTTAGTG TAATCAAGGC CATTGAAGAG GAACACAGAA AGAAGAAGGC
 280524 CAACAGTATA CGGCAGGCC CGCGTGTGTTG ACCGAAAGTC AGATGCAAAA TCAACCAAAA AATGCAGGGC CATAGTAACT GACTTTAGTG TAATCAAGGC CATTGAAGAG GAACACAGAA AGAAGAAGGC
 237180 CAACAGTATA CGGCAGGCC CGCGTGTGTTG ACCGAAAGTC AGATGCAAAA TCAACCAAAA AATGCAGGGC CATAGTAACT GACTTTAGTG TAATCAAGGC CATTGAAGAG GAACACAGAA AGAAGAAGGC
 272013 GATA CGGCAGGCC CGCGTGTGTTG ACCGAAAGTC AGATGCAAAA TCAACCAAAA AATGCAGGGC CATAGTAACT GACTTTAGTG TAATCAAGGC CATTGAAGAG GAACACAGAA AGAAGAAGGC
 286423 CAACAGTATA CGGCAGGCC TCGTGTGTTG ACCGAAAGTC AGATGCAAAA TCAACCAAAA AATGCAGGGC CATAGTAACT GACTTTAGTG TAATCAAGGC CATTGAAGAG GAACACAGAA AGAAGAAGGC

131 260
 Patient AGCCAGAACA GAGCAGCAA GAGCCACGCC TGAATCCCAG GCCCCCACAG TGGTCTCCA GCGACCACC ACGCAGCAG AGCCTGGCCC CGCCGGCCCA CTGAGTGTCC AGGCTCGGCT GGAGCCATGG
 216584 AGCCAGAACA GAGCAGCAA GAGCCACGCC TGAATCCCAG GCCCCCACAG TGGTCTCCA GCGACCACC ACGCAGCAG AGCCTGGCCC CGCCGGCCCA CTGAGTGTCC AGGCTCGGCT GGAGCCATGG
 225954 AGCCAGAACA GAGCAGCAA GAGCCACGCC TGAATCCCAG GCCCCCACAG TGGTCTCCA GCGACCACC ACGCAGCAG AGCCTGGCCC CGCCGGCCCA CTGAGTGTCC AGGCTCGGCT GGAGCCATGG
 280524 AGCCAGAACA GAGCAGCAA GAGCCACGCC TGAATCCCAG GCCCCCACAG TGGTCTCCA GCGACCACC ACGCAGCAG AGCCTGGCCC CGCCGGCCCA CTGAGTGTCC AGGCTCGGCT GGAGCCATGG
 237180 AGCCAGAACA GAGCAGCAA GAGCCACGCC TGAATCCCAG GCCCCCACAG TGGTCTCCA GCGACCACC ACGCAGCAG AGCCTGGCCC CGCCGGCCCA CTGAGTGTCC AGGCTCGGCT GGAGCCATGG
 272013 AGCCATAACA GAGCAGCAA GAGCCACGCC TGAATCCCAG GCCCCCACAG TGGTCTCCA GCGACCACC ACGCAGCAG AGCCTGGCCC CGCCGGCCCA CTGAGTGTCC AGGCTCGGCT GGAGCCATGG
 286423 AGCTAGAACA GAGCAGCAA GAGCCACGCC TGAATCCCAG GCCCCCACAG TGGTCTCCA GCGACCACC ACGCAGCAG AGCCTGGCCC CGCCGGCCCA CTGAGTGTCC AGGCTCGGCT GGAGCCATGG

261 390
 Patient CAACCTTTGC CTGGGCCCA AGTGACAGCA GTTCTACTTC ACGAAGAATC CATGCAGGGT GTCCAAGTAC ATGGTTCCGAT GCTAGACCTT CTTGAAAAAG ACGATGAAGT CATGGAGCAG AGGGTTATGG
 216584 CAACCTTTGC CTGGGCCCA AGTGACAGCA GTTCTACTTC ACGAAGAATC CATGCAGGGT GTCCAAGTAC ATGGTTCCGAT GCTAGACCTT CTTGAAAAAG ACGATGAAGT CATGGAGCAG AGGGTTATGG
 225954 CAACCTTTGC CTGGGCCCA AGTGACAGCA GTTCTACTTC ACGAAGAATC CATGCAGGGT GTCCAAGTAC ATGGTTCCGAT GCTAGACCTT CTTGAAAAAG ACGATGAAGT CATGGAGCAG AGGGTTATGG
 280524 CAACCTTTGC CTGGGCCCA AGTGACAGCA GTTCTACTTC ACGAAGAATC CATGCAGGGT GTCCAAGTAC ATGGTTCCGAT GCTAGACCTT CTTGAAAAAG ACGATGAAGT CATGGAGCAG AGGGTTATGG
 237180 CAACCTTTGC CTGGGCCCA AGTGACAGCA GTTCTACTTC ACGAAGAATC CATGCAGGGT GTCCAAGTAC ATGGTTCCGAT GCTAGACCTT CTTGAAAAAG ACGATGAAGT CATGGAGCAG AGGGTTATGG
 272013 CAACCTTTGC CTGGGCCCA AGTGACAGCA GTTCTACTTC ACGAAGAATC CATGCAGGGT GTCCAAGTAC ATGGTTCCGAT GCTAGACCTT CTTGAAAAAG ACGATGAAGT CATGGAGCAG AGGGTTATGG
 286423 CAACCTTTGC CTGGGCCCA AGTGACAGCA GTTCTACTTC ACGAAGAATC CATGCAGGGT GTCCAAGTAC ATGGTTCCGAT GCTAGACCTT CTTGAAAAAG ACGATGAAGT CATGGAGCAG AGGGTTATGG

391 520
 Patient CAACCTACT GCCACAGTA CCACAACAGC CCCGGCTGG CAGAAGAGGC CCTTGTGTC TCAACCGTGA CCTAGGCATA GAGAGTGATG AGCCCGCTT CACAGAGCCG GTTCATGATC AGCTACTGCC
 216584 CAACCTACT GCCACAGTA CCACAACAGC CCCGGCTGG CAGAAGAGGC CCTTGTGTC TCAACCGTGA CCTAGGCATA GAGAGTGATG AGCCCGCTT CACAGAGCCG GTTCATGATC AGCTACTGCC
 225954 CAACCTACT GCCACAGTA CCACAACAGC CCCGGCTGG CAGAAGAGGC CCTTGTGTC TCAACCGTGA CCTAGGCATA GAGAGTGATG AGCCCGCTT CACAGAGCCG GTTCATGATC AGCTACTGCC
 280524 CAACCTACT GCCACAGTA CCACAACAGC CCCGGCTGG CAGAAGAGGC CCTTGTGTC TCAACCGTGA CCTAGGCATA GAGAGTGATG AGCCCGCTT CACAGAGCCG GTTCATGATC AGCTACTGCC
 237180 CAACCTACT GCCACAGTA CCACAACAGC CCCGGCTGG CAGAAGAGGC CCTTGTGTC TCAACCGTGA CCTAGGCATA GAGAGTGATG AGCCCGCTT CACAGAGCCG GTTCATGATC AGCTACTGCC
 272013 CAACCTACT GCCACAGTA CCACAACAGC CCCGGCTGG CAGAAGAGGC CCTTGTGTC TCAACCGTGA CCTAGGCATA GAGAGTGATG AGCCCGCTT CACAGAGCCG GTTCATGATC AGCTACTGCC
 286423 CAACCTACT GCCACAGTA CCACAACAGC CCCGAGCTGG CAGAAGAGGC CCTTGTGTC TCAACCGTGA CCTAGGCATA GAGAGTGATG AGCCCGCTT CACAGAGCCG GTTCATGATC AGCTACTGCC

521 644
 Patient TGCCCCAGGA CTTGACCTC TTGAAATCCA ACCACTAAGC TCCCCACCA CTTCTCAACT TAGCAGTTCC GCACCAAGCT CCGCACAAAC TCCATGGCCC GTGGTTCAGC CAAGTCAGAC TCCA
 216584 TGCCCCAGGA CTTGACCTC TTGAAATCCA ACCACTAAGC TCCCCACCA CTTCTCAACT TAGCAGTTCC GCACCAAGCT CCGCACAAAC TCCATGGCCC GTGGTTCAGC CAAGTCAGAC TCCA
 225954 TGCCCCAGGA CTTGACCTC TTGAAATCCA ACCACTAAGC TCCCCACCA CTTCTCAACT TAGCAGTTCC GCACCAAGCT CCGCACAAAC TCCATGGCCC GTGGTTCAGC CAAGTCAGAC TCCA
 280524 TGCCCCAGGA CTTGACCTC TTGAAATCCA ACCACTAAGC TCCCCACCA CTTCTCAACT TAGCAGTTCC GCACCAAGCT CCGCACAAAC TCCATGGCCC GTGGTTCAGC CAAGTCAGAC TCCA
 237180 TGCCCCAGGA CTTGACCTC TTGAAATCCA ACCACTAAGC TCCCCACCA CTTCTCAACT TAGCAGTTCC GCACCAAGCT CCGCACAAAC TCCATGGCCC GTGGTTCAGC CAAGTCAGAC TCCA
 272013 TGCCCCAGGA CTTGACCTC TTGAAATCCA ACCACTAAGC TCCCCACCA CTTCTCAACT TAGCAGTTCC GCACCAAGCT CCGCACAAAC TCCATGGCCC GTGGTTCAGC CAAGTCAGAC TCCA
 286423 TGCCCCAGGA CTTGACCTC TTGAAATCCA ACCACTAAGC TCCCCACCA CATCTCAACT TAGCAGTTCC GCACCAAGCT CCGCACAAAC TCCATGGCCC GTGGTTCAGC CAAGTCAGAC TCCA

3. Troisième article de la thèse

Titre: Risk factors for post-transplant Epstein-Barr virus events in pediatric recipients of hematopoietic stem cell transplants

Auteurs: Pascal R. Enok Bonong, Chantal Buteau, Michel Duval, Jacques Lacroix, Louise Laporte, Marisa Tucci, Nancy Robitaille, Philip C. Spinella, Geoffrey D. E. Cuvelier, Victor Lewis, Suzanne Vercauteren, Caroline Alfieri, Helen Trottier

État actuel de l'article : Cet article a été soumis le 20 octobre 2020 au journal Pediatric transplant après une recommandation de American journal of transplant.

Contribution de l'étudiant : PREB a réalisé le contrôle de la qualité des données, élaboré la base de données de travail, effectué les analyses statistiques et interprété les résultats, rédigé la version initiale du manuscrit et fait les mises à jour du manuscrit.

Contribution des coauteurs: Tous les auteurs ont directement contribué à la conception et au design (HT, CA, CB, JL, MT, MD, NR, PCS), ou à l'acquisition de données (PREB, LL, GC, SV, VL), ou à l'analyse et l'interprétation (PREB, HT, CA, MD, CB) de l'étude. Enfin, le PREB a rédigé la première ébauche du manuscrit et tous les auteurs ont par la suite lu, révisé et approuvé la version soumise.

Risk factors for post-transplant Epstein-Barr virus events in pediatric recipients of hematopoietic stem cell transplants

Pascal R. Enok Bonong,¹ Chantal Buteau,² Michel Duval,³ Jacques Lacroix,⁴ Louise Laporte,⁵ Marisa Tucci,⁴ Nancy Robitaille,⁶ Philip C. Spinella,⁷ Geoffrey D. E. Cuvelier,⁸ Victor Lewis,⁹ Suzanne Vercauteren,¹⁰ Caroline Alfieri,¹¹ Helen Trottier^{1*}

¹Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, CHU Sainte-Justine, Montreal, Canada.

²Department of Pediatrics, Division of Infectious Diseases, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Canada.

³Department of Pediatrics, Division of Hematology-Oncology, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Canada.

⁴Department of Pediatrics, Division of Pediatric Intensive Care Medicine, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Canada.

⁵CHU Sainte-Justine Research Center, Université de Montréal, Canada.

⁶Department of Pediatrics, Division of Hematology-Oncology, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Héma-Québec, Montreal, Canada.

⁷St. Louis Children's Hospital, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri

⁸Pediatric Blood and Marrow Transplant, Department of Pediatric Hematology-Oncology-BMT, CancerCare Manitoba, Department of Pediatrics and Child Health, University of Manitoba

⁹Department of Pediatrics and Department of Oncology, Alberta Children's Hospital, University of Calgary, Canada.

¹⁰Department of Pathology and Laboratory Medicine, BC Children's Hospital, University of British Columbia, Canada

¹¹Department of Microbiology, Infectiology and Immunology, Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Canada.

*Corresponding author: Dr. Helen Trottier, CHU Sainte-Justine, Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, 3175 Côte Sainte-Catherine, Room B.17.002, Montreal H3T 1C5, QC, Canada; Phone: (514) 345-4931, ext. 7152; helen.trottier@umontreal.ca

ABSTRACT

Epstein-Barr virus (EBV) can cause severe morbidity following hematopoietic stem cell transplant (HSCT). The objective of this study was to analyze risk factors associated with post-transplant EBV outcomes in a cohort of pediatric allogeneic HSCT recipients. We used data of 156 pediatric allogeneic HSCT recipients less than 21 years of age enrolled in the Canadian multicenter prospective TREASuRE cohort study. Cox proportional hazards assumptions and Prentice-Williams-Petersen models were used to analyze risk factors of post-transplant EBV events (occurrence and recurrence of EBV DNAemia, increase in EBV viral load (EBV-VL), and need for rituximab to prevent post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD). Female were at higher risk for severe EBV infection (adjusted hazard ratio (aHR) for increasing EBV-VL=2.83 [95% confidence intervals (CI):1.33-6.03] and the need for rituximab/PTLD=3.08 [1.14-8.30]), but had the same EBV DNAemia occurrence (aHR=1.21 [0.74-1.99]) and recurrence risks (aHR=1.05 [0.70-1.58]) compared to males. EBV DNAemia was associated with pre-transplant EBV seropositivity in the recipient (aHR=2.47 [1.17-5.21]) and the donor graft (aHR=3.53 [1.95-6.38]). Anti-thymocyte globulin (ATG) was strongly associated with all EBV outcomes, including the need for rituximab/PTLD (aHR=5.33 [1.47-19.40]). Mycophenolate mofetil (MMF) significantly decreased the risk of all EBV events including the need for rituximab/PTLD (aHR=0.13 [0.03-0.63]).

Keywords: Epstein-Barr virus (EBV), Human herpes virus-4 (HHV-4), EBV viral load (EBV-VL), hematopoietic stem cell transplants (HSCT), Pediatric, Prospective cohort, risk factors, recurrent events, sex.

1. Introduction

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is used to treat many hematological disorders, including malignant and non-malignant diseases.^{1,2} Post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD), caused by Epstein-Barr Virus (EBV), is a potentially fatal complication of allogeneic HSCT.^{1,3-9} Incidence of PTLD among HSCT recipients varies from 0.5% to 22%^{10,11} with mortality close to 80% in the absence of treatment.^{9,12-14} PTLD usually occurs within the first 6-12 months post-transplant.^{6,8,15} A rapid and sustained increase in EBV viral load (EBV-VL) is used to identify patients at highest risk for progressing to PTLD.¹⁶ Current clinical practice therefore includes regular post-transplant monitoring of EBV-VL using quantitative polymerase chain reaction (qPCR) testing.^{17,18} No consensus currently exists on the level of EBV-VL at which a patient attains the highest risk threshold for developing PTLD.⁶ A preemptive reduction in the intensity of immunosuppression¹⁹ or treatment with an anti-CD20 monoclonal (rituximab)^{20,21} can be used to prevent PTLD in patients with increasing EBV-VL.¹⁹⁻²¹ The use of rituximab is the recommended option in HSCT patients⁹ with responses between 55% to 100%.⁸ However, each alternative may have clinical consequences. Reduction in the intensity of immunosuppression can increase the risk of graft-versus-host disease (GvHD).⁸ Rituximab can have detrimental consequences, including risk for other fatal infections. In addition to being cytotoxic to EBV-infected B lymphocytes, rituximab eliminates mature B cells, thereby suppressing the production of anti-microbial immunoglobulins.⁸

Several studies have examined risk factors for post-transplant EBV DNAemia^{6,14,18,20,22-43} and for PTLD^{1,10,23,26,38,44-50} but very little has focused exclusively on the pediatric population (EBV DNAemia²⁴⁻³⁰ and PTLD²⁶). Existing literature is variable, particularly with respect to the definition of post-transplant EBV outcome, risk factors explored, and sample size. In addition, risk factors for EBV recurrence have never been explored, and only a few studies^{23,26,38,42,49} have explored and compared risk factors for several EBV outcomes. Our objective was to analyze risk factors associated with the development of post-transplant EBV DNAemia, increasing EBV-VL, recurrence of EBV DNAemia, and the need for rituximab therapy to prevent PTLD in pediatric recipients of allogeneic HSCT.

2. Methods

We used data collected in the TREASuRE study, a multicenter and prospective cohort study that has previously been reported.⁵¹ Briefly, 156 allogeneic HSCT pediatric recipients less than 21 years of age were recruited from four Canadian pediatric HSCT centers (CHU Sainte-Justine (Montreal), Winnipeg Children's Hospital and CancerCare Manitoba (Winnipeg), Children's and Women's Health Center of British Columbia (Vancouver), and Alberta Children's Hospital (Calgary)). Subjects who received a first HSCT between July 2013 and March 2017 were enrolled and followed from one month prior to transplant until one-year post-transplant.

Data were collected prospectively on medical report forms (MRF) filled at baseline and on subsequent periods (0-100 days, 100 days-6 months and 6-12 months). Data collected at enrollment included demographics and pre-transplant clinical indicators such as age, gender, primary diagnosis, graft source, donor match, previous chemotherapy, conditioning regimen, GvHD prophylaxis, pre-transplant transfusion, as well as graft donor and recipient EBV serology. Data collected during follow-up included EBV qPCR results, transfusion requirements, EBV complications and mortality. Data were also collected on EBV PCR testing in tissues other than blood, along with reports of CT scans, MRIs, ultrasounds, chest X-rays, as well as biopsy and fluid analyses, when available. All MRFs were sent prospectively to the coordinating center at the CHU Sainte-Justine for verification and data entry into the central database. The study protocol was approved by the research ethics boards of all participating institutions. Patient consent was waived for the current study as all data were drawn from medical charts.

EBV PCR testing

EBV PCR tests were performed at intervals of 1-2 weeks during the patient's hospitalization and at least twice per month after hospital discharge, until 12 months post-transplant, according to the clinical guidelines. All four collaborating centers performed routine EBV-VL testing on patient blood samples using a qPCR assay (commercial or in-house) with its own established threshold value for determining clinical relevance. At CHU Sainte-Justine, and Cancer Care Manitoba, EBV quantitation was done by an in-house Taqman-based assay on whole blood with a baseline of 200 copies/mL and 500 copies/mL, respectively. The Alberta Children's Hospital used a commercial qPCR assay from Altona Diagnostics (Hamburg, Germany) for EBV amplification on whole blood,

with a lower detection limit of 289 IU/mL. At the Children's and Women's Health Center of British Columbia, EBV quantitation was done by an in-house Taqman-based assay on serum with a detection baseline of 300 copies /mL.

Outcome variables

Three primary outcome measures were considered: (1) EBV DNAemia, defined as at least one positive EBV PCR test; (2) acute EBV DNAemia defined as at least two consecutive positive EBV PCR tests with EBV-VL of the second ≥ 0.5 log greater; and (3) PTLD proxy, as diagnosed by treating physicians on the basis of clinical criteria or defined by pre-emptive treatment with rituximab. We also analyzed the recurrence of post-transplant EBV DNAemia as defined by the re-occurrence of a positive EBV PCR test after at least two consecutive negative tests.

Exposure variables

Baseline exposure variables explored as potential determinants included the following: recipient sex (female versus male), recipient age at transplant (continuous), primary diagnosis (non-malignant versus malignant), recipient pre-transplant EBV serology based on standard assays for measuring IgG antibodies to EBV viral capsid antigens (VCA), early antigens (EA), and EBV nuclear antigens (EBNA) (seropositive versus seronegative), graft EBV status based on EBV serology of the donor whereby cord blood grafts were assumed to be EBV negative (positive versus negative), graft type (matched related versus alternative donors), conditioning regimen (myeloablative including all regimens containing total body irradiation ≥ 10 Gy or busulfan total dose ≥ 12 mg/kg versus other conditioning regimens) and GvHD prophylaxis including use of anti-thymocyte globulin (ATG), alemtuzumab, tacrolimus (FK506) versus cyclosporine A (CsA), methotrexate (MTX) and/or mycophenolate mofetil (MMF).

Statistical analysis

Categorical variables were summarized using absolute and relative frequencies, while continuous variables were synthesized using mean, median and dispersion statistics (standard deviation (SD), interquartile range (IQR)). Survival analyses were conducted. Time zero was defined as the date of transplant, and the date of administrative censor was defined at the end of the 12th month post-transplant. The follow-up of the patients who had at least one event of interest was stopped at the

date of the 1st event when the analysis relates only to the first occurrence of the studied phenomenon, while it covered the whole period of observation for the analysis of the recurrence. A death occurring before the 6th month post-transplant was considered as a competitive event (non-administrative censure). Similarly, an end to follow-up because patients received a second transplant or because of study termination before the 6th month was considered as a competitive event. Patients receiving a second transplant were censored 1 week before the second transplant. In the presence of competitive events, cumulative incidence function (CIF) was used to calculate the cumulative incidence of post-transplant EBV DNAemia.

Cox proportional hazards assumption model were used to estimate hazard ratio (HR) and 95% confidence intervals (CI) for time to the first occurrence of EBV DNAemia, increased EBV-VL and PTLD/need for rituximab to prevent PTLD. For recurrent events, HR and 95% CI were estimated using Prentice-Williams-Petersen gap time (PWP-GT) with robust variance estimator to consider correlation between observations.⁵² For each outcome, multivariate models were built for each exposure variable considered as the main exposure variable with the other variables being explored as potential confounding variables. The selection of variables for the final model was done iteratively with the change in estimate (CIE) criteria using 10%. Covariates that changed the HR by at least 10% were considered as confounder and retained in the final model for appropriate adjustment. In consideration of the multi-center nature of the study, all models have been adjusted for the variable "Study site" except for PTLD outcome because of low number of cases in some centers. The proportional hazards assumption assumption for the Cox model was verified using Schoenfeld residual tests.⁵³ To assess whether the main risk factor explored was affected by a multi-collinearity problem, Variance Inflation Factor (VIF)^{54,55} was used. According to rules of thumb we considered $VIF > 5$ as an important sign of multi-collinearity. In this case, the variable was excluded from the model. All models were estimated for the entire cohort and for the sub-cohort of patients who were EBV seropositive at baseline. There were no missing data for all variables except for the recipient EBV serostatus (8.3%) and the graft EBV status (19.9%). Nonparametric missing value imputation using random forest^{56,57} was used to replace these missing data. All covariates listed above were included in the imputation. Statistical analysis was performed with Stata/SE 14.2 and R version 3.6.1.

3.Results

Characteristics of the 156 HSCT recipients are presented in Table 1. The median (IQR) age at transplant was 6 years (2.5-10.5) and 53.2% were males. Most children (70.6%) were EBV seropositive at transplant. The proportion of EBV seropositive patients according to age is presented in Figure 1. The median (IQR) follow-up time was 184.0 days (103.5-303.0). The cumulative incidence of each outcome for the entire cohort as well as for EBV seropositive patients are shown in Figure 2. Among the 66 patients who had at least one episode of post-transplant EBV DNAemia, 22 had a second episode and seven had three or more episodes. Given the low frequency of patients with three episodes, the analysis of recurrence was limited to two.

Table 2 presents the adjusted estimates of risk factors for EBV events. Risk factors for post-transplant EBV DNAemia in the entire cohort included: recipient EBV seropositivity at transplant (HR=2.47 [95% CI: 1.17-5.21]), receiving an EBV positive graft (HR=3.53 [1.95-6.38]) and use of ATG (HR=5.36 [2.69-10.69]). In contrast, a lower risk of EBV DNAemia was observed in patients who received MMF (HR=0.33 [0.18-0.60]). Risk factors associated with an increasing EBV-VL (≥ 0.5 log) included: female recipient (HR=2.83 [1.33-6.03]), EBV seropositivity at transplant (HR=3.16 [1.04-9.57]) and use of ATG (HR=7.97 [2.47-25.73]). A lower risk of this event was also observed in patients who received MMF (HR=0.15 [0.05-0.45]). The occurrence of PTLD diagnosis or pre-emptive treatment with rituximab was greater in female recipients (HR=3.08 [1.14-8.30]) and in patients receiving ATG (HR=5.33 [1.47-19.40]) while it was lower among those who received MMF (HR=0.13 [0.03-0.63]). Similar results for all outcomes were found in the subset of EBV seropositive patients.

Table 3 provides the adjusted HR for EBV DNAemia recurrence. Results obtained were similar to the results for EBV DNAemia. Figure 3 presents a summary of the statistically significant risk factors that were found for each outcome studied. Unadjusted estimates are presented in supplementary material (Table S1). All variables that have been considered in multivariate models for appropriate adjustment are provided in the supplementary material (Table S2).

4.Discussion

Our objective was to identify risk factors associated with the occurrence and recurrence of post-transplant EBV DNAemia, including severe outcomes such as increasing EBV-VL and the use of

rituximab to prevent PTLD. Interestingly, female recipients were more at risk of developing more severe EBV infections, but not more likely to have EBV DNAemia occurrence or recurrence compared to males. The use of MMF strongly and consistently decreased the risk of all EBV events. As expected, the use of ATG was strongly associated with an increased risk for the development of all EBV outcomes. Pre-transplant EBV seropositivity was associated with EBV DNAemia and EBV severity (significant increased viral load but non-statistically significant increased risk of the need for rituximab to prevent PTLD). EBV graft status was also clearly associated with EBV DNAemia but not with the severity of EBV outcome.

That females had a higher risk of EBV outcome severity but an equivalent risk of EBV DNAemia compared to males has been examined in other studies, including in pediatric patients,^{27,29,58,59} adults^{6,44,60-62} and both.^{1,10,32-34,36,38,40,42,46,49,50,63-69} Among studies focusing exclusively on pediatrics, Elmahdi et al.²⁷ (n=37) reported that males have a non-statistically significant lower risk of peripheral viral load $>1 \times 10^{2.5}$ copies/ μ g DNA of peripheral blood mononuclear cells or a viral load >20000 copies/mL in whole blood (unadjusted HR=0.70 [95% CI: 0.27-1.84]). Moreover, Kullberg-Lindh et al.²⁹ (n=47) reported that on average, maximum EBV-VL was lower in males, although the result was not statistically significant (adjusted beta coefficient=-0.08, p=0.86). Two other studies focusing exclusively on pediatrics^{58,59} report no difference according to sex for EBV DNAemia. Further, no significant association between sex and EBV DNAemia was reported in studies composed of both pediatric and adult recipients^{32-34,36,37,40,42,49,68-70} or only of adults^{6,60-62} except for Jaskula et al.³⁶ who highlighted a non-significant higher risk of EBV DNAemia in females (OR=2.48; p=0.070). For PTLD, no statistically significant association was found for recipient sex in samples composed of both pediatric and adult patients^{1,10,38,46,49,50} or of adults only.⁴⁴ It remains difficult to specify the direction of the association between sex and post-transplant EBV events in these studies because crude or adjusted risk estimates have only been reported in very few studies.^{27,33,36,37,46,50} Overall, it is difficult to conclude whether the link found between sex and the severity of EBV in our study is the result of a true association or bias. Confounding factors such as age at EBV primo-infection (early age at primary infection has been associated with higher and more sustained EBV viremia^{71,72}) or CMV (cytomegalovirus) viremia (which has been associated with EBV viremia or PTLD)^{20,50} that were not adjusted may have affected our results. Additional studies are needed, especially in pediatric HSCT to confirm and to understand the nature of this possible association.

Our study also suggested that MMF for GvHD prophylaxis was strongly and consistently associated with a lower risk of EBV occurrence, recurrence, and severity. MMF has the ability to suppress the proliferation of B cells, including EBV-infected B cells.⁷³⁻⁷⁵ Previous studies composed exclusively or mostly of pediatric patients^{24-30,34,41,67} have not explored the impact of MMF on post-transplant EBV events in HSCT. Some have explored the association of MMF in combination with other immunosuppressants and EBV DNAemia^{49,62} or PTLD.⁴⁹ Sanz et al.⁴⁹ (n=288 pediatric and adult recipients), did not show a statistically significant difference for EBV DNAemia or PTLD when comparing patients who received CsA+MMF versus those who received CsA+prednisone. Peric et al.⁶² (n=175 adults) did not show a difference in EBV DNAemia between the exposure to CsA alone compared to CsA+MMF or to CsA+MTX (p=0.85 in univariate analysis). The association between MMF and EBV and other herpesviruses such as CMV has also been explored in the context of solid organ transplants.⁷⁶⁻⁷⁸ A lower risk of EBV DNAemia related to the use of MMF has been highlighted in renal transplant patients.^{77,78} However, the potential effect of MMF appears to be weighed against the risk of CMV infection, as a higher risk of CMV reactivation has been observed in patients who received MMF.⁷⁶ MMF may reduce the risk of EBV DNAemia through direct inhibition of B-cell proliferation, hence depleting EBV's target cell, and by suppressing the expansion of B cells already infected by EBV. However, the potential deleterious effect of MMF use on other viral infections, such as CMV, needs to be considered carefully.

As expected, the use of ATG was identified as an important risk factor for all post-transplant EBV events in our study. Indeed, ATG was associated with EBV DNAemia^{14,25,29,35,62,63,68} and PTLD^{10,44,48,79} in previous studies (including two on EBV DNAemia among pediatric patients^{25,29}). ATG is used for the prevention or treatment of acute and chronic GvHD through its ability to target and deplete alloreactive T lymphocytes.^{74,80-82} Depletion of T cells also removes EBV-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs), which can compromise T-cell immunity, a fundamental element of antiviral immunity.¹¹ In addition, the recovery of CD4 T cells is slower in patients who received ATG in their conditioning regimen, while B-cell recovery is usually more rapid.⁸³

Recipient EBV serostatus was associated with EBV DNAemia and increasing EBV-VL in our study. It was also associated with the need to use rituximab to prevent PTLD, but the association was not statistically significant. It is recognized that the virus present in the cells can reactivate. However, studies examining post-transplant EBV DNAemia as well as PTLD⁴⁹ in pediatric

patients,^{24,58,59} or adults and/or combined adult and pediatric cohorts,^{34,40} have shown no statistically significant association. This is probably mainly due to the fact that the samples studied in these studies were small. Normally, few patients are EBV-seronegative at transplant (even less in adults), making analysis of this risk factor very difficult due to a lack of statistical power.

EBV graft donor serostatus was associated with EBV DNAemia (occurrence and recurrence) in our study. It is recognized that the presence of EBV in the graft can be transmitted to the recipients.^{84,85} For example, Larberko et al.³⁷ (n=182 pediatric patients) compared different combinations of donor (D)/recipient (R) serostatus and showed a higher risk of EBV DNAemia in EBV seronegative recipients (R-) who received a graft from an EBV seropositive donor (D+) compared to EBV seropositive recipients (R+) who received a graft from an EBV seropositive donor (D+) (HR=2.85 [95%CI: 1.12-7.28]). Also, a non-statistically significant association was shown by Cesaro et al.²⁵ who compared D-/R- versus other recipients for EBV DNAemia in pediatric patients (p=0.08 in univariate analysis). In other studies, no association was found between EBV graft status and EBV DNAemia.^{62,32,36,68} Conflicting results are also documented regarding PTLD. The study by Kalra et al.⁴⁷ carried out among 554 patients (age range: 16-67 years) showed a statistically significant difference in PTLD risk according to R/D EBV serostatus (subhazard ratio (SHR)=2.96, p=0.03), although the variable was not included in the multivariate model due to the low numbers of patients in some groups. A higher risk of PTLD in the D+/R- group compared to other patients was also shown by Uhlin et al (SHR=4.97 [95%CI: 2.30-10.7])¹ but was not corroborated by others.^{10,50}

Our analysis considered both the entire cohort of HSCT recipients and EBV seropositive recipients only, in order to verify whether risk factors for post-transplant EBV outcome were similar for recipients at higher risk of EBV reactivation. Our study showed no association between the type of graft (alternative versus matched related donor) and EBV outcome. Several studies have examined the association between EBV DNAemia or EBV-VL and the type of graft, considering as variable either HLA compatibility,^{26-28,33-36,40,41,49,68} related/unrelated donor^{6,14,25,26,33,42,68,86} or the combination of these characteristics^{18,20,22,32,36,37,39,62,63} with very few significant associations found (only two studies reporting significant associations in adult/pediatric population^{39,40} and one in pediatric patients⁸⁶). Some studies have considered the association between PTLD and HLA compatibility,^{1,10,26,38,47,49,50} (one found a significant associations¹) or between PTLD and related/unrelated donor^{10,26,38,87} (none showing a significant association), or by

combining HLA mismatched/matched and unrelated/related donor^{46-48,63,79} (with two statistically significant associations^{48,79}). Only one study was done among pediatric patients²⁶ and it did not reach statistical significance for the association between PTLD and HLA match (OR=1.49 [95%CI: 0.39-5.59]). Therefore, the link between type of graft and EBV outcome is far from established in the literature. It is quite possible that associations are related to uncontrolled confounders such as the conditioning regimen and the level of immunosuppression. For instance, several studies have highlighted a statistically significant association between the type of transplant and EBV DNAemia^{6,14,20,25,28,41,42,68} or PTLD^{10,38} in univariate analysis but not in multivariate analysis.^{6,10,14,38,68} Future studies on these questions should carefully adjust for potential confounders.

We did not show a significant reduction in the risk of post-transplant EBV outcomes with the use of myeloablative conditioning regimens. The study by Sanz et al.⁴⁹ indicated a lower risk of post-transplant EBV DNAemia and PTLD associated with the use of myeloablative conditioning regimen although this was not corroborated by another study.⁷⁹ For EBV DNAemia, most studies have not found a significant relationship either among pediatric patients,²⁸ adults^{6,22,23} or both.^{33,65} Age was also not a risk factor for EBV in our study. Several previous studies have examined these associations using the outcome EBV DNAemia^{6,18,27,29,32,33,36,37,40,42,49,62,64,68} or PTLD.^{1,10,38,46-50,64} with only one showing higher risk with older age for EBV DNAemia³² and one for PTLD.⁴⁸ Among these studies, only two involved pediatric recipients.^{27,29} Furthermore, our study did not show a higher risk of EBV outcomes for patients who received tacrolimus compared to those who received CsA, which was similar to the study by Hoshino et al.⁸⁸ MTX was associated with no EBV outcome in our study as well as in other studies examining EBV DNAemia^{22,62,69} or PTLD.¹ This is similar for alemtuzumab in our study and in another study⁸⁹ on EBV DNAemia undertaken among pediatric patients. Finally, no association was found between primary diagnosis and EBV outcome in our study, as the majority of studies have already shown (EBV DNAemia^{37,58} or PTLD¹).

Finally, different sensitivity analyses were done in our study. Cox,^{14,23,25,27,30,33,41-43,45,50,68} Fine & Gray,^{1,18,34,47,49,62,67} and Logistic^{6,20,22,24,26,28,31,32,35,36,40,44} models are the main models used to analyze the risk factors for post-transplant EBV events. We have analyzed our data with these three models and presented those using Cox, but the risk factors identified were similar (data not shown). For the recurrence outcome, we also used the Prentice-Williams-Petersen counting process (PWP-CP) model, which uses a different time scale and provides similar results as the PWP-GT

model (data not shown). We also analysed the impact of imputation for the variables that contained missing data (EBV serology and EBV graft positivity). Results obtained with the non-parametric imputation method,^{56,57} those without imputation on the complete case set and those obtained by replacing the missing data with a constant category “Unknown” were similar (data not shown).

Our study is the first pediatric allogeneic HSCT study to identify risk factors for EBV DNAemia recurrence and to compare these risk factors according to different EBV outcomes. We also used a prospective multicenter design with good completion of the data set and sample size. However, as an observational study, it is possible that residual confounding factors remain, despite applying a rigorous methodology for adjustments. Moreover, EBV qPCR assays varied between sites, as each hospital has its own PCR protocol and EBV-VL threshold that would trigger rituximab administration. This situation could have led to a non-differential information bias. Finally, our definition of PTLD based on clinical diagnosis and use of rituximab has a lower specificity than a definition based on medical imaging and tissue biopsy. Since most patients with allogeneic HSCT receive pre-emptive treatment with rituximab when EBV-VL increases significantly, it has not been possible to study only the handful of confirmed cases of PTLD. Of the 19 patients included in the analysis with a strong suspicion of progression to PTLD and who received rituximab administration, five eventually had a confirmation of PTLD diagnosis based on medical imaging. Our definition included cases that would not have necessarily led to PTLD. Therefore, PTLD risk factors in our study should be interpreted accordingly.

In conclusion, sex has a possible role to explain EBV severity in pediatric HSCT recipients; girls being at higher risk of EBV severity although they were not more likely to have EBV DNAemia compared to boys. This should be studied further with appropriate controls for confounding bias to confirm these results and to understand the biological basis behind these observations. MMF used for GvHD prophylaxis decreases the risk of EBV outcomes. This finding needs to be further considered when weighting this beneficial impact with the risk of CMV infection. ATG was also confirmed as an important risk factor for all EBV outcomes. More prospective studies on pediatric allogeneic HSCT recipients are needed using harmonized definitions of EBV outcomes to help consolidate the scientific evidence and better understand post-transplant EBV events.

FUNDING

TREASuRE study was supported by a grant from Canadian Blood Services (CBS). HT holds a salary award (Research Scholar) from the Fonds de la recherche du Québec en santé (FRQ-S) and a new Investigator Salary Award from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR). PREB received a doctoral end-of-studies grant from the Faculty of Graduate Studies, Université de Montréal.

AUTHOR CONTRIBUTION

All authors have directly contributed to the conception and design (HT, CA, CB, JL, MT, MD, NR, PCS), or acquisition of data (PREB, LL, GC, SV, VL), or analysis and interpretation (PREB, HT, CA, MD, CB) of the study. Finally, PREB wrote the first draft of the manuscript and all authors have subsequently read, revised, and approved the submitted version.

COMPETING INTERESTS

All authors have no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are grateful to Nicole Poitras, Lucy Clayton, Ferima Sanogo, Caroline Proulx-Clerc, Isabelle Grisoni, Ilona Shemyakina and Sylvie Lacasse for coordinating the TREASuRE study; to Mary-Ellen French, Djouher Nait Ladjemil, Mariana Dumitrascu, Emilie Roy-Robertson, Gaëlle Cyr, Maria Trinidad Madrid Guillen, Kim Shore, Michelle Dittrick and Debra Rich for their help in data collection. All authors are also grateful to the transplant team: Marie-France Vachon, Marie St-Jacques, Samira Mezziani, Marion Cortier and all nurses for their help in data collection. The authors are grateful to Héma-Québec and Canadian Blood Services for their help in collecting data on transfusion.

References:

1. Uhlin M, Wikell H, Sundin M, et al. Risk factors for Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. Feb 2014;99(2):346-352.
2. Gratwohl A, Baldomero H, Gratwohl M, et al. Quantitative and qualitative differences in use and trends of hematopoietic stem cell transplantation: a Global Observational Study. *Haematologica*. Aug 2013;98(8):1282-1290.
3. Aalto SM, Juvonen E, Tarkkanen J, et al. Epstein-Barr viral load and disease prediction in a large cohort of allogeneic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. Nov 15 2007;45(10):1305-1309.
4. Faraci M, Caviglia I, Morreale G, et al. Viral-load and B-lymphocyte monitoring of EBV reactivation after allogeneic hemopoietic SCT in children. *Bone Marrow Transplant*. Jun 2010;45(6):1052-1055.
5. Herreman A, Dierickx D, Morscio J, et al. Clinicopathological characteristics of posttransplant lymphoproliferative disorders of T-cell origin: single-center series of nine cases and meta-analysis of 147 reported cases. *Leuk Lymphoma*. Oct 2013;54(10):2190-2199.
6. Patriarca F, Medeot M, Isola M, et al. Prognostic factors and outcome of Epstein-Barr virus DNAemia in high-risk recipients of allogeneic stem cell transplantation treated with preemptive rituximab. *Transpl Infect Dis*. Jun 2013;15(3):259-267.
7. Rasche L, Kapp M, Einsele H, Mielke S. EBV-induced post transplant lymphoproliferative disorders: a persisting challenge in allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. Feb 2014;49(2):163-167.
8. Reddy N, Rezvani K, Barrett AJ, Savani BN. Strategies to prevent EBV reactivation and posttransplant lymphoproliferative disorders (PTLD) after allogeneic stem cell transplantation in high-risk patients. *Biol Blood Marrow Transplant*. May 2011;17(5):591-597.
9. Styczynski J, Einsele H, Gil L, Ljungman P. Outcome of treatment of Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in hematopoietic stem cell recipients: a comprehensive review of reported cases. *Transpl Infect Dis*. Oct 2009;11(5):383-392.
10. Xuan L, Jiang X, Sun J, et al. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation*. Sep 2013;96(6):560-566.
11. Al Hamed R, Bazarbachi AH, Mohty M. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease (EBV-PTLD) in the setting of allogeneic stem cell transplantation: a comprehensive review from pathogenesis to forthcoming treatment modalities. *Bone marrow transplantation*. 2019:1-15.
12. Khan G, Hashim MJ. Global burden of deaths from Epstein-Barr virus attributable malignancies 1990-2010. *Infect Agent Cancer*. 2014;9(1):38.
13. Ocheni S, Kroeger N, Zabelina T, et al. EBV reactivation and post transplant lymphoproliferative disorders following allogeneic SCT. *Bone Marrow Transplant*. Aug 2008;42(3):181-186.
14. Juvonen E, Aalto S, Tarkkanen J, Volin L, Hedman K, Ruutu T. Retrospective evaluation of serum Epstein Barr virus DNA levels in 406 allogeneic stem cell transplant patients. *Haematologica*. Jun 2007;92(6):819-825.

15. Kinch A, Oberg G, Arvidson J, Falk KI, Linde A, Pauksens K. Post-transplant lymphoproliferative disease and other Epstein-Barr virus diseases in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation after introduction of monitoring of viral load by polymerase chain reaction. *Scand J Infect Dis*. 2007;39(3):235-244.
16. Scheenstra R, Verschuuren E, De Haan A, et al. The value of prospective monitoring of Epstein-Barr virus DNA in blood samples of pediatric liver transplant recipients. *Transplant infectious disease*. 2004;6(1):15-22.
17. Blaes AH, Cao Q, Wagner JE, Young JA, Weisdorf DJ, Brunstein CG. Monitoring and preemptive rituximab therapy for Epstein-Barr virus reactivation after antithymocyte globulin containing nonmyeloablative conditioning for umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. Feb 2010;16(2):287-291.
18. Carpenter B, Haque T, Dimopoulou M, et al. Incidence and dynamics of Epstein-Barr virus reactivation after alemtuzumab-based conditioning for allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation*. Sep 15 2010;90(5):564-570.
19. Green M, Michaels M. Epstein-Barr virus infection and posttransplant lymphoproliferative disorder. *American Journal of Transplantation*. 2013;13(s3):41-54.
20. Zallio F, Primon V, Tamiazzo S, et al. Epstein-Barr virus reactivation in allogeneic stem cell transplantation is highly related to cytomegalovirus reactivation. *Clin Transplant*. Jul-Aug 2013;27(4):E491-497.
21. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *haematologica*. 2016;101(7):803-811.
22. Christopheit M, Janssen N, Weber T, et al. Cyclosporine area under the curve after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an indicator of Epstein-Barr virus DNAemia. *Leukemia & Lymphoma*. 2013;54(1):133-137.
23. Garcia-Cadenas I, Castillo N, Martino R, et al. Impact of Epstein Barr virus-related complications after high-risk allo-SCT in the era of pre-emptive rituximab. *Bone Marrow Transplant*. Apr 2015;50(4):579-584.
24. Bordon V, Padalko E, Benoit Y, Dhooge C, Laureys G. Incidence, kinetics, and risk factors of Epstein-Barr virus viremia in pediatric patients after allogeneic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant*. Mar 2012;16(2):144-150.
25. Cesaro S, Murrone A, Mengoli C, et al. The real-time polymerase chain reaction-guided modulation of immunosuppression enables the pre-emptive management of Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2004;128(2):224-233.
26. Cohen J, Gandhi M, Naik P, et al. Increased incidence of EBV-related disease following paediatric stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Br J Haematol*. 2005;129(2):229-239.
27. Elmahdi S, Muramatsu H, Narita A, et al. Correlation of rabbit antithymocyte globulin serum levels and clinical outcomes in children who received hematopoietic stem cell transplantation from an alternative donor. *Pediatr Transplant*. Feb 2016;20(1):105-113.
28. Hiwarkar P, Gaspar HB, Gilmour K, et al. Impact of viral reactivations in the era of pre-emptive antiviral drug therapy following allogeneic haematopoietic SCT in paediatric recipients. *Bone Marrow Transplant*. Jun 2013;48(6):803-808.

29. Kullberg-Lindh C, Mellgren K, Friman V, et al. Opportunistic virus DNA levels after pediatric stem cell transplantation: serostatus matching, anti-thymocyte globulin, and total body irradiation are additive risk factors. *Transplant Infectious Disease*. 13(2):122-130.
30. Trottier H, Buteau C, Robitaille N, et al. Transfusion-related Epstein-Barr virus infection among stem cell transplant recipients: A retrospective cohort study in children. *Transfusion*. December 2012;52(12):2653-2663.
31. Bogunia-Kubik K, Mlynarczewska A, Jaskula E, Lange A. The presence of IFNG 3/3 genotype in the recipient associates with increased risk for Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2005;132(3):326-332.
32. Bogunia-Kubik K, Jaskula E, Lange A. The presence of functional CCR5 and EBV reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. Jul 2007;40(2):145-150.
33. Burns DM, Rana S, Martin E, et al. Greatly reduced risk of EBV reactivation in rituximab-experienced recipients of alemtuzumab-conditioned allogeneic HSCT. *Bone Marrow Transplant*. Jun 2016;51(6):825-832.
34. Dumas PY, Ruggeri A, Robin M, et al. Incidence and risk factors of EBV reactivation after unrelated cord blood transplantation: a Eurocord and Societe Francaise de Greffe de Moelle-Therapie Cellulaire collaborative study. *Bone Marrow Transplant*. Feb 2013;48(2):253-256.
35. Fan J, Jing M, Yang M, et al. Herpesvirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients seropositive for human cytomegalovirus before transplantation. *International Journal of Infectious Diseases*. 01 May 2016;46:89-93.
36. Jaskula E, Dlubek D, Sedzimirska M, Duda D, Tarnowska A, Lange A. Reactivations of cytomegalovirus, human herpes virus 6, and Epstein-Barr virus differ with respect to risk factors and clinical outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation Proceedings*. 2010;42(8):3273-3276.
37. Laberko A, Bogoyavlenskaya A, Shelikhova L, et al. Risk Factors for and the Clinical Impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Pediatric Recipients of TCR-alpha/beta- and CD19-Depleted Grafts. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 01 Mar 2017;23(3):483-490.
38. Liu QF, Ling YW, Fan ZP, et al. Epstein-Barr virus (EBV) load in cerebrospinal fluid and peripheral blood of patients with EBV-associated central nervous system diseases after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Infectious Disease*. 2013;15(4):379-392.
39. Omar H, Hagglund H, Gustafsson-Jernberg A, et al. Targeted monitoring of patients at high risk of post-transplant lymphoproliferative disease by quantitative Epstein-Barr virus polymerase chain reaction. *Transplant Infectious Disease*. 2009;11(5):393-399.
40. Sirvent-Von Bueltzingsloewen A, Morand P, Buisson M, et al. A prospective study of Epstein-Barr virus load in 85 hematopoietic stem cell transplants. *Bone Marrow Transplantation*. 2002;29(1):21-28.
41. Torre-Cisneros J, Roman J, Torres A, et al. Control of Epstein-Barr virus load and lymphoproliferative disease by maintenance of CD8+ T lymphocytes in the T lymphocyte-depleted graft after bone marrow transplantation. *Journal of Infectious Diseases*. 2004;190(9):1596-1599.
42. Van Esser JWJ, Van Der Holt B, Meijer E, et al. Epstein-Barr virus (EBV) reactivation is a frequent event after allogeneic stem cell transplantation (SCT) and quantitatively predicts

- EBV-lymphoproliferative disease following T-cell-depleted SCT. *Blood*. 15 Aug 2001;98(4):972-978.
43. Xuan L, Huang F, Fan Z, et al. Effects of intensified conditioning on Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies. *Journal of Hematology and Oncology*. 2012;5 (no pagination)(46).
 44. Van Der Velden WJFM, Mori T, Stevens WBC, et al. Reduced PTLD-related mortality in patients experiencing EBV infection following allo-SCT after the introduction of a protocol incorporating pre-emptive rituximab. *Bone Marrow Transplantation*. November 2013;48(11):1465-1471.
 45. Brunstein CG, Weisdorf DJ, DeFor T, et al. Marked increased risk of Epstein-Barr virus-related complications with the addition of antithymocyte globulin to a nonmyeloablative conditioning prior to unrelated umbilical cord blood transplantation. *Blood*.108(8):2874-2880.
 46. Buyck HCE, Ball S, Junagade P, Marsh J, Chakrabarti S. Prior immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin increases the risk of EBV-related lymphoproliferative disorder following allo-SCT for acquired aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplantation*. 2009;43(10):813-816.
 47. Kalra A, Roessner C, Jupp J, et al. Risk factors for post-transplant lymphoproliferative disorder after Thymoglobulin-conditioned hematopoietic cell transplantation. *Clinical Transplantation*. January 2018;32 (1) (no pagination)(e13150).
 48. Landgren O, Gilbert ES, Rizzo JD, et al. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2009;113(20):4992-5001.
 49. Sanz J, Arango M, Senent L, et al. EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disorder after umbilical cord blood transplantation in adults with hematological diseases. *Bone Marrow Transplant*. Mar 2014;49(3):397-402.
 50. Xu LP, Zhang CL, Mo XD, et al. Epstein-Barr Virus-Related Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder after Unmanipulated Human Leukocyte Antigen Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Incidence, Risk Factors, Treatment, and Clinical Outcomes. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. December 2015;21(12):2185-2191.
 51. Enok Bonong PR, Buteau C, Delage G, et al. Transfusion-related Epstein-Barr virus (EBV) infection: a multicenter prospective cohort study among pediatric recipients of hematopoietic stem cell transplants (TREASuRE study).Manuscript submitted for publication.2020.
 52. Kelly PJ, Lim LL. Survival analysis for recurrent event data: an application to childhood infectious diseases. *Stat Med*. Jan 15 2000;19(1):13-33.
 53. Kleinbaum DG, Klein M. *Survival analysis*. Vol 3: Springer; 2010.
 54. Menard SW. *Applied logistic regression analysis*. Thousand Oaks: Sage Publications; 1995.
 55. Vatcheva KP, Lee M, McCormick JB, Rahbar MH. Multicollinearity in Regression Analyses Conducted in Epidemiologic Studies. *Epidemiology (Sunnyvale)*. Apr 2016;6(2).
 56. Stekhoven DJ. Using the missForest package. *R package*. 2011:1-11.
 57. Stekhoven DJ, Bühlmann P. MissForest—non-parametric missing value imputation for mixed-type data. *Bioinformatics*. 2011;28(1):112-118.
 58. Cesaro S, Pegoraro A, Tridello G, et al. A prospective study on modulation of immunosuppression for Epstein-Barr virus reactivation in pediatric patients who underwent

- unrelated hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation*. 2010;89(12):1533-1540.
59. Chiereghin A, Prete A, Belotti T, et al. Prospective Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder prevention program in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant: Virological monitoring and first-line treatment. *Transplant Infectious Disease*. 01 Feb 2016;18(1):44-54.
 60. Auger S, Orsini M, Ceballos P, et al. Controlled Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic transplantation is associated with improved survival. *Eur J Haematol*. 2014;92(5):421-428.
 61. Peric Z, Cahu X, Chevallier P, et al. Features of EBV reactivation after reduced intensity conditioning unrelated umbilical cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant*. Feb 2012;47(2):251-257.
 62. Peric Z, Cahu X, Chevallier P, et al. Features of Epstein-Barr Virus (EBV) reactivation after reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia*. Jun 2011;25(6):932-938.
 63. Gao X-N, Lin J, Wang L-J, et al. Risk factors and clinical outcomes of Epstein-Barr virus DNAemia and post-transplant lymphoproliferative disorders after haploidentical and matched-sibling PBSCT in patients with hematologic malignancies. *Ann Hematol*. 2019;98(9):2163-2177.
 64. Lin R, Wang Y, Huang F, et al. Two dose levels of rabbit antithymocyte globulin as graft-versus-host disease prophylaxis in haploidentical stem cell transplantation: a multicenter randomized study. *BMC medicine*. 2019;17(1):156.
 65. Wang H, Zhang T-T, Qi J-Q, et al. Incidence, risk factors, and clinical significance of Epstein-Barr virus reactivation in myelodysplastic syndrome after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol*. 2019;98(4):987-996.
 66. Comoli P, Basso S, Zecca M, et al. Preemptive therapy of EBV-related lymphoproliferative disease after pediatric haploidentical stem cell transplantation. *American Journal of Transplantation*. June 2007;7(6):1648-1655.
 67. Laberko A, Bogoyavlenskaya A, Shelikhova L, et al. Risk Factors for and the Clinical Impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Pediatric Recipients of TCR-alpha/beta- and CD19-Depleted Grafts. *Biol Blood Marrow Transplant*. Mar 2017;23(3):483-490.
 68. Liu Q, Xuan L, Liu H, et al. Molecular monitoring and stepwise preemptive therapy for Epstein-Barr virus viremia after allogeneic stem cell transplantation. *Am J Hematol*. 2013;88(7):550-555.
 69. Islam MS, Anoop P, Gordon-Smith EC, Rice P, Datta-Nemdharry P, Marsh JC. Epstein-Barr virus infections after allogeneic stem cell transplantation: a comparison between non-malignant and malignant hematological disorders. *Hematol*. Oct 2010;15(5):344-350.
 70. Comoli P, Basso S, Zecca M, et al. Preemptive therapy of EBV-related lymphoproliferative disease after pediatric haploidentical stem cell transplantation. *Am J Transplant*. Jun 2007;7(6):1648-1655.
 71. Piriou E, Asito AS, Sumba PO, et al. Early age at time of primary Epstein-Barr Virus infection results in poorly controlled viral infection in infants from Western Kenya: clues to the Etiology of Endemic Burkitt Lymphoma. *Journal of Infectious Diseases*. 2012;205(6):906-913.

72. Slyker JA, Casper C, Tapia K, et al. Clinical and virologic manifestations of primary Epstein-Barr virus (EBV) infection in Kenyan infants born to HIV-infected women. *The Journal of infectious diseases*. 2013;207(12):1798-1806.
73. Renoult E, Buteau C, Lamarre V, Turgeon N, Tapiero B. Infectious risk in pediatric organ transplant recipients: Is it increased with the new immunosuppressive agents? *Pediatric transplantation*. 2005;9(4):470-479.
74. Ram R, Storb R. Pharmacologic prophylaxis regimens for acute graft-versus-host disease: past, present and future: Taylor & Francis; 2013.
75. Alfieri C, Allison A, Kieff E. Effect of mycophenolic acid on Epstein-Barr virus infection of human B lymphocytes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1994;38(1):126-129.
76. Yun JSW, Yap T, Martyres R, Kern JS, Varigos G, Scardamaglia L. The association of mycophenolate mofetil and human herpes virus infection. *Journal of Dermatological Treatment*. 2020;31(1):46-55.
77. Birkeland S, Andersen H, Hamilton-Dutoit SJ. Preventing acute rejection, Epstein-Barr virus infection, and posttransplant lymphoproliferative disorders after kidney transplantation: use of aciclovir and mycophenolate mofetil in a steroid-free immunosuppressive protocol. *Transplantation*. 1999;67(9):1209-1214.
78. Holmes MV, Caplin B, Atkinson C, et al. Prospective monitoring of Epstein-Barr virus DNA in adult renal transplant recipients during the early posttransplant period: role of mycophenolate mofetil. *Transplantation*. 2009;87(6):852-856.
79. Fujimoto A, Hiramoto N, Yamasaki S, et al. Risk factors and predictive scoring system for post-transplant lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2019;25(7):1441-1449.
80. Shimabukuro-Vornhagen A, Hallek MJ, Storb RF, von Bergwelt-Baildon MS. The role of B cells in the pathogenesis of graft-versus-host disease. *Blood*. 2009;114(24):4919-4927.
81. Mohty M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia*. 2007;21(7):1387-1394.
82. Hoegh-Petersen M, Amin M, Liu Y, et al. Anti-thymocyte globulins capable of binding to T and B cells reduce graft-vs-host disease without increasing relapse. *Bone marrow transplantation*. 2013;48(1):105-114.
83. Bosch M, Dhadda M, Hoegh-Petersen M, et al. Immune reconstitution after anti-thymocyte globulin-conditioned hematopoietic cell transplantation. *Cytotherapy*. 2012;14(10):1258-1275.
84. Haut P, Kovarik P, Shaw P, Walterhouse D, Jenson H, Kletzel M. Detection of EBV DNA in the cord blood donor for a patient developing Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorder following mismatched unrelated umbilical cord blood transplantation. *Bone marrow transplantation*. 2001;27(7):761-765.
85. Styczynski J, Einsele H, Gil L, Ljungman P. Outcome of treatment of Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in hematopoietic stem cell recipients: a comprehensive review of reported cases. *Transplant Infectious Disease*. 2009;11(5):383-392.
86. Tsoumakas K, Giamaïou K, Goussetis E, et al. Epidemiology of viral infections among children undergoing hematopoietic stem cell transplant: A prospective single-center study. *Transplant Infectious Disease*. 2019;21(4):e13095.
87. Pagliuca S, Bommier C, Michonneau D, et al. Epstein-Barr Virus-Associated Post-Transplantation Lymphoproliferative Disease in Patients Who Received Anti-CD20 after

- Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2019;25(12):2490-2500.
88. Hoshino Y, Kimura H, Tanaka N, et al. Prospective monitoring of the Epstein-Barr virus DNA by a real-time quantitative polymerase chain reaction after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2001;115(1):105-111.
89. Rustia E, Violago L, Jin Z, et al. Risk Factors and Utility of a Risk-Based Algorithm for Monitoring Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus Infections in Pediatric Recipients after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 01 Sep 2016;22(9):1646-1653.

Tables

Table 1: Characteristics of HSCT recipients according to outcome definitions

VARIABLES		Outcome							
		All	At least one positive EBV PCR test (EBV DNAemia)		Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV-VL ≥ 0.5 log (acute EBV DNAemia)		PTLD diagnosis or pre-emptive treatment (rituximab)		
			Yes	No	Yes	No	Yes	No	
		n=156	n=66	n=90	n=31	n=125	n=19	n=137	
Sex, n (%)	Male	83 (53.2)	33 (50)	50 (55.6)	11 (35.5)	72 (57.6)	6 (31.6)	77 (56.2)	
	Female	73 (46.8)	33 (50)	40 (44.4)	20 (64.5)	53 (42.4)	13 (68.4)	60 (43.8)	
Age (in year) *	mean (SD)	7.3 (5.3)	7.7 (5.4)	6.9 (5.3)	7.7 (4.5)	7.2 (5.5)	8.3 (5.5)	7.1 (5.3)	
	median (IQR)	6.0 (2.5, 10.5)	7.0 (3.0, 11.0)	6.0 (2.0, 10.0)	8.0 (4.0, 10.0)	6.0 (2.0, 11.0)	9.0 (2.0, 11.0)	6.0 (3.0, 10.0)	
Primary diagnosis, n (%)	Malignant	69 (44.2)	26 (39.4)	43 (47.8)	10 (32.3)	59 (47.2)	8 (42.1)	61 (44.5)	
	Non-malignant	87 (55.8)	40 (60.6)	47 (52.2)	21 (67.7)	66 (52.8)	11 (57.9)	76 (55.5)	
Recipient pre-transplant EBV serology, n (%)	Negative	42 (29.4)	9 (15)	33 (40)	3 (10.7)	39 (33.9)	2 (11.1)	40 (32.0)	
	Positive	101 (70.6)	52 (85)	49 (60)	25 (89.3)	76 (66.1)	16 (88.9)	85 (68.0)	
	Unknown	13	5	8	3	10	1 (5.3)	12	
EBV positive graft, n (%) \pm	Negative	62 (49.6)	10 (20)	52 (69)	8 (33.3)	54 (53.5)	1 (7.1)	61 (55.0)	
	Positive	63 (50.4)	40 (80)	23 (31)	16 (66.7)	47 (46.5)	13 (92.9)	50 (45.0)	
	Unknown	31	16	15	7	24	5	26	
Donor type, n (%)	Match related donor	53 (34.0)	23 (34.8)	30 (33.3)	9 (29.0)	44 (35.2)	5 (26.3)	48 (35.0)	
	Alternative donor	103 (66.0)	43 (65.2)	60 (66.7)	22 (71.0)	81 (64.8)	14 (73.7)	89 (65.0)	
Graft source, n (%)	CB	39 (25.0)	7 (10.6)	32 (35.6)	5 (16.1)	34 (27.2)	1 (5.3)	38 (27.7)	
	BM	98 (62.8)	49 (74.2)	49 (54.4)	22 (71.0)	76 (60.8)	15 (78.9)	83 (60.6)	
	PBSC	19 (12.2)	10 (15.2)	9 (10)	4 (12.9)	15 (12.0)	3 (15.8)	16 (11.7)	
Conditioning and GvHD prophylaxis, n (%)	Conditioning regimen [§]	Other conditioning	98 (62.8)	43 (65.2)	55 (61.1)	22 (71.0)	76 (60.8)	13 (68.4)	85 (62.0)
		MAC	58 (37.2)	23 (34.8)	35 (38.9)	9 (29.0)	49 (39.2)	6 (31.6)	52 (38.0)
	ATG	No	92 (59.0)	29 (43.9)	63 (70)	10 (32.3)	82 (65.6)	7 (36.8)	85 (62.0)
		Yes	64 (41.0)	37 (56.1)	27 (30)	21 (67.7)	43 (34.4)	12 (63.2)	52 (38.0)
	Alemtuzumab	No	118 (75.6)	53 (80.3)	65 (72.2)	24 (77.4)	94 (75.2)	15 (78.9)	103 (75.2)
		Yes	38 (24.4)	13 (19.7)	25 (27.8)	7 (22.6)	31 (24.8)	4 (21.1)	34 (24.8)
	CsA	No	59 (37.8)	29 (43.9)	30 (33.3)	14 (45.2)	45 (36.0)	7 (36.8)	52 (38.0)
		Yes	97 (62.2)	37 (56.1)	60 (66.7)	17 (54.8)	80 (64.0)	12 (63.2)	85 (62.0)
	Tacrolimus	No	110 (70.5)	40 (60.6)	70 (77.8)	19 (61.3)	91 (72.8)	12 (63.2)	98 (71.5)
		Yes	46 (29.5)	26 (39.4)	20 (22.2)	12 (38.7)	34 (27.2)	7 (36.8)	39 (28.5)
	MTX	No	92 (59.0)	34 (51.5)	58 (64.4)	15 (48.4)	77 (61.6)	10 (52.6)	82 (59.9)

Table 1: Characteristics of HSCT recipients according to outcome definitions

VARIABLES	All n=156	Outcome						
		At least one positive EBV PCR test (EBV DNAemia)		Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV-VL ≥ 0.5log (acute EBV DNAemia)		PTLD diagnosis or pre-emptive treatment (rituximab)		
		Yes	No	Yes	No	Yes	No	
		n=66	n=90	n=31	n=125	n=19	n=137	
MMF	Yes	64 (41.0)	32 (48.5)	32 (35.6)	16 (51.6)	48 (38.4)	9 (47.4)	55 (40.1)
	No	100 (64.1)	51 (77.3)	49 (54.4)	27 (87.1)	73 (58.4)	17 (89.5)	83 (60.6)
	Yes	56 (35.9)	15 (22.7)	41 (45.6)	4 (12.9)	52 (41.6)	2 (10.5)	54 (39.4)

ATG: Anti-thymocyte globulin; BM: Bone marrow; CB : Cord blood; CsA: Cyclosporine A; EBV: Epstein-Barr virus; EBV-VL : EBV Viral load; GvHD: Graft-versus-host disease; HSCT: Hematopoietic stem cell transplant; IQR: Interquartile range; MAC: Myeloablative conditioning; MMF: Mycophenolate mofetil; MTX: Methotrexate; PBSC: Peripheral blood stem cells; SD: Standard deviation.

* There were 3 patients over 18 years old.

±All cord bloods were considered EBV seronegative graft.

§Any conditioning regimen included Total body irradiation ≥10 Gy or Busulfan, total dose ≥12 mg/kg was considered Myeloablative.

Table 2: Adjusted estimates of risk factors for post-transplant EBV events in pediatric HSCT recipients obtained by Cox proportional hazards assumption model[‡]

VARIABLES [†]	Entire cohort			Sub-cohort of EBV seropositive patients		
	Outcome 1: One positive EBV PCR	Outcome 2: Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV-VL ≥ 0.5log	Outcome 3: PTLD diagnosis or pre-emptive treatment with rituximab	Outcome 1: One positive EBV PCR	Outcome 2: Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV-VL ≥ 0.5log	Outcome 3: PTLD diagnosis or pre-emptive treatment with rituximab
	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)
Recipient sex (Female vs. Male)	1.21 (0.74 - 1.99) [±]	2.83*** (1.33 - 6.03)	3.08** (1.14 - 8.30)	0.99 (0.57 - 1.72) [±]	2.16* (0.97 - 4.81)	5.03*** (1.58 - 16.07)
Recipient age in years (Continuous)	1.03 (0.98 - 1.08)	1.01 (0.94 - 1.08)	1.04 (0.96 - 1.13)	1.02 (0.97 - 1.07)	1.00 (0.93 - 1.07)	1.03 (0.95 - 1.12)
Primary diagnosis (Non-malignant vs. Malignant)	0.54* (0.28 - 1.03)	0.76 (0.28 - 2.03)	0.62 (0.20 - 1.95)	0.79 (0.37 - 1.66)	0.90 (0.31 - 2.61)	0.80 (0.21 - 3.05)
Recipient pre-transplant EBV serology (Positive vs. Negative)	2.47** (1.17 - 5.21)	3.16** (1.04 - 9.57)	2.91 (0.65 - 12.96)	NA	NA	NA
EBV positive graft (Positive vs. Negative)	3.53*** (1.95 - 6.38) [±]	0.73 (0.33 - 1.62)	3.54* (0.90 - 13.97)	3.46*** (1.82 - 6.59) [±]	0.79 (0.33 - 1.91)	4.16* (0.87 - 20.01)
Donor match (Alternative donor vs. Match related donor)	1.29 (0.75 - 2.21)	2.11* (0.96 - 4.65)	2.57* (0.91 - 7.27)	1.23 (0.69 - 2.18)	2.28* (0.96 - 5.46)	2.94* (0.98 - 8.81)
Conditioning regimen (MAC vs. other conditioning)	1.22 (0.65 - 2.31)	0.96 (0.34 - 2.73)	1.24 (0.30 - 5.15)	1.22 (0.59 - 2.52)	1.09 (0.37 - 3.23)	1.31 (0.33 - 5.26)
ATG (Yes vs. No)	5.36***	7.97***	5.33**	5.49***	6.61***	5.09**

Table 2: Adjusted estimates of risk factors for post-transplant EBV events in pediatric HSCT recipients obtained by Cox proportional hazards assumption model[‡]

VARIABLES [†]	Entire cohort			Sub-cohort of EBV seropositive patients		
	Outcome 1: One positive EBV PCR	Outcome 2: Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV-VL \geq 0.5log	Outcome 3: PTLD diagnosis or pre-emptive treatment with rituximab	Outcome 1: One positive EBV PCR	Outcome 2: Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV-VL \geq 0.5log	Outcome 3: PTLD diagnosis or pre-emptive treatment with rituximab
	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)
	(2.69 - 10.69)	(2.47 - 25.73)	(1.47 - 19.40)	(2.92 - 10.31)	(1.92 - 22.71)	(1.23 - 21.14)
Alemtuzumab (Yes vs. No)	1.54 (0.59 - 3.99)	2.80 (0.66 - 11.77)	1.97 (0.33 - 11.71)	1.13 (0.43 - 2.99)	2.04 (0.51 - 8.14)	1.25 (0.21 - 7.53)
Tacrolimus vs. CsA [‡]	1.53 (0.66 - 3.53)	3.48* (0.87 - 13.89)	1.33 (0.41 - 4.28)	1.44 (0.57 - 3.64)	2.70 (0.57 - 12.77)	1.15 (0.31 - 4.23)
MMF (Yes vs. No)	0.33*** (0.18 - 0.60)[±]	0.15*** (0.05 - 0.45)[±]	0.13** (0.03 - 0.63)	0.30*** (0.13 - 0.67)	0.12*** (0.03 - 0.42)	0.14** (0.03 - 0.69)
MTX (Yes vs. No)	1.05 (0.56 - 1.97)	1.20 (0.48 - 2.98)	0.67 (0.25 - 1.78)	0.85 (0.43 - 1.70)	0.99 (0.38 - 2.55)	0.78 (0.27 - 2.26)

* p<0.1; ** p<0.05; *** p<0.01

ATG: Anti-thymocyte globulin; CI: Confidence interval; CsA: Cyclosporine A; EBV: Epstein-Barr virus; EBV-VL: EBV viral load; HR: hazard ratio; HSCT: Hematopoietic stem cell transplant; MAC: Myeloablative conditioning; MMF: Mycophenolate mofetil; MTX: Methotrexate; NA: Not applicable; PCR: Polymerase chain reaction; PTLT: Post-transplant lymphoproliferative disease.

[‡] The variable "Site of study" was considered in all models for outcomes 1 & 2. It was not considered in the models for outcome 3 because the event of interest was too small in some.

[±] The proportional hazards assumption assumption was not verified.

[†] There was also no evidence of multi-collinearity impact for all risk factors explored

[‡] The estimates concerned 139 patients for the entire cohort and 93 patients in the sub-cohort of patients with positive pre-transplant EBV who received exclusively Tacrolimus or CsA.

Table 3: Unadjusted and adjusted estimates of risk factors of recurrence of post-transplant EBV DNAemia in pediatric HSCT recipients obtained by Prentice-Williams-Petersen gap time (PWP-GT) model

VARIABLES [†]	Entire cohort		Patients with positive EBV serology before transplant	
	Unadjusted	Adjusted [‡]	Unadjusted	Adjusted [‡]
	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)
Recipient sex (Female vs. Male)	1.15 (0.77 - 1.72)	1.05 (0.70 - 1.58)	1.02 (0.66 - 1.58)	0.95 (0.61 - 1.47)
Recipient age in years (Continuous)	1.02 (0.99 - 1.06)	1.01 (0.97 - 1.05)	1.02 (0.98 - 1.06)	1.00 (0.96 - 1.05)
Primary diagnosis (Non-malignant vs. Malignant)	1.33 (0.88 - 2.01)	0.92 (0.52 - 1.61)	1.44 (0.93 - 2.24)	0.90 (0.51 - 1.61)
Recipient pre-transplant EBV serology (Positive vs. Negative)	1.95** (1.14 - 3.33)	1.64 (0.90 - 2.97)	NA	NA
EBV positive graft (Positive vs. Negative)	2.38*** (1.53 - 3.72)	2.46*** (1.48 - 4.07)	2.29*** (1.36 - 3.86)	2.53*** (1.48 - 4.32)
Donor match (Alternative donor vs. Match related donor)	0.91 (0.60 - 1.39)	1.12 (0.73 - 1.74)	0.84 (0.53 - 1.33)	1.06 (0.66 - 1.69)
Conditioning regimen (MAC vs. other conditioning)	0.85	1.24	0.82	1.19

Table 3: Unadjusted and adjusted estimates of risk factors of recurrence of post-transplant EBV DNAemia in pediatric HSCT recipients obtained by Prentice-Williams-Petersen gap time (PWP-GT) model

VARIABLES [†]	Entire cohort		Patients with positive EBV serology before transplant	
	Unadjusted	Adjusted [‡]	Unadjusted	Adjusted [‡]
	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)
	(0.55 - 1.29)	(0.70 - 2.23)	(0.52 - 1.29)	(0.65 - 2.18)
ATG (Yes vs. No)	1.67** (1.09 - 2.57)	2.78*** (1.52 - 5.06)	2.16*** (1.32 - 3.52)	3.05*** (1.60 - 5.83)
Alemtuzumab (Yes vs. No)	1.01 (0.63 - 1.62)	1.38 (0.65 - 2.95)	0.88 (0.51 - 1.51)	1.03 (0.45 - 2.35)
Tacrolimus vs. CsA [‡]	1.82*** (1.18 - 2.81)	1.23 (0.67 - 2.27)	1.55* (0.96 - 2.53)	1.14 (0.53 - 2.48)
MMF (Yes vs. No)	0.53*** (0.33 - 0.85)	0.56** (0.35 - 0.90)	0.47*** (0.27 - 0.81)	0.50** (0.27 - 0.94)
MTX (Yes vs. No)	1.54** (1.02 - 2.32)	1.24 (0.74 - 2.06)	1.29 (0.83 - 2.02)	1.13 (0.62 - 2.06)

* p<0.1; ** p<0.05; *** p<0.01

ATG: Anti-thymocyte globulin; CI: Confidence interval; CsA: Cyclosporine A; EBV: Epstein-Barr virus; HR: hazard ratio; HSCT: Hematopoietic stem cell transplant; MAC: Myeloablative conditioning; MMF: Mycophenolate mofetil; MTX: Methotrexate; NA: Not applicable.

[†]The estimates concerned 139 recipients for the entire cohort and 93 recipients for the sub-cohort of EBV seropositive patients who received exclusively Tacrolimus or CsA.

[‡] The variable "Site of study" was considered in all models.

^{††}There was also no evidence of multi-collinearity impact for all risk factors explored

Figures

Figure 1: Proportion of patients EBV seropositive by age at transplant

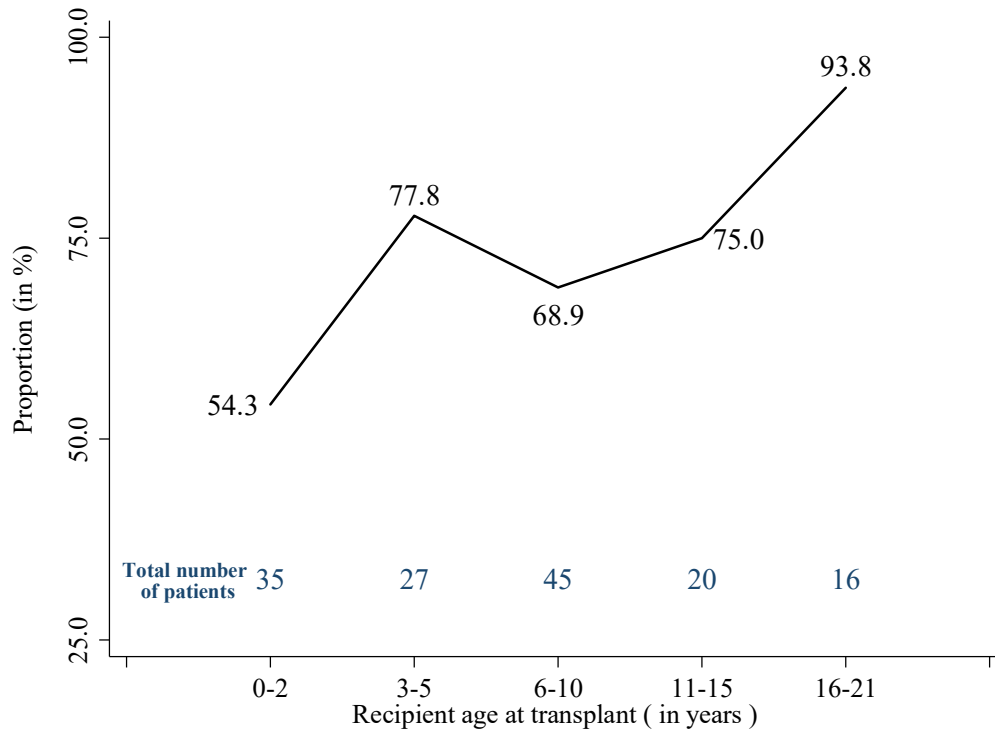
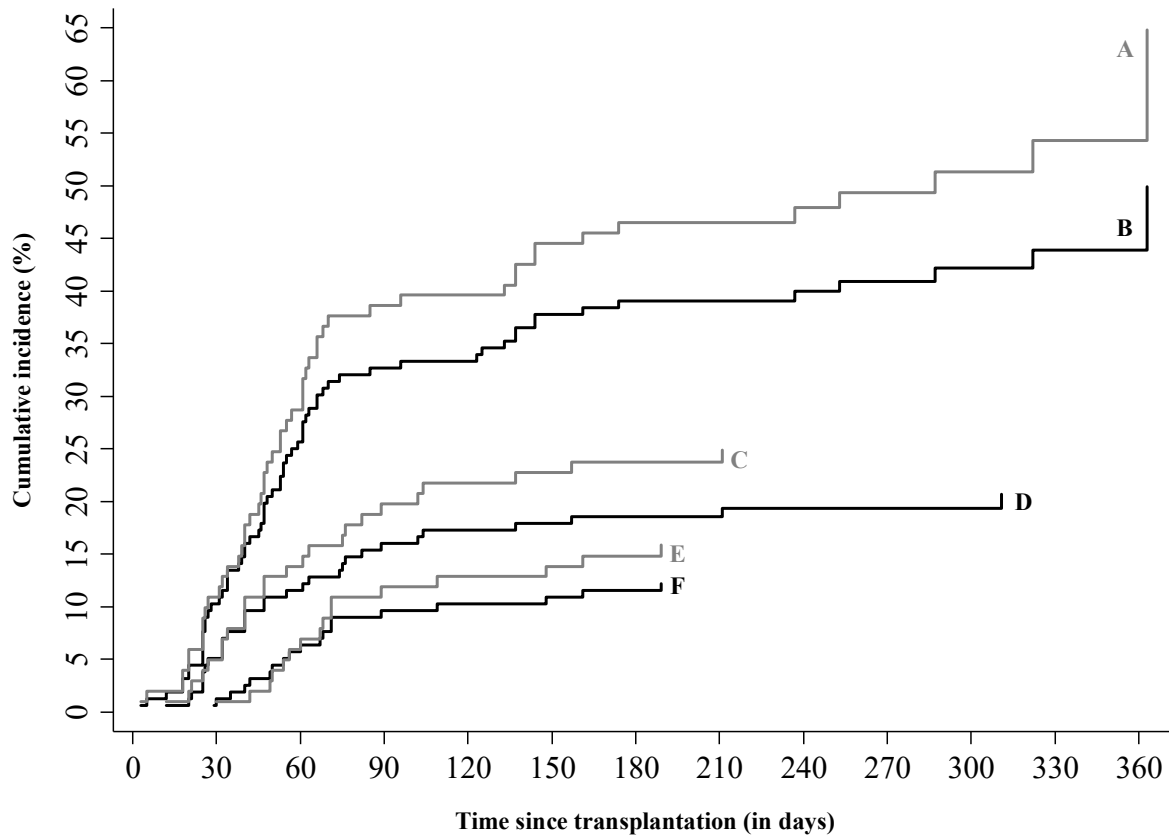


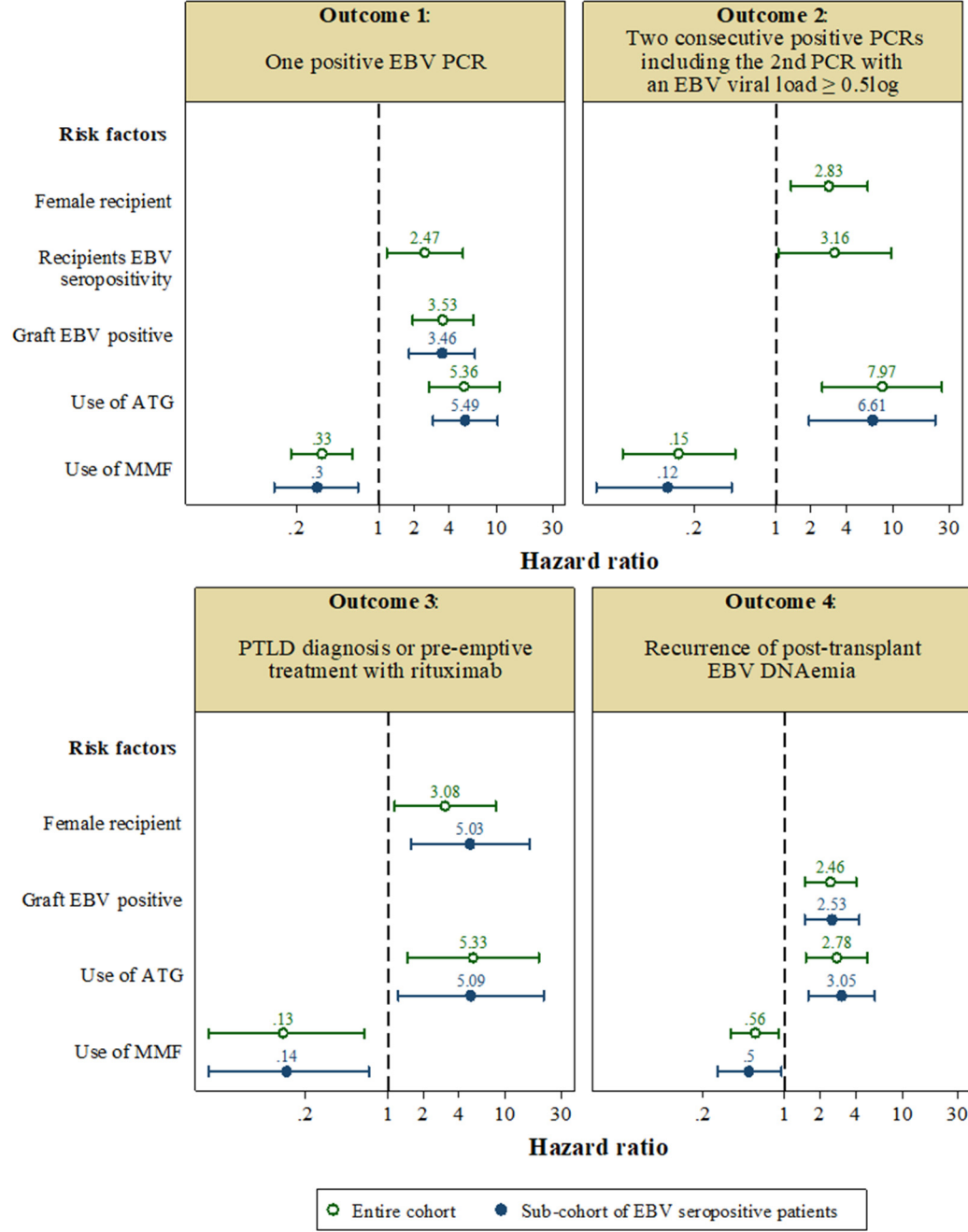
Figure 2: Cumulative incidence of post-transplant EBV events among HSCT pediatric recipients according to the definition of events



Outcome	Group	Number of events of interest	Number of competitive events	Cumulative incidence (%)		
				Estimate (95% CI)		
				At day 100	At day 180	Overall
At least one positive EBV PCR (EBV DNAemia)	A Patient EBV seropositive*	52	25	39.6 (30.1 - 49.0)	46.5 (36.6 - 55.9)	64.8 (45.4 - 78.8)
	B Entire cohort	66	50	33.3 (26.1 - 40.8)	39.1 (31.5 - 46.7)	49.9 (36.7 - 61.7)
Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV-VL $\geq 0.5\log$	C Patient EBV seropositive*	25	39	19.8 (12.7 - 28.1)	23.8 (16.0 - 32.4)	24.9 (16.9 - 33.7)
	D Entire cohort	31	69	16.0 (10.8 - 22.2)	18.6 (12.9 - 25.1)	20.7 (14.5 - 27.7)
PTLD diagnosis or pre-emptive treatment (rituximab)	E Patient EBV seropositive*	16	42	11.8 (6.5 - 19.0)	14.8 (8.7 - 22.5)	15.9 (9.6 - 23.7)
	F Entire cohort	19	74	9.6 (5.6 - 14.9)	11.5 (7.1 - 17.1)	12.2 (7.7 - 17.9)

*The analysis was limited to 101 patients whose EBV serostatus was known before the transplant.

Figure 3: Summary of statistically significant adjusted estimates of risk factors for post-transplant EBV outcomes in pediatric HSCT recipients according to outcomes



ATG: Anti-thymocyte globulin; EBV: Epstein-Barr virus; EBV-VL: EBV viral load; HSCT: Hematopoietic stem cell transplant; MMF: Mycophenolate mofetil; PCR: Polymerase chain reaction; PTLD: Post-transplant lymphoproliferative disease.

Table S1: Unadjusted estimates of risk factors for post-transplant EBV events in pediatric HSCT recipients obtained by Cox proportional hazards assumption model

VARIABLES	Entire cohort			Sub-cohort of EBV seropositive patients		
	<u>Outcome 1:</u> One positive EBV PCR	<u>Outcome 2:</u> Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV-VL \geq 0.5log	<u>Outcome 3:</u> PTLD diagnosis or pre-emptive treatment with rituximab	<u>Outcome 1:</u> one positive EBV PCR	<u>Outcome 2:</u> Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV-VL \geq 0.5log	<u>Outcome 3:</u> PTLD diagnosis or pre-emptive treatment with rituximab
	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)
Recipient sex (Female vs. Male)	1.26 (0.78 - 2.04)	2.29** (1.09 - 4.77)	2.57* (0.98 - 6.77)	1.05 (0.61 - 1.81)	1.76 (0.79 - 3.92)	3.49** (1.12 - 10.82)
Recipient age in years (Continuous)	1.03 (0.99 - 1.08)	1.02 (0.96 - 1.09)	1.04 (0.96 - 1.13)	1.03 (0.98 - 1.08)	1.02 (0.95 - 1.09)	1.04 (0.96 - 1.14)
Primary diagnosis (Non-malignant vs. Malignant)	1.32 (0.80 - 2.16)	1.75 (0.82 - 3.71)	1.11 (0.45 - 2.77)	1.51 (0.87 - 2.63)	2.13* (0.92 - 4.93)	1.58 (0.57 - 4.34)
Recipient pre-transplant EBV serology (Positive vs. Negative)	2.47*** (1.26 - 4.84)	2.79* (0.97 - 7.96)	3.23 (0.75 - 13.99)	NA	NA	NA
EBV positive graft (Positive vs. Negative)	2.95*** (1.74 - 5.00)	1.27 (0.63 - 2.59)	3.02** (1.09 - 8.41)	2.83*** (1.54 - 5.20)	1.36 (0.62 - 2.97)	2.65* (0.86 - 8.15)
Donor match (Alternative donor vs. Match related donor)	0.95 (0.57 - 1.58)	1.34 (0.62 - 2.92)	1.60 (0.58 - 4.45)	0.82 (0.46 - 1.45)	1.45 (0.61 - 3.48)	1.27 (0.44 - 3.65)
Conditioning regimen (MAC vs. other conditioning)	0.86 (0.52 - 1.43)	0.67 (0.31 - 1.46)	0.78 (0.29 - 2.04)	1.00 (0.57 - 1.76)	0.66 (0.27 - 1.57)	0.79 (0.28 - 2.29)
ATG (Yes vs. No)	2.37*** (1.46 - 3.87)	3.33*** (1.57 - 7.08)	2.62** (1.03 - 6.66)	2.79*** (1.61 - 4.85)	3.03*** (1.34 - 6.87)	2.72* (0.99 - 7.49)
Alemtuzumab (Yes vs. No)	0.79 (0.43 - 1.46)	0.96 (0.41 - 2.23)	0.90 (0.30 - 2.70)	0.65 (0.30 - 1.38)	1.21 (0.48 - 3.05)	0.90 (0.26 - 3.17)
Tacrolimus vs. CsA[†]	2.19*** (1.32 - 3.63)	1.79 (0.85 - 3.76)	1.37 (0.54 - 3.49)	1.77* (0.99 - 3.16)	1.50 (0.65 - 3.47)	0.94 (0.33 - 2.72)
MMF (Yes vs. No)	0.35*** (0.20 - 0.63)	0.22*** (0.08 - 0.64)	0.19** (0.04 - 0.83)	0.35*** (0.18 - 0.67)	0.20** (0.06 - 0.68)	0.23* (0.05 - 1.03)
MTX (Yes vs. No)	1.89** (1.16 - 3.09)	1.76 (0.87 - 3.57)	1.40 (0.57 - 3.46)	1.51 (0.87 - 2.63)	1.71 (0.78 - 3.75)	1.15 (0.43 - 3.08)

* p<0.1; ** p<0.05; *** p<0.01

ATG: Anti-thymocyte globulin; CI: Confidence interval; CsA: Cyclosporine A; EBV: Epstein-Barr virus; HR: hazard ratio; HSCT: Hematopoietic stem cell transplant; MAC: Myeloablative conditioning; MMF: Mycophenolate mofetil; MTX: Methotrexate; NA: Not applicable; PCR: Polymerase chain reaction; PTLD: Post-transplant lymphoproliferative disease.

[†]The estimates concerned 139 patients for the entire cohort and 93 patients in the sub-cohort of patients with positive pre-transplant EBV who received exclusively Tacrolimus or CsA.

Table S2: Confounding variables considered in each Cox proportional hazards assumption model and in each Prentice-Williams-Petersen gap time (PWP-GT) model

		Confounding variables included in models according to outcomes			
Group	Main exposure variable	<u>Outcome 1:</u> One positive EBV PCR	<u>Outcome 2:</u> Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV viral load $\geq 0.5\log$	<u>Outcome 3:</u> PTLD diagnosis or pre-emptive treatment with rituximab	<u>Outcome 4:</u> Recurrence of post-transplant EBV DNAemia
Entire cohort	Recipient sex (Female vs. Male)	EBV positive graft, ATG, MMF, Site of study	EBV positive graft, ATG, MMF, Site of study	EBV positive graft, Primary diagnosis, ATG, MMF	EBV positive graft, Site of study
Patient EBV positive		EBV positive graft, ATG, Site of study	EBV positive graft, ATG, MMF, Site of study	EBV positive graft, ATG, MMF, Donor match	EBV positive graft, Site of study
Entire cohort	Recipient age in years (Continuous)	Site of study	Site of study		Site of study
Patient EBV positive		Site of study	Site of study		Site of study
Entire cohort	Primary diagnosis (Non-malignant vs. Malignant)	EBV positive graft, ATG, Alemtuzumab, Site of study	Recipient sex, Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, MMF, Donor match, Alemtuzumab, Site of study	Recipient sex, Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, MMF, Donor match, Alemtuzumab	EBV positive graft, Conditioning regimen, ATG, Alemtuzumab, MTX, Site of study
Patient EBV positive		Recipient age, EBV positive graft, ATG, Conditioning regimen, MTX, MMF, Site of study	Recipient sex, ATG, Donor match, MMF, Alemtuzumab, Site of study	Recipient sex, EBV positive graft, Conditioning regimen, ATG, MMF, Donor match, Alemtuzumab	EBV positive graft, ATG, Conditioning regimen, MMF, MTX, Site of study
Entire cohort	Recipient pre-transplant EBV serology (Positive vs. Negative)	EBV positive graft, ATG, MMF, Site of study	Recipient sex, EBV positive graft, ATG, Alemtuzumab, MMF, Site of study	Recipient sex, EBV positive graft, ATG, MMF, Donor match	EBV positive graft, ATG, Site of study
Entire cohort	EBV positive graft (Positive vs. Negative)	Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, Site of study	Recipient sex, Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, Alemtuzumab, MMF, Site of study	Recipient sex, Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, Alemtuzumab, MMF, Conditioning regimen, Donor match	Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, Site of study
Patient EBV positive		ATG, Site of study	Recipient sex, ATG, Alemtuzumab, MMF, Site of study	Recipient sex, ATG, Alemtuzumab, MMF, Conditioning regimen, Donor match	ATG, MMF, Site of study
Entire cohort	Donor match (Alternative donor vs. Match related donor)	Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, MMF, Site of study	Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, MMF, Site of study	Recipient pre-transplant EBV serology, EBV positive graft, ATG, MMF	Recipient pre-transplant EBV serology, EBV positive graft, ATG, MMF, Site of study
Patient EBV positive		EBV positive graft, ATG, MMF, Site of study	EBV positive graft, ATG, MMF, Tacrolimus or CsA, Site of study	Recipient sex, EBV positive graft, ATG, MMF	EBV positive graft, ATG, MMF, Site of study
Entire cohort	Conditioning regimen (MAC vs. other conditioning)	EBV positive graft, MMF, Primary diagnosis, ATG, Site of study	Recipient sex, Recipient pre-transplant EBV serology, EBV positive graft, Alemtuzumab, MMF, Primary diagnosis, ATG, Site of study	Recipient sex, EBV positive graft, ATG, MMF, Alemtuzumab, Primary diagnosis, MTX	EBV positive graft, MMF, MTX, Primary diagnosis, Site of study
Patient EBV positive		EBV positive graft, MMF, Primary	MMF, ATG, Alemtuzumab, EBV positive graft, Donor	MMF, ATG, EBV positive graft, Donor match, Recipient sex	EBV positive graft, MMF, Primary diagnosis, Site of study

Table S2: Confounding variables considered in each Cox proportional hazards assumption model and in each Prentice-Williams-Petersen gap time (PWP-GT) model

Group	Main exposure variable	Confounding variables included in models according to outcomes			
		<u>Outcome 1:</u> One positive EBV PCR	<u>Outcome 2:</u> Two consecutive positive PCRs including the 2nd PCR with an EBV viral load $\geq 0.5\log$	<u>Outcome 3:</u> PTLD diagnosis or pre-emptive treatment with rituximab	<u>Outcome 4:</u> Recurrence of post-transplant EBV DNAemia
		diagnosis, ATG, Site of study	match, Recipient sex, Site of study		
Entire cohort	ATG (Yes vs. No)	Recipient pre-transplant EBV serology, Primary diagnosis, MMF, Alemtuzumab, Site of study	Recipient sex, Recipient pre-transplant EBV serology, MMF, Primary diagnosis, Donor match, EBV positive graft, Alemtuzumab, Site of study	Recipient sex, MMF, Primary diagnosis, Donor match, Recipient pre-transplant EBV serology, Alemtuzumab	Recipient pre-transplant EBV serology, EBV positive graft, Primary diagnosis, Alemtuzumab, MMF, Site of study
Patient EBV positive		EBV positive graft, Primary diagnosis, Site of study	Recipient sex, MMF, Donor match, EBV positive graft, Alemtuzumab, Primary diagnosis, Site of study	Recipient sex, MMF, Donor match, EBV positive graft, Alemtuzumab, Primary diagnosis	EBV positive graft, Primary diagnosis, Alemtuzumab, MMF, Site of study
Entire cohort	Alemtuzumab (Yes vs. No)	Recipient pre-transplant EBV serology, EBV positive graft, Primary diagnosis, ATG, Donor match, Site of study	Recipient sex, MMF, EBV positive graft, Donor match, Primary diagnosis, ATG, Site of study	Recipient sex, MMF, EBV positive graft, Donor match, Primary diagnosis, ATG, MTX	Recipient pre-transplant EBV serology, EBV positive graft, Primary diagnosis, ATG, Site of study
Patient EBV positive		EBV positive graft, ATG, MMF, Primary diagnosis, Site of study	EBV positive graft, ATG, MMF, Primary diagnosis, Donor match, Site of study	EBV positive graft, ATG, MMF, Primary diagnosis, Donor match, MTX	EBV positive graft, Primary diagnosis, ATG, Site of study
Entire cohort	Tacrolimus vs. CsA	EBV positive graft, ATG, MMF, Primary diagnosis, Site of study	Recipient sex, EBV positive graft, ATG, MMF, Primary diagnosis, MTX, Site of study	Recipient sex, Primary diagnosis, ATG, MMF, MTX, Alemtuzumab, EBV positive graft	EBV positive graft, ATG, MTX, Site of study
Patient EBV positive		Recipient age, EBV positive graft, ATG, MMF, Primary diagnosis, Site of study	Recipient sex, Primary diagnosis, ATG, MMF, MTX, Donor match, Site of study	Recipient sex, EBV positive graft, ATG, MMF, MTX, Donor match	Recipient sex, EBV positive graft, Primary diagnosis, Donor match, Conditioning regimen, ATG, MTX, MMF, Site of study
Entire cohort	MMF (Yes vs. No)	Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, Site of study	Recipient sex, ATG, Donor match, Site of study	Recipient sex, EBV positive graft, ATG, MTX, Donor match	Recipient pre-transplant EBV serology, Site of study
Patient EBV positive		Recipient age, EBV positive graft, ATG, MTX, Site of study	Recipient sex, ATG, Donor match, Site of study	Recipient sex, EBV positive graft, ATG, MTX, Donor match	MTX, Conditioning regimen, ATG, EBV positive graft, Site of study
Entire cohort	MTX (Yes vs. No)	EBV positive graft, Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, MMF, Site of study	EBV positive graft, Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, Alemtuzumab, MMF, Site of study	Recipient sex, Recipient pre-transplant EBV serology, EBV positive graft, Primary diagnosis, ATG, MMF	EBV positive graft, Recipient pre-transplant EBV serology, ATG, MMF, Site of study
Patient EBV positive		EBV positive graft, ATG, MMF, Site of study	EBV positive graft, ATG, Alemtuzumab, MMF, Site of study	EBV positive graft, ATG, Alemtuzumab, MMF	EBV positive graft, Conditioning regimen, ATG, Alemtuzumab, MMF, Site of study

ATG: Anti-thymocyte globulin; CsA: Cyclosporine A; EBV: Epstein-Barr virus; MAC: Myeloablative conditioning; MMF: Mycophenolate mofetil; MTX: Methotrexate; PCR: Polymerase chain reaction; PTLT: Post-transplant lymphoproliferative disease.

Chapitre 4 : Résultats complémentaires

L'objectif de ce chapitre est de présenter les résultats en lien avec les articles 2 et 3 mais qui n'ont pas été rapportés dans ces articles. Pour ce qui de l'article 2, les résultats de l'analyse de l'association entre le volume total de chaque produit sanguin reçu par les patients et l'infection à VEB post-transplantation, en utilisant une régression logistique, sont présentés ainsi que les statistiques des poids stabilisés des modèles marginaux structurels.

Pour l'article 3, plusieurs analyses complémentaires ont été réalisées. Nous déclinons dans un premier temps les résultats de l'analyse de l'association entre l'ATG, le MMF et les événements VEB post-greffe en utilisant le modèle de Cox couplé à la méthode des scores de propension communément appelée « Inverse probability of weighting (IPW) ». Nous abordons ensuite l'identification des facteurs associés aux différents événements d'intérêt à l'aide du modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni. Nous rapportons ensuite les résultats de l'exploration des facteurs associés aux événements d'intérêt à l'aide du modèle de risque compétitif de Fine et Gray, et de la régression logistique. Dans le même ordre d'idées, les résultats de l'identification des facteurs associés la récurrence de l'ADNémie VEB en utilisant le modèle d'Andersen-Gill (AG) et le modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré selon le processus de comptage (PWP-CP) sont mis en relief. Dans l'article 3, les données manquantes ont été remplacées en utilisant une méthode d'imputation non-paramétrique qui consistait à remplacer chaque observation manquante par une seule valeur. En fin, nous mettons en lumière dans ce chapitre les résultats obtenus en remplaçant les données manquantes par la méthode d'imputation multiple par chaîne d'équation. Sans nuire à la généralité, les analyses relatives à l'article 3 ont été réalisées uniquement pour l'ensemble de la cohorte des patients. En effet, une similitude entre les résultats d'analyses obtenus avec l'ensemble de la cohorte et ceux obtenus avec la sous-cohorte des patients ayant une sérologie VEB positive avant la transplantation a été observée pour l'article 3.

4.1 Article 2 : Infection par le virus d'Epstein-Barr (VEB) liée à la transfusion: une étude de cohorte prospective multicentrique chez des receveurs pédiatriques de greffes de cellules souches hématopoïétiques (étude TREASuRE)

4.1.1 Résultats de l'estimation des associations entre les volumes totaux de produits sanguins et l'infection du VEB post-greffe obtenus en utilisant la régression logistique

D'après les résultats du Tableau 1, aucune association statistiquement significative n'a été mise en évidence à l'aide de la régression logistique entre le volume total de chaque produit sanguin reçu par chaque patient dans la période post-transplantation, indépendamment du moment de la transfusion, et l'infection à VEB post-transplantation. Ces résultats corroborent l'absence de lien significatif mis en exergue dans l'article 2 où le modèle de risque proportionnel de Cox a été utilisé en considérant le volume cumulé de chaque produit sanguin reçu par chaque patient comme variable dépendant du temps (Tableau 1).

Tableau 1: Résultats de l'estimation des associations entre la racine carrée des volumes totaux de produits sanguins et l'infection VEB post-transplantation obtenus en utilisant la régression logistique et le modèle de risque proportionnel de Cox

Modèle	Racine carrée du volume total de produits sanguins transfusés							
	Variable fixe				Variable changeant dans le temps			
	Globules rouges		Plaquettes		Globules rouges		Plaquettes	
	OR (IC à 95%)	p	OR (IC à 95%)	p	HR (IC à 95%)	p	HR (IC à 95%)	p
Univarié	0,98 (0,95- 1,00)	0,041	0,99 (0,97-1,00)	0,115	1,00 (0,98 - 1,02)	0,776	1,00 (0,99 - 1,01)	0,831
*Multivarié	1,00 (0,95-1,05)	0,925	0,98 (0,95-1,02)	0,354	1,01 (0,99 - 1,04)	0,368	0,99 (0,97 - 1,01)	0,360

IC: intervalle de confiance; HR : hazard ratio; OR: odds ratio; p: p-value

*Les variables suivantes ont été considérées dans le modèle multivarié pour contrôler la confusion: diagnostic primaire (maladie maligne versus maladie non-maligne), statut VEB pré-transplantation du receveur (séropositif versus séronégatif versus inconnu), statut VEB du greffon (positif versus négatif versus inconnu), utilisation de la globuline antithymocyte (ATG) (oui versus non), utilisation du tacrolimus (FK506) ou du cyclosporine A (CsA) (oui versus non), utilisation du mycophénolate mofétil (MMF) (oui versus non), transfusion de globules rouges 2 mois avant la greffe (oui versus non), transfusion des plaquettes 2 mois avant la greffe (oui versus non). La variable site de l'étude a également été prise en compte dans le modèle.

4.1.2 Statistiques descriptives des poids stabilisés des modèles marginaux structurels de l'article 2

Selon les résultats consignés dans le Tableau 2, la moyenne des poids pour chaque variable d'exposition en ce qui concerne le contrôle de la confusion oscille autour de 1 et aucun poids n'est égal à zéro. L'hypothèse de positivité, fondamentale pour l'utilisation du modèle marginal structurel, qui stipule que chaque individu doit avoir une probabilité non nulle de recevoir chaque valeur de l'exposition semble être respectée.^{244,254}

Tableau 2 : Statistiques descriptives des poids stabilisés des modèles marginaux structurels de l'article 2

Variables	Pondération pour le contrôle de la confusion	Pondération pour le contrôle du biais de sélection	Pondération pour le contrôle de la confusion et le biais de sélection
	Moyenne (min-max)	Moyenne (min-max)	Moyenne (min-max)
Globules rouges (Oui vs. Non)	0,998 (0,467- 1,662)	0,997 (0,392-3,397)	0,9964 (0,292-3,270)
Plaquettes (Oui vs. Non)	1,010 (0,453-4,839)	0,998 (0,392-3,397)	1,009 (0,305-4,839)

4.2 Article 3 : Facteurs de risque de l'infection active du Virus d'Epstein-Barr post-transplantation chez les receveurs pédiatriques de greffes de cellules souches hématopoïétiques

4.2.1 Résultats de l'estimation du modèle IPW-Cox pour les variables d'exposition ATG et MMF

Il ressort du Tableau 3 que tous les estimés des hazards ratios (HR) marginaux obtenus avec le modèle IPW-Cox sont statistiquement significatifs. Ces résultats corroborent ceux qui ont été trouvés avec le modèle de Cox classique. L'on observe toutefois que les estimés marginaux sont plus petits que les estimés conditionnels. Ce dernier constat n'est pas surprenant car le HR n'est pas collapsible.²⁰⁸ Par ailleurs, la puissance statistique semble être meilleure avec le modèle IPW-Cox comparativement au modèle de Cox classique notamment pour l'issue 3. Ce gain de puissance pour l'issue 3 pourrait s'expliquer par l'amélioration du ratio événement par variable. Soulignons que pour 19 événements enregistrés, sept variables ont été prises en compte dans le modèle de Cox

avec l'ATG comme variable d'exposition principale, et six dans celui où le MMF a été considéré comme variable d'exposition d'intérêt. Seulement deux variables ont été incluses dans les deux modèles IPW-Cox. Ces résultats corroborent l'argument suivant lequel les méthodes de scores de propensions représentent une bonne alternative aux méthodes d'ajustement classique lorsque le ratio événement par variable est $<8-10$.^{153,154} Par ailleurs, dans les modèles IPW-Cox seules les variables d'exposition principales devraient en principe être considérées car la pondération est supposée équilibrer les distributions des potentiels facteurs de confusion. Ça n'a pas été le cas dans cette analyse pour la simple raison que l'ATG et l'Alemtuzumab ainsi que le MMF et le MTX sont des traitements compétitifs en termes de prescriptions. Les résultats consignés dans la Figure 1 et le Tableau 4 montrent qu'à l'exception de l'Alemtuzumab et le MTX, la pondération a réduit de manière significative le déséquilibre entre les variables. En outre, la validité des résultats du modèle IPW-Cox nécessite la vérification de certaines hypothèses. L'une des conditions à vérifier est l'absence de facteurs de confusion non mesurés. Malheureusement, cette hypothèse, commune à toutes les méthodes pour lesquelles l'ajustement des facteurs de confusion est nécessaire, n'est pas testable.²⁵⁴ Tous les facteurs de confusion potentiels disponibles ont été pris en compte. Une autre condition à vérifier est celle qui stipule que la pondération doit créer une pseudo-population dans laquelle les covariables de confusion sont indépendantes de l'affectation au groupe d'exposition. Dans la présente étude, tous les facteurs de confusion ne vérifient pas cette condition comme nous l'avons indiqué plus haut. Les modèles IPW-Cox ont été ajustés pour ces variables afin de contrôler la confusion résiduelle. De plus, pour l'ATG la moyenne des poids stabilisés est de 1,01, le minimum 0,59 et le maximum 2,87. Pour le MMF ces statistiques sont respectivement égales à 0,99, 0,55 et 2,24. Il n'y a donc pas de preuve évidente de la violation de l'hypothèse de positivité qui stipule que chaque individu doit avoir une probabilité non nulle de recevoir chaque valeur du traitement.^{244,254}

Tableau 3 : Estimations ajustées des facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle de Cox et le modèle IPW-Cox[‡]

VARIABLES	Modèle de Cox			Modèle IPW-Cox		
	<u>Issue 1 :</u> Un test PCR VEB positif	<u>Issue 2 :</u> Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2 ^{ème} test $\geq 0,5 \log_{10}$	<u>Issue 3 :</u> Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab	<u>Issue 1 :</u> Un test PCR VEB positif	<u>Issue 2 :</u> Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2 ^{ème} test $\geq 0,5 \log_{10}$	<u>Issue 3 :</u> Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab
	HR (IC à 95%)	HR (IC à 95%)	HR (IC à 95%)	HR (IC à 95%)	HR (IC à 95%)	HR (IC à 95%)
ATG (Oui vs. Non) [‡]	5,36*** (2,69 - 10,69)	7,97*** (2,47 - 25,73)	5,33** (1,47 - 19,40)	3,72*** (2,11 - 6,56)	6,63*** (2,43 - 18,07)	4,94*** (1,60 - 15,21)
MMF (Oui vs. Non) [§]	0,33*** (0,18 - 0,60) [±]	0,15*** (0,05 - 0,45) [±]	0,13** (0,03 - 0,63)	0,36*** (0,18 - 0,71) [±]	0,20*** (0,06 - 0,66) [±]	0,11*** (0,02 - 0,56)

* p<0.1; ** p<0.05; *** p<0.01

ATG : globuline antithymocyte; CV-VEB : charge virale du virus d'Epstein-Barr; GCSH : greffe de cellules souches hématopoïétiques; HR : hazard ratio; IC : intervalle de confiance; IPW : Inverse probability of weighting; MMF : mycophénolate mofétil; PCR : réaction en chaîne par polymérase; SLPT : syndrome lymphoprolifératif post-transplantation.

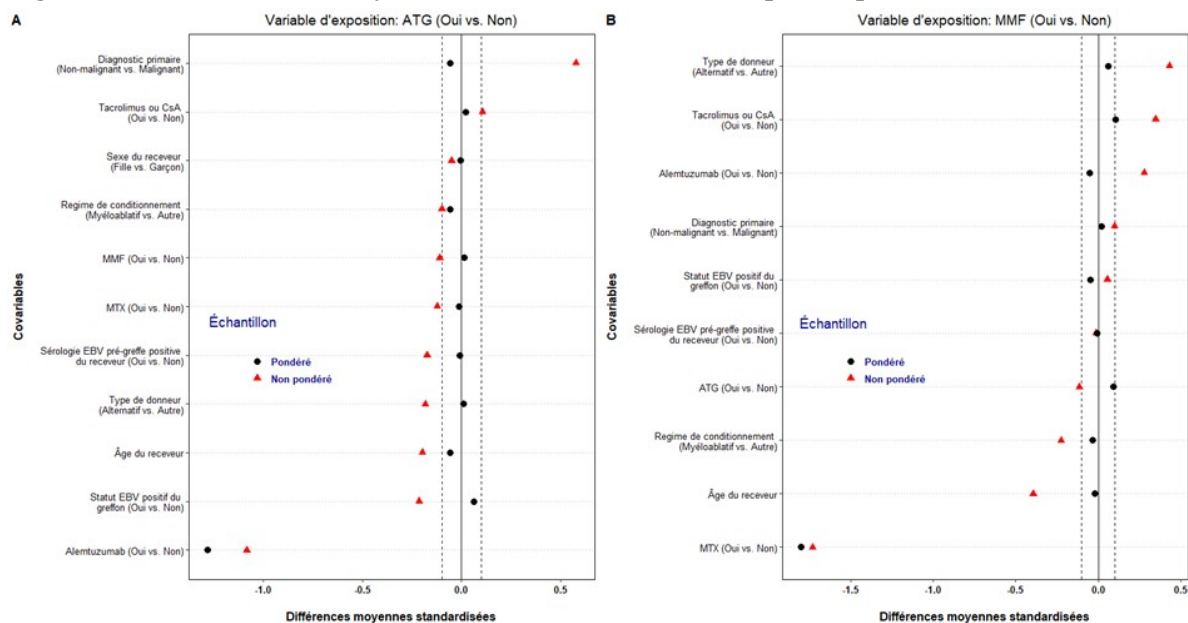
[‡]La variable « Site de l'étude » a été prise en compte dans tous les modèles pour les issues 1 et 2. Elle n'a pas été prise en compte dans les modèles pour l'issue 3 parce que l'événement d'intérêt a été très peu observé dans certains sites.

[±]The proportional hazards assumption assumption was not verified.

[§]La variable Alemtuzumab (Oui vs. Non) a été introduite dans le modèle car sa différence moyenne standardisée dans l'échantillon pondéré est >10%

[§]La variable Méthotrexate (Oui vs. Non) a été introduite dans le modèle car sa différence moyenne standardisée dans l'échantillon pondéré est >10%

Figure 1 : Différences des moyennes standardisées avant et après la pondération



ATG: globuline antithymocyte; CsA: cyclosporine A; hématopoïétiques; MMF: mycophénolate mofétil; MTX: methotrexate; VEB: virus d'Epstein-Barr

Tableau 4 : Différences moyennes standardisées avant et après la pondération

Variables	Variable d'exposition			
	ATG (Oui vs. Non)		MMF (Oui vs. Non)	
	DMS		DMS	
	Échantillon Non pondéré	Échantillon Pondéré	Échantillon Non pondéré	Échantillon Pondéré
Âge du receveur en année (Continue)	-0,197	-0,0559	-0,3929	-0,0184
Sexe du receveur (Féminin vs. Masculin)	-0,050	-0,0061	-0,0674	-0,0467
Diagnostic primaire (Maladie non maligne vs. Maligne)	0,576	-0,0566	0,0995	0,019
Statut sérologique VEB du receveur (Positif vs. Négatif)	-0,173	-0,0091	-0,0127	-0,0066
Statut VEB du greffon (Positif vs. Négatif)	-0,213	0,0634	0,0557	-0,0474
Régime de conditionnement (MAC vs. Autre)	-0,099	-0,0564	-0,2235	-0,0345
MTX (Yes vs. No)	-0,122	-0,0142	-1,7292	-1,7979
ATG (Oui vs. Non)	//	//	-0,1123	0,0933
MMF (Oui vs. Non)	-0,110	0,014	//	//
Tacrolimus ou CsA (Oui vs. Non)	0,105	0,0226	0,3471	0,1073

Tableau 4 : Différences moyennes standardisées avant et après la pondération

Variables	Variable d'exposition			
	ATG (Oui vs. Non)		MMF (Oui vs. Non)	
	DMS		DMS	
	Échantillon Non pondéré	Échantillon Pondéré	Échantillon Non pondéré	Échantillon Pondéré
Type de donneur (Alternatif vs. Apparié et apparenté)	-0,182	0,0085	0,4321	0,0623
Alemtuzumab (Oui vs. Non)	-1,081	-1,2777	0,2793	-0,0538

ATG: globuline antithymocyte; MAC: conditionnement myéloablatif; MMF: mycophénolate mofétil; DMS : différence moyenne standardisée; VEB : virus d'Epstein-Barr

4.2.2 Résultats de l'estimation du modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni

Les résultats qui ont été présentés dans l'article 3 ont été obtenus en utilisant le modèle de risque proportionnel de Cox. Ce modèle postule un effet multiplicatif des variables sur la fonction de risque. Bien que ce modèle soit communément utilisé, il n'est pas toujours trivial de justifier théoriquement la présence d'un effet multiplicatif d'une variable sur la fonction de risque. De plus, l'hypothèse fondamentale de ce modèle qui est la proportionnalité des risques au cours du temps n'est pas toujours vérifiée. Le modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni est une alternative dans le cas où l'hypothèse de la proportionnalité des risques n'est pas vérifiée car il permet d'analyser à la fois les variables ayant des effets changeant dans le temps et des variables ayant des effets fixes. Le Tableau 5 résume les résultats de l'estimation du modèle de McKeague et Sasieni pour les trois événements d'intérêt qui ont été considérés. De manière spécifique, il présente les résultats du test des effets non significatifs et du test des effets invariants dans le temps pour les variables avec un effet changeant dans le temps, ainsi que les coefficients de régression et leur intervalle de confiance à 95% pour les variables avec un effet invariant dans le temps.

Tableau 5 : Résultats de l'estimation des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni[‡]

Variable	Résultats des variables avec un effet changeant dans le temps						Résultats des variables avec un effet fixe dans le temps			
	Test des effets non significatifs de Scheike		Test des effets invariants dans le temps							
	Statistique de test	p	Statistique de test	p	Statistique de test	p	Coefficient	p	IC à 95%	
Issue 1 : Un test PCR VEB positif										
Sexe du receveur (Féminin vs. Masculin)	//	//	//	//	//	//	0,00072	0,37	-0,0008	0,0023
Âge du receveur en année (Continue)	//	//	//	//	//	//	0,00010	0,25	-0,0001	0,0003
Diagnostic primaire (maladie non maligne vs. Maligne)	//	//	//	//	//	//	-0,00275	0,05	-0,0055	0,0000
Statut sérologique VEB du receveur (Positif vs. Négatif)	//	//	//	//	//	//	0,00199	0,02	0,0004	0,0036
Statut VEB du greffon (Positif vs. Négatif)	6,86	0,00	0,74	0,00	83,20	0,00	//	//	//	//
Type de donneur (Alternatif vs. Apparié et apparenté)	//	//	//	//	//	//	0,00147	0,12	-0,0006	0,0036
Type de régime de conditionnement (MAC vs. Autre)	//	//	//	//	//	//	-0,00039	0,72	-0,0022	0,0014
ATG (Oui vs. Non)	4,71	0,00	1,02	0,00	212,00	0,00	//	//	//	//
Alemtuzumab (Oui vs. Non)	//	//	//	//	//	//	0,00093	0,57	-0,0023	0,0042
Tacrolimus vs. CsA[‡]	//	//	//	//	//	//	0,00163	0,29	-0,0018	0,0051
MMF (Oui vs. Non)	6,34	0,00	0,84	0,00	70,70	0,00	//	//	//	//
MTX (Yes vs. No)	//	//	//	//	//	//	0,00097	0,49	-0,0018	0,0037
Issue 2 : Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2ème test $\geq 0,5 \log_{10}$										
Sexe du receveur (Féminin vs. Masculin)	2,78	0,06	0,15	0,04	1,53	0,06	//	//	//	//
Âge du receveur en année (Continue)	//	//	//	//	//	//	0,00001	0,80	-0,0001	0,0001
Diagnostic primaire (maladie non maligne vs. Maligne)	//	//	//	//	//	//	-0,00063	0,45	-0,0021	0,0009
Statut sérologique VEB du receveur (Positif vs. Négatif)	//	//	//	//	//	//	0,00125	0,01	0,0004	0,0021
Statut VEB du greffon (Positif vs. Négatif)	//	//	//	//	//	//	-0,00012	0,84	-0,0012	0,0010
Type de donneur (Alternatif vs. Apparié et apparenté)	//	//	//	//	//	//	0,00132	0,02	0,0002	0,0024
Type de régime de conditionnement (MAC vs. Autre)	//	//	//	//	//	//	0,00002	0,97	-0,0012	0,0012
ATG (Oui vs. Non)	//	//	//	//	//	//	0,00257	0,00	0,0010	0,0041
Alemtuzumab (Oui vs. Non)	//	//	//	//	//	//	0,00094	0,33	-0,0008	0,0026
Tacrolimus vs. CsA[‡]	//	//	//	//	//	//	0,00213	0,06	0,0001	0,0042
MMF (Oui vs. Non)	4,38	0,00	0,18	0,00	3,45	0,00	//	//	//	//
MTX (Yes vs. No)	//	//	//	//	//	//	0,00024	0,74	-0,0012	0,0017
Issue 3 : Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab										
Sexe du receveur (Féminin vs. Masculin)	//	//	//	//	//	//	0,00068	0,04	0,0000	0,0013

Tableau 5 : Résultats de l'estimation des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni[‡]

Variable	Résultats des variables avec un effet changeant dans le temps						Résultats des variables avec un effet fixe dans le temps			
	Test des effets non significatifs de Scheike		Test des effets invariants dans le temps							
			Test de Kolgomorov		Test de Cramer Von Mises					
	Statistique de test	p	Statistique de test	p	Statistique de test	p	Coefficient	p	IC à 95%	
Âge du receveur en année (Continue)	//	//	//	//	//	//	0,00003	0,40	0,0000	0,0001
Diagnostic primaire (maladie non maligne vs. Maligne)	//	//	//	//	//	//	-0,00066	0,23	-0,0018	0,0005
Statut sérologique VEB du receveur (Positif vs. Négatif)	//	//	//	//	//	//	0,00054	0,07	0,0000	0,0011
Statut VEB du greffon (Positif vs. Négatif)	//	//	//	//	//	//	0,00065	0,06	0,0000	0,0013
Type de donneur (Alternatif vs. Apparié et apparenté)	2,71	0,05	0,11	0,04	1,12	0,01	//	//	//	//
Type de régime de conditionnement (MAC vs. Autre)	//	//	//	//	//	//	-0,00007	0,84	-0,0007	0,0006
ATG (Oui vs. Non)	3,06	0,02	0,12	0,01	0,68	0,03	//	//	//	//
Alemtuzumab (Oui vs. Non)	//	//	//	//	//	//	0,00058	0,35	-0,0006	0,0018
Tacrolimus vs. CsA[†]	//	//	//	//	//	//	0,00008	0,85	-0,0007	0,0009
MMF (Oui vs. Non)	3,58	0,00	0,11	0,01	0,73	0,01	//	//	//	//
MTX (Yes vs. No)	//	//	//	//	//	//	-0,00044	0,41	-0,0015	0,0006

[‡] La variable « Site de l'étude » a été prise en compte dans tous les modèles pour les issues 1 et 2. Elle n'a pas été prise en compte dans les modèles pour l'issue 3 parce que l'événement d'intérêt a été très peu observé dans certains sites.

ATG: globuline antithymocyte; CsA: cyclosporine A; CV-VEB : charge virale du virus d'Epstein-Barr; GCSH: greffe de cellules souches hématopoïétiques; IC: intervalle de confiance; MAC: conditionnement myéloablatif; MMF: mycophénolate mofétil; MTX: méthotrexate; NA: non applicable; PCR: réaction en chaîne par polymérase; SLPT: syndrome lymphoprolifératif post-transplantation.

[†] Les estimations concernaient les 139 patients qui ont reçu de manière exclusive le tacrolimus ou la cyclosporine A.

//: Non applicable

Il y ressort que pour l'issue 1 (un test PCR VEB positif) trois variables ont un effet changeant significativement au cours du temps. Il s'agit du statut VEB du greffon, l'utilisation de l'ATG et l'utilisation du MMF. S'agissant du statut VEB du greffon et l'utilisation du MMF, ces résultats étaient prévisibles car ces variables ne vérifiaient pas l'hypothèse de la proportionnalité des risques. Par ailleurs, ces trois variables ont chacune un effet significatif sur le risque de l'évènement d'intérêt comme l'illustre les résultats du test des effets non significatifs de Scheike (Tableau 2). En outre, les fonctions de régression cumulative consignées dans la Figure 2 montrent une augmentation du risque d'ADNémie VEB liée à la réception d'un greffon positif au VEB ou chez les patients qui ont reçu l'ATG. L'effet de chacune de ces variables sur l'évènement d'intérêt semble être plus prononcé dans la fenêtre des 100 premiers jours post-greffe qui représente la période où l'augmentation la plus soutenue est observée. En revanche, une diminution du risque de

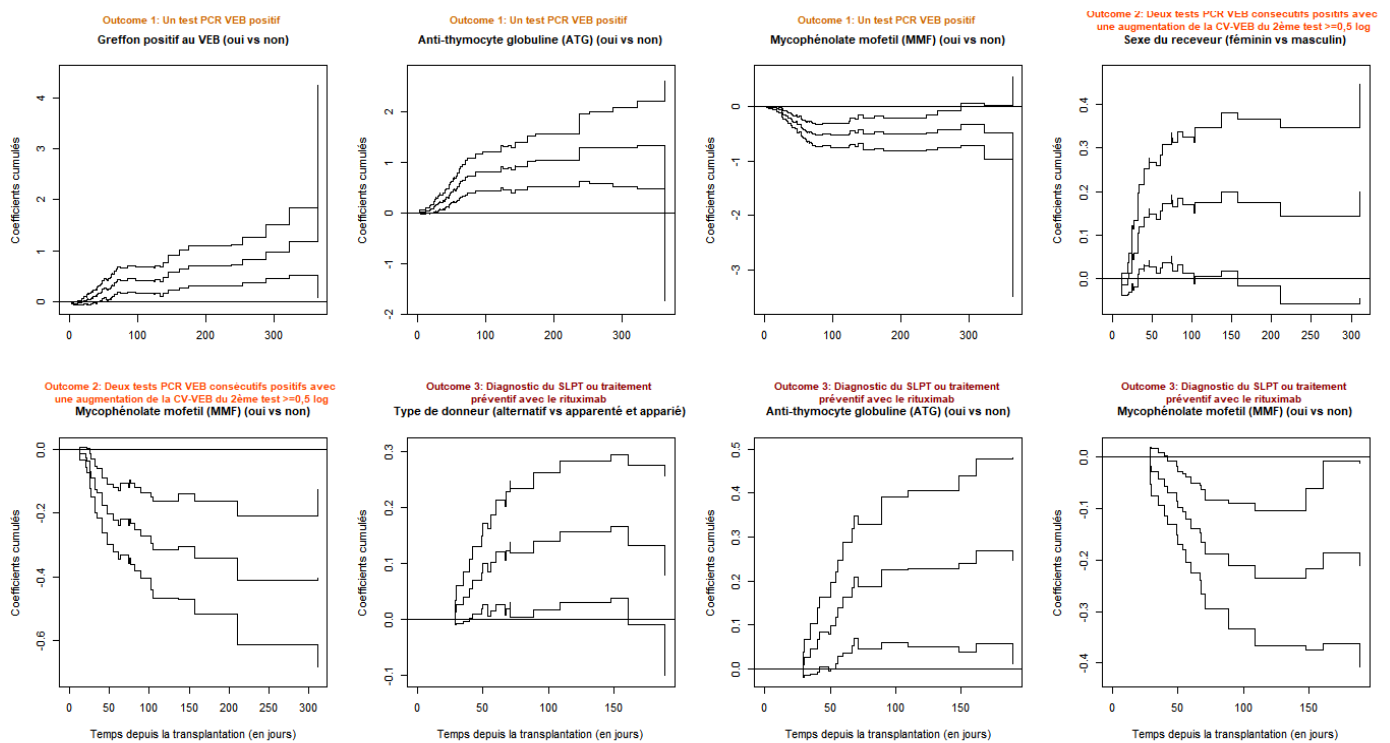
cet évènement est observée chez les patients qui ont reçu le MMF. Cette baisse du risque de l'évènement d'intérêt est nettement plus marquée dans l'intervalle des 100 premiers jours post-greffe. Ces résultats sont similaires à ceux qui ont été obtenus avec le modèle de Cox. Parmi les variables à effets fixes dans le temps, il n'y a que la sérologie VEB du receveur avant la greffe qui était significativement associée au risque de l'évènement d'intérêt. Cette dernière association a également été mise en exergue par le modèle de Cox. Il y a donc une convergence des résultats des deux approches de modélisation en ce qui concerne les facteurs associés à l'issue 1.

Pour ce qui est de l'issue 2 (deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2^{ème} test $\geq 0,5 \log_{10}$), le sexe biologique du receveur et l'utilisation du MMF sont les deux variables qui ont un effet changeant significativement au cours du temps. Ce constat n'est pas surprenant pour la variable MMF car elle ne vérifiait pas l'hypothèse de la proportionnalité des risques. Par ailleurs les résultats du test des effets non significatifs de Scheike ont mis en relief un effet significatif de l'utilisation du MMF sur la fonction de risque. Cet effet est illustré par la Figure 1 qui montre que le risque de l'évènement d'intérêt diminue au cours du temps, et principalement dans la fenêtre des 100 premiers jours post-transplantation, chez les patients qui ont reçu cet immunosuppresseur. Concernant la variable sexe biologique du receveur, le test de Scheike corrobore la significativité de son effet sur l'évènement d'intérêt au seuil de signification de 10% mais pas au seuil de 5%. La Figure 2 met en évidence une augmentation significative du risque de l'évènement d'intérêt liée à cette variable approximativement dans l'intervalle 30-100 jours post-transplantation. Dans le groupe des variables ayant un effet fixe au cours du temps, la sérologie VEB de receveur, l'utilisation de l'ATG et le type de donneur sont celles qui ont présenté un effet significatif sur le risque de l'évènement d'intérêt. Ces résultats sont dans la même veine que ceux qui ont été obtenus en utilisant le modèle de Cox. Soulignons toutefois qu'avec le modèle de Cox l'association entre le type de donneur et l'évènement d'intérêt était significative au seuil de 10%.

Pour ce qui est de l'issue 3 (diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab), il y a trois variables qui ont un effet qui change au cours du temps à savoir : le type de donneur, l'utilisation de l'ATG et l'utilisation du MMF. Toutes ces variables ont par ailleurs chacune un effet significatif sur la fonction de risque de l'évènement d'intérêt. Ces effets sont mis en évidence par la Figure 2 qui montre que l'augmentation du risque de l'évènement d'intérêt liée à la réception d'une greffe d'un donneur alternatif ou l'utilisation l'ATG s'observe approximativement entre le 40^{ème} et le 75^{ème} jour post-transplantation. Quant à la diminution du risque de l'évènement d'intérêt

due à l'utilisation du MMF, celle-ci est effective approximativement entre le 50^{ème} et le 100^{ème} jour post-transplantation. Par ailleurs, la variable sexe biologique du receveur de greffe a été la seule variable ayant un effet invariant dans le temps qui était significativement associée à l'évènement d'intérêt. L'on note une similitude entre ces résultats et ceux qui ont été obtenus en utilisant le modèle de Cox. Rappelons néanmoins que le résultat du modèle de Cox concernant l'association entre le type de donneur et l'évènement d'intérêt était significatif au seuil de 10%.

Figure 2 : Fonctions de régression cumulatives estimées avec leurs intervalles de confiance point-par-point à 95% des variables avec des effets variant dans le temps, obtenus en utilisant le modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni



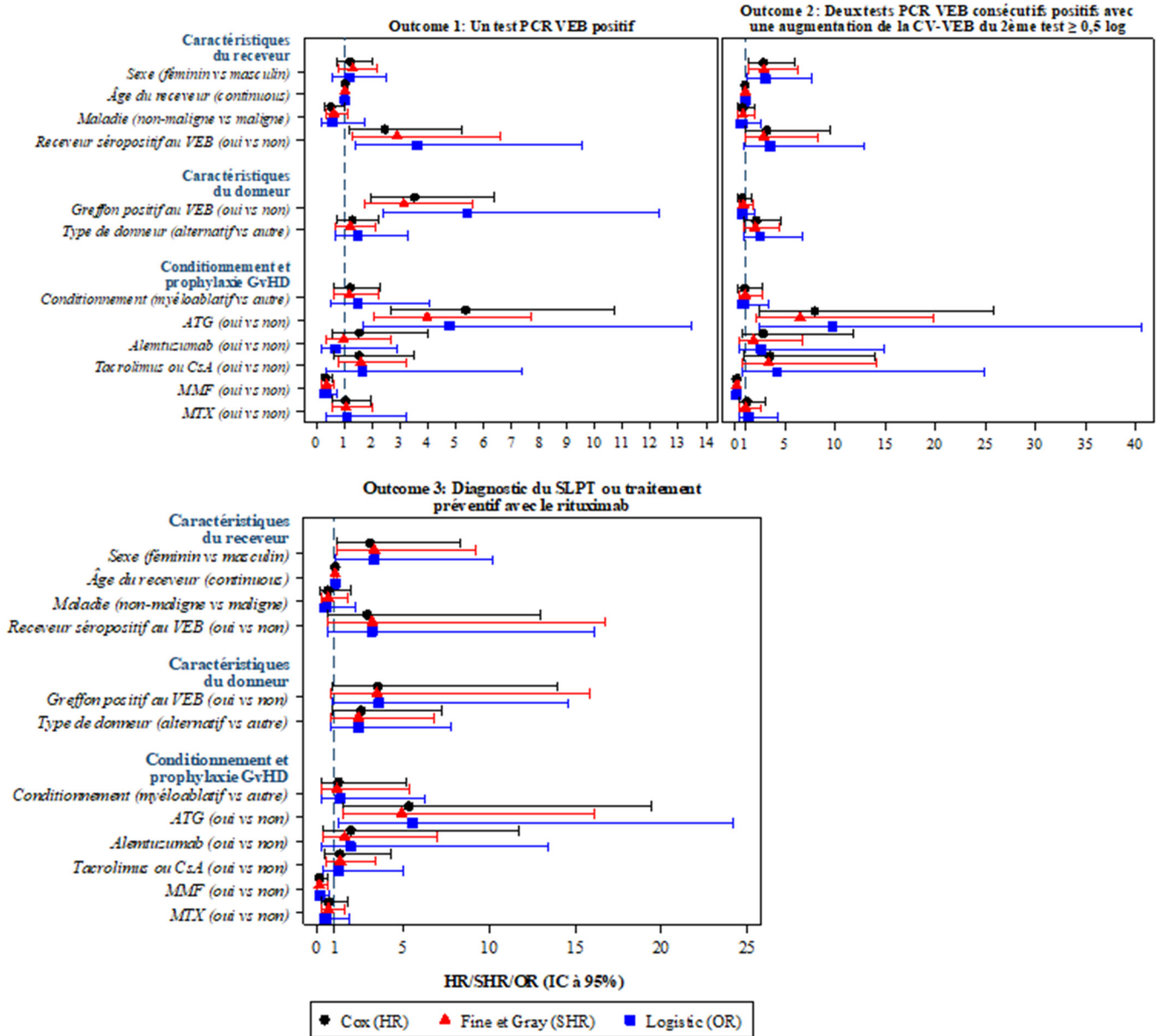
ATG : globuline antithymocyte; CV-VEB : charge virale sanguine du virus d'Epstein-Barr; MMF : mycophénolate mofétil; PCR : réaction en chaîne par polymérase; SLPT : syndrome lymphoprolifératif post-transplantation.

4.2.3 Résultats des estimations du modèle de Cox, du modèle de risque compétitif de Fine et Gray, et de la régression logistique

Il est ressorti de la revue de la littérature que nous avons réalisée que les trois modèles statistiques qui ont été les plus utilisés pour examiner les facteurs de risque de l'ADNémie VEB et du SLPT sont le modèle de risque proportionnel de Cox, le modèle de risque compétitif de Fine et

Gray ainsi que la régression logistique. Nous avons utilisé ces trois modèles pour explorer les facteurs de risque des trois évènements ci-après : (1) Un test PCR VEB positif, (2) Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2^{ème} test $\geq 0,5 \log_{10}$ et (3) Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab. Pour chacun de ces évènements, les trois modèles ont identifié exactement les mêmes facteurs de risque. Les estimés ponctuels de risque qui ont été obtenus avec les trois modèles sont relativement proches (Figure 3).

Figure 3 : Estimations ajustées des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle de Cox, le modèle de risque compétitif de Fine et Gray et la régression logistique



ATG: globuline antithymocyte; CsA: cyclosporine A; CV-VEB : charge virale du virus d'Epstein-Barr; GCSH: greffe de cellules souches hématopoïétiques; HR : hazard ratio; IC: intervalle de confiance; MAC: conditionnement myéloablatif; MMF: mycophénolate mofétil; MTX: méthotrexate; NA: non applicable; OR : odds ratio; PCR: réaction en chaîne par polymérase; SHR: subhazard ratio; SLPT: syndrome lymphoprolifératif post-transplantation.

L'on observe que plus la fréquence de l'évènement est faible plus cette proximité est prononcée. Ce constat est cohérent avec le postulat suivant lequel le rapport de cotes (odds ratio)

est un bon estimateur du risque relatif lorsque le phénomène étudié est "rare". En outre, l'on observe également que les estimations réalisées avec la régression logistique sont dans la majorité des cas les moins précises que celles obtenues avec les deux autres modèles.

Tableau 6 : Estimations ajustées des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle de risque compétitif de Fine et Gray et la régression logistique ‡

VARIABLES	Modèle de risque compétitif de Fine et Gray				Régression logistique	
	Issue 1 : Un test PCR VEB positif	Issue 2 : Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2 ^{ème} test \geq 0,5	Issue 3 : Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab	Issue 1 : Un test PCR VEB positif	Issue 2 : Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2 ^{ème} test \geq 0,5	Issue 3 : Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab
		SHR (IC à 95%)	SHR (IC à 95%)		SHR (IC à 95%)	OR (IC à 95%)
Sexe du receveur (Féminin vs. Masculin)	1,31 (0,79 - 2,17)	2,88*** (1,34 - 6,19)	3,31** (1,19 - 9,24)	1,18 (0,55 - 2,52)	3,02** (1,19 - 7,67)	3,33** (1,08 - 10,24)
Âge du receveur en année (Continue)	1,03 (0,98 - 1,07)	1,01 (0,96 - 1,06)	1,04 (0,96 - 1,12)	1,02 (0,96 - 1,09)	1,01 (0,94 - 1,09)	1,04 (0,95 - 1,13)
Diagnostic primaire (maladie non maligne vs. Maligne)	0,63 (0,35 - 1,13)	0,80 (0,33 - 1,92)	0,64 (0,22 - 1,82)	0,58 (0,19 - 1,75)	0,71 (0,19 - 2,63)	0,56 (0,14 - 2,24)
Statut sérologique VEB du receveur (Positif vs. Négatif)	2,90** (1,27 - 6,62)	2,86* (0,98 - 8,32)	3,18 (0,61 - 16,71)	3,62*** (1,38 - 9,51)	3,50* (0,95 - 12,94)	3,18 (0,63 - 16,13)
Statut VEB du greffon (Positif vs. Négatif)	3,14*** (1,76 - 5,60)	0,85 (0,40 - 1,82)	3,47 (0,76 - 15,85)	5,43*** (2,40 - 12,30)	0,73 (0,26 - 2,00)	3,58* (0,88 - 14,57)
Type de donneur (Alternatif vs. Apparié et apparenté)	1,22 (0,70 - 2,12)	2,03* (0,92 - 4,50)	2,38 (0,84 - 6,78)	1,50 (0,69 - 3,29)	2,47* (0,92 - 6,67)	2,42 (0,75 - 7,82)
Type de régime de conditionnement (MAC vs. Autre)	1,18 (0,63 - 2,24)	1,00 (0,36 - 2,75)	1,15 (0,25 - 5,36)	1,49 (0,54 - 4,08)	0,93 (0,25 - 3,41)	1,33 (0,28 - 6,25)
ATG (Oui vs. Non)	3,98*** (2,05 - 7,74)	6,51*** (2,13 - 19,87)	4,90*** (1,49 - 16,14)	4,79*** (1,70 - 13,50)	9,75*** (2,35 - 40,49)	5,51** (1,25 - 24,19)
Alemtuzumab (Oui vs. Non)	0,98 (0,36 - 2,66)	1,83 (0,50 - 6,74)	1,60 (0,36 - 7,00)	0,68 (0,16 - 2,88)	2,60 (0,45 - 14,93)	1,92 (0,27 - 13,45)
Tacrolimus vs. CsA‡	1,59 (0,79 - 3,21)	3,37* (0,80 - 14,10)	1,34 (0,53 - 3,42)	1,66 (0,37 - 7,36)	4,16 (0,70 - 24,80)	1,26 (0,32 - 5,01)
MMF (Oui vs. Non)	0,36*** (0,21 - 0,63)	0,15*** (0,05 - 0,43)	0,13*** (0,03 - 0,59)	0,35*** (0,16 - 0,77)	0,13*** (0,04 - 0,45)	0,13** (0,02 - 0,67)
MTX (Yes vs. No)	1,07 (0,57 - 2,00)	1,05 (0,44 - 2,50)	0,65 (0,26 - 1,63)	1,11 (0,38 - 3,24)	1,30 (0,39 - 4,32)	0,56 (0,17 - 1,88)

* p<0.1; ** p<0.05; *** p<0.01

‡ La variable « Site de l'étude » a été prise en compte dans tous les modèles pour les issues 1 et 2. Elle n'a pas été prise en compte dans les modèles pour l'issue 3 parce que l'événement d'intérêt a été très peu observé dans certains sites.

ATG : globuline antithymocyte globuline; CsA : cyclosporine A; CV-VEB : charge virale du virus d'Epstein-Barr; GCSH : greffe de cellules souches hématopoïétiques; IC : intervalle de confiance; MAC : conditionnement myéloablatif; MMF : mycophénolate mofétil; MTX : méthotrexate; NA :

Tableau 6 : Estimations ajustées des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenues en utilisant le modèle de risque compétitif de Fine et Gray et la régression logistique ‡

VARIABLES	Modèle de risque compétitif de Fine et Gray				Régression logistique	
	Issue 1 : Un test PCR VEB positif	Issue 2 : Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2 ^{ème} test \geq 0,5 log ₁₀	Issue 3 : Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab	Issue 1 : Un test PCR VEB positif	Issue 2 : Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2 ^{ème} test \geq 0,5 log ₁₀	Issue 3 : Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab
	SHR (IC à 95%)	SHR (IC à 95%)	SHR (IC à 95%)	OR (IC à 95%)	OR (IC à 95%)	OR (IC à 95%)

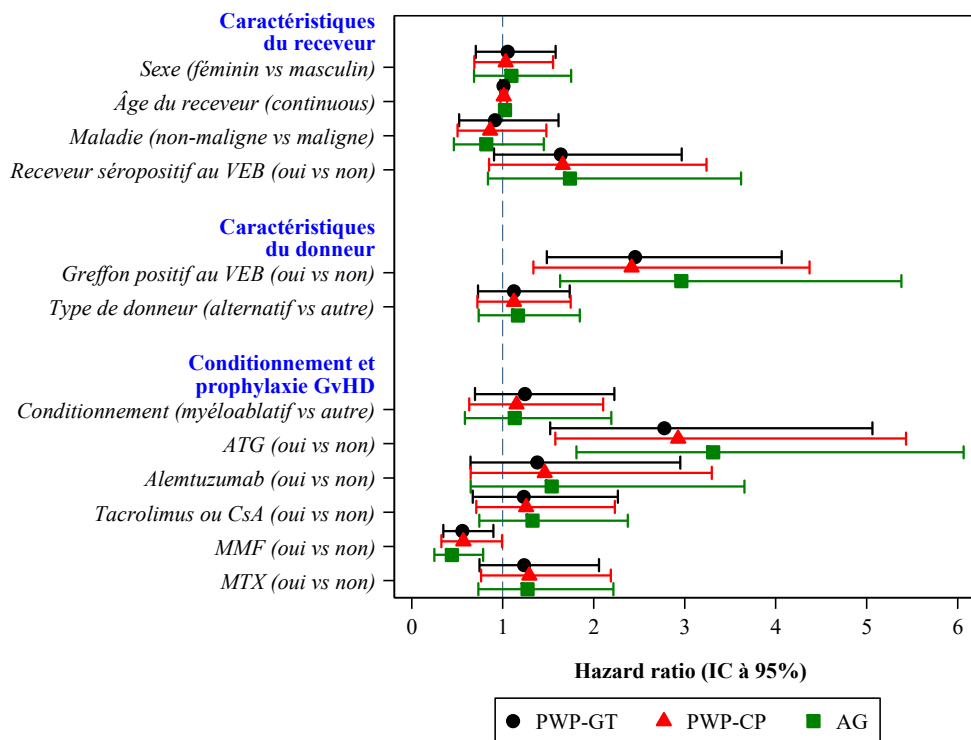
non applicable; OR : odds ratio; PCR : réaction en chaîne par polymérase; SHR : subhazard ratio; SLPT : syndrome lymphoprolifératif post-transplantation.

‡ Les estimations concernaient les 139 patients qui ont reçu de manière exclusive le tacrolimus ou la cyclosporine A.

4.2.4 Résultats des estimations du modèle d'Andersen-Gill (AG) et du modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré selon le processus de comptage (PWP-CP)

Dans l'article 3, le modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré par intervalles (PWP-GT) a été utilisé pour identifier les facteurs associés à la récurrence de l'ADNémie VEB. La Figure 4 montre que les résultats obtenus avec ce modèle sont globalement similaires à ceux produits en utilisant les modèles PWP-CP et AG. La similitude des résultats des modèles PWP-GT et PWP-CP permet de postuler que le choix de l'échelle de temps n'a pas eu une grande influence par rapport au phénomène étudié. Par ailleurs, pour le modèle AG le risque de base est commun pour tous les événements tandis que pour les modèles PWP le risque de base est spécifique à chaque événement. Ces considérations semblent ne pas avoir eu un effet significatif sur les résultats.

Figure 4 : Estimations ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque de la récurrence de l'ADNémie VEB post-greffe chez les patients pédiatriques GCSH obtenues en utilisant le modèle d'AG, le modèle de PWP-CP et le modèle PWP-GT



AG : modèle d'Andersen-Gill; ATG : globuline antithymocyte; CsA : cyclosporine A; GCSH : greffe de cellules souches hématopoïétiques; HR : hazard ratio; IC : intervalle de confiance; MMF : mycophénolate mofétile; MTX : méthotrexate; NA : non applicable; PWP-CP : modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré selon le processus de comptage; PWP-GT : modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré par intervalles; VEB : virus d'Epstein-Barr.

Tableau 7 : Estimations brutes et ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque de la récurrence de l'ADNémie VEB post-greffe chez les patients pédiatriques GCSH obtenues en utilisant le modèle d'AG et le modèle de PWP-CP

VARIABLES	AG [‡]		(PWP-CP) [‡]	
	Brute HR (IC à 95%)	Ajusté HR (IC à 95%)	Brute HR (IC à 95%)	Ajusté HR (IC à 95%)
Sexe du receveur (Féminin vs. Masculin)	1,29 (0,80 - 2,09)	1,10 (0,68 - 1,75)	1,13 (0,75 - 1,71)	1,03 (0,69 - 1,55)
Âge du receveur en année (Continue)	1,04 (0,99 - 1,08)	1,02 (0,98 - 1,07)	1,03 (0,99 - 1,06)	1,01 (0,97 - 1,05)
Diagnostic primaire (maladie non maligne vs. Maligne)	1,41 (0,86 - 2,32)	0,82 (0,46 - 1,45)	1,29 (0,85 - 1,95)	0,86 (0,50 - 1,48)
Statut sérologique VEB du receveur (Positif vs. Négatif)	2,21** (1,11 - 4,40)	1,74 (0,84 - 3,62)	1,98** (1,10 - 3,56)	1,66 (0,85 - 3,24)
Statut VEB du greffon (Positif vs. Négatif)	2,97***	2,96***	2,31***	2,42***

Tableau 7 : Estimations brutes et ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque de la récurrence de l'ADNémie VEB post-greffe chez les patients pédiatriques GCSH obtenues en utilisant le modèle d'AG et le modèle de PWP-CP

VARIABLES	AG [‡]		(PWP-CP) [‡]	
	Brute	Ajusté	Brute	Ajusté
	HR (IC à 95%)	HR (IC à 95%)	HR (IC à 95%)	HR (IC à 95%)
	(1,73 - 5,11)	(1,63 - 5,38)	(1,39 - 3,84)	(1,34 - 4,37)
Type de donneur (Alternatif vs. Apparié et apparenté)	0,94 (0,56 - 1,57)	1,17 (0,74 - 1,85)	0,92 (0,60 - 1,42)	1,12 (0,72 - 1,75)
Régime de conditionnement (MAC vs. Autre)	0,77 (0,46 - 1,28)	1,13 (0,58 - 2,19)	0,86 (0,56 - 1,33)	1,15 (0,63 - 2,10)
ATG (Oui vs. Non)	2,09*** (1,28 - 3,39)	3,31*** (1,81 - 6,06)	1,71** (1,10 - 2,65)	2,93*** (1,58 - 5,43)
Alemtuzumab (Oui vs. Non)	0,99 (0,54 - 1,79)	1,54 (0,65 - 3,66)	0,97 (0,60 - 1,57)	1,46 (0,65 - 3,30)
Tacrolimus vs. CsA[†]	2,03*** (1,24 - 3,34)	1,33 (0,74 - 2,37)	1,85*** (1,20 - 2,83)	1,26 (0,71 - 2,23)
MMF (Oui vs. Non)	0,41*** (0,23 - 0,73)	0,44*** (0,25 - 0,78)	0,54** (0,31 - 0,94)	0,57** (0,32 - 0,99)
MTX (Yes vs. No)	1,73** (1,06 - 2,81)	1,27 (0,73 - 2,21)	1,54** (1,01 - 2,35)	1,29 (0,76 - 2,19)

* p<0.1; ** p<0.05; *** p<0.01

ATG : globuline antithymocyte; CsA : cyclosporine A; VEB : virus d'Epstein-Barr; GCSH : greffe de cellules souches hématopoïétiques; HR : hazard ratio; IC : intervalle de confiance; MAC : conditionnement myéloablatif; MMF : mycophénolate mofétil; MTX : méthotrexate; NA : non applicable;

[†] Les estimations concernaient les 139 patients qui ont reçu de manière exclusive le tacrolimus ou la cyclosporine A.

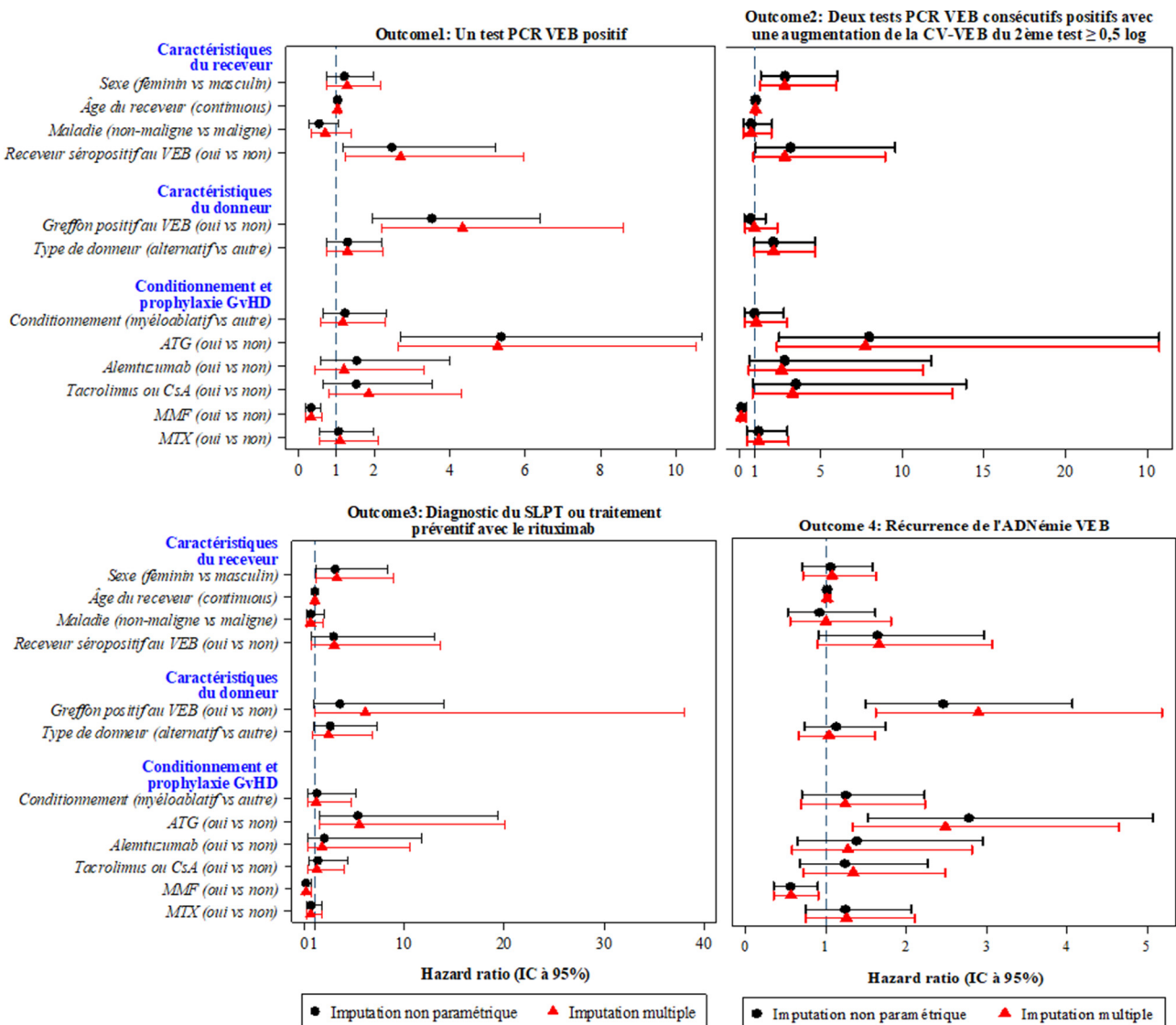
[‡] La variable "Site de l'étude" a été considérée dans tous les modèles.

4.2.5 Résultats des estimations avec les données manquantes remplacées par la méthode d'imputation multiple par équations chaînées

Dans le cadre des analyses réalisées pour l'article 3, deux variables présentaient les données manquantes à savoir le statut sérologique VEB du receveur avant la transplantation (8,3%) et la statut VEB du greffon (19,9%). Chaque observation manquante a été remplacée par une valeur unique en utilisant une méthode d'imputation non-paramétrique. En guise d'analyse de sensibilité nous présentons ici les résultats obtenus lorsque les données manquantes sont substituées en utilisant la méthode d'imputation multiple par équations chaînées. Il découle de la Figure 5 que les deux méthodes d'imputation produisent des résultats quasiment similaires. La plus grande déviation a été observée pour la variable statut VEB du greffon qui se caractérise par des intervalles de confiance à 95% plus larges lorsque les données manquantes sont remplacées par la méthode d'imputation multiple par équations chaînées. Cette différence s'explique par le fait que la variabilité liée aux données manquantes est prise en compte dans le calcul de variance de l'estimé d'intérêt dans le cas de l'imputation multiple. Cette variabilité n'est pas considérée lorsqu'on

impute chaque observation manquante par une valeur unique. Ainsi, en remplaçant chaque observation manquante par une valeur unique nous avons minimisé artificiellement la variance de l'estimé d'intérêt car l'imputation permet d'augmenter la taille de l'échantillon, qui joue le rôle de dénominateur dans le calcul de la variance.

Figure 5 : Estimations ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque des évènements VEB post-greffe chez les patients pédiatriques GCSH selon la méthode d'imputation des données manquantes utilisée



ATG : globuline antithymocyte; CsA : cyclosporine A; VEB : virus d'Epstein-Barr; CV-VEB : charge virale sanguine VEB; GCSH : greffe de cellules souches hématopoïétiques; HR : hazard ratio; IC : intervalle de confiance; MMF : mycophénolate mofétil; MTX : méthotrexate; PCR : réaction en chaîne par polymérase; SLPT : syndrome lymphoprolifératif post-transplantation.

Tableau 8 : Estimations ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque des événements VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH pédiatriques obtenus par le modèle de risque proportionnel de Cox selon la méthode d'imputation des données manquantes considérées[‡]

VARIABLES	Imputation simple (méthode non paramétrique)			Imputation multiple		
		<u>Issue 2 :</u> Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2 ^{ème} test $\geq 0,5 \log_{10}$	<u>Issue 3 :</u> Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab		<u>Issue 2 :</u> Deux tests PCR VEB consécutifs positifs avec une augmentation de la CV-VEB du 2 ^{ème} test $\geq 0,5 \log_{10}$	<u>Issue 3 :</u> Diagnostic du SLPT ou traitement préventif avec le rituximab
	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)	HR (95%CI)
Sexe du receveur (Féminin vs. Masculin)	1,21 (0,74 - 1,99)	2,83*** (1,33 - 6,03)	3,08** (1,14 - 8,30)	1,28 (0,75 - 2,18)	2,80*** (1,31 - 5,98)	3,23** (1,17 - 8,90)
Âge du receveur en année (Continue)	1,03 (0,98 - 1,08)	1,01 (0,94 - 1,08)	1,04 (0,96 - 1,13)	1,03 (0,98 - 1,08)	1,01 (0,94 - 1,08)	1,04 (0,96 - 1,13)
Diagnostic primaire (maladie non maligne vs. Maligne)	0,54* (0,28 - 1,03)	0,76 (0,28 - 2,03)	0,62 (0,20 - 1,95)	0,70 (0,35 - 1,40)	0,74 (0,28 - 1,99)	0,61 (0,19 - 1,92)
Statut sérologique VEB du receveur (Positif vs. Négatif)	2,47** (1,17 - 5,21)	3,16** (1,04 - 9,57)	2,91 (0,65 - 12,96)	2,70** (1,23 - 5,93)	2,80* (0,88 - 8,94)	2,98 (0,66 - 13,55)
Statut VEB du greffon (Positif vs. Négatif)	3,53*** (1,95 - 6,38)	0,73 (0,33 - 1,62)	3,54* (0,90 - 13,97)	4,34*** (2,19 - 8,58)	0,94 (0,38 - 2,35)	6,09* (0,98 - 37,70)
Type de donneur (Alternatif vs. Apparié et apparenté)	1,29 (0,75 - 2,21)	2,11* (0,96 - 4,65)	2,57* (0,91 - 7,27)	1,29 (0,75 - 2,22)	2,12* (0,96 - 4,67)	2,39 (0,84 - 6,84)
Régime de conditionnement (MAC vs. Autre)	1,22 (0,65 - 2,31)	0,96 (0,34 - 2,73)	1,24 (0,30 - 5,15)	1,17 (0,59 - 2,30)	1,06 (0,38 - 2,91)	1,17 (0,29 - 4,71)
ATG (Oui vs. Non)	5,36*** (2,69 - 10,69)	7,97*** (2,47 - 25,73)	5,33** (1,47 - 19,40)	5,27*** (2,64 - 10,51)	7,74*** (2,33 - 25,73)	5,47** (1,50 - 20,02)
Alemtuzumab (Oui vs. Non)	1,54 (0,59 - 3,99)	2,80 (0,66 - 11,77)	1,97 (0,33 - 11,71)	1,20 (0,43 - 3,33)	2,61 (0,61 - 11,27)	1,75 (0,29 - 10,50)
Tacrolimus vs. CsA[‡]	1,53 (0,66 - 3,53)	3,48* (0,87 - 13,89)	1,33 (0,41 - 4,28)	1,85 (0,80 - 4,31)	3,29* (0,83 - 13,08)	1,24 (0,39 - 4,00)
MMF (Oui vs. Non)	0,33*** (0,18 - 0,60)	0,15*** (0,05 - 0,45)	0,13** (0,03 - 0,63)	0,33*** (0,18 - 0,60)	0,15*** (0,05 - 0,45)	0,15** (0,03 - 0,69)
MTX (Yes vs. No)	1,05 (0,56 - 1,97)	1,20 (0,48 - 2,98)	0,67 (0,25 - 1,78)	1,09 (0,57 - 2,11)	1,22 (0,48 - 3,05)	0,62 (0,23 - 1,71)

* p<0.1; ** p<0.05; *** p<0.01

[‡]La variable « Site de l'étude » a été prise en compte dans tous les modèles pour les issues 1 et 2. Elle n'a pas été prise en compte dans les modèles pour l'issue 3 parce que l'événement d'intérêt a été très peu observé dans certains sites.

ATG : globuline antithymocyte; CsA : cyclosporine A; CV-VEB : charge virale du virus d'Epstein-Barr; GCSH : greffe de cellules souches hématopoïétiques; HR : hazard ratio; IC : intervalle de confiance; MAC : conditionnement myéloablatif; MMF : mycophénolate mofétil; MTX : méthotrexate; NA : non applicable; OR : odds ratio; PCR : réaction en chaîne par polymérase; SLPT : syndrome lymphoprolifératif post-transplantation.

[†]Les estimations concernaient les 139 patients qui ont reçu de manière exclusive le tacrolimus ou la cyclosporine A.

Tableau 9 : Estimations brutes et ajustées des HR et IC à 95% des potentiels facteurs de risque de la récurrence de l'ADNémie VEB post-greffe chez les patients pédiatriques GCSH obtenues en utilisant le modèle de Prentice-Williams-Petersen avec échelle de temps par intervalles (PWP-GT) ‡

VARIABLES	Méthode d'imputation des données manquantes	
	Imputation simple	Imputation multiple
	HR (IC à 95%)	HR (IC à 95%)
Sexe du receveur (Féminin vs. Masculin)	1,05 (0,70 - 1,58)	1,07 (0,71 - 1,62)
Âge du receveur en année (Continue)	1,01 (0,97 - 1,05)	1,01 (0,97 - 1,05)
Diagnostic primaire (maladie non maligne vs. Maligne)	0,92 (0,52 - 1,61)	1,00 (0,55 - 1,81)
Statut sérologique VEB du receveur (Positif vs. Négatif)	1,64 (0,90 - 2,97)	1,66 (0,89 - 3,07)
Statut VEB du greffon (Positif vs. Négatif)	2,46*** (1,48 - 4,07)	2,89*** (1,62 - 5,18)
Type de donneur (Alternatif vs. Apparié et apparenté)	1,12 (0,73 - 1,74)	1,04 (0,66 - 1,61)
Régime de conditionnement (MAC vs. Autre)	1,24 (0,70 - 2,23)	1,24 (0,69 - 2,23)
ATG (Oui vs. Non)	2,78*** (1,52 - 5,06)	2,48*** (1,33 - 4,65)
Alemtuzumab (Oui vs. Non)	1,38 (0,65 - 2,95)	1,27 (0,57 - 2,82)
Tacrolimus vs. CsA †	1,23 (0,67 - 2,27)	1,34 (0,72 - 2,48)
MMF (Oui vs. Non)	0,56** (0,35 - 0,90)	0,56** (0,35 - 0,90)
MTX (Yes vs. No)	1,24 (0,74 - 2,06)	1,25 (0,74 - 2,11)

* p<0.1; ** p<0.05; *** p<0.01

ATG : globuline anti-thymocyte; CsA : cyclosporine A; VEB : virus d'Epstein-Barr; GCSH : greffe de cellules souches hématopoïétiques; HR : hazard ratio; IC : intervalle de confiance; MAC : conditionnement myéloablatif; MMF : mycophénolate mofétil; MTX : méthotrexate; NA : non applicable;

† Les estimations concernaient les 139 patients qui ont reçu de manière exclusive le tacrolimus ou la cyclosporine A.

‡ La variable "Site de l'étude" a été considérée dans tous les modèles.

4.2.6 Conclusions des résultats supplémentaires

En conclusion, nous avons présenté dans ce chapitre des résultats obtenus avec les méthodes statistiques alternatives à celles qui ont été proposées dans les articles 2 et 3. Ces résultats sont globalement similaires avec ceux qui ont été présentés dans les articles 2 et 3. Toutefois, ce n'est pas un acquis que les résultats convergeront toujours. Pour ce qui est de l'analyse des facteurs de risque de l'infection active du VEB post-greffe, les trois modèles qui sont couramment utilisés dans les études sont le modèle de Cox, le modèle de risque compétitif de Fine et Gray et la régression

logistique. L'intérêt d'estimer ces trois modèles dans le cadre de cette recherche était de voir si les résultats convergeaient. Cependant, dans la pratique un seul modèle est généralement utilisé. Le choix de celui-ci devrait dépendre de l'objectif de l'étude et des données utilisées. Par exemple dans un contexte de données censurées la régression logistique n'est probablement pas la première option à envisager. Par ailleurs, en présence d'évènements compétitifs le choix entre le modèle de Cox et le modèle de risque compétitif dépend de l'objectif de l'étude. Si l'objectif est d'estimer l'effet des covariables sur le taux d'occurrence de l'issue chez les individus qui n'ont pas encore présenté l'évènement, le choix à faire est le modèle de Cox, tandis que le modèle de Fine et Gray devrait être utilisé si l'intérêt de l'étude est d'estimer l'effet des covariables sur le risque absolu de l'issue au cours du temps.²⁴¹ Ces deux modèles sont complémentaires et présenter les résultats des deux pour une même étude donnerait davantage d'informations sur la situation analysée. Par ailleurs un autre élément qui peut influencer le choix entre le modèle de Cox et le modèle Fine et Gray est la présence des covariables dépendantes du temps. Le modèle de Fine et Gray n'est pas recommandé dans ce contexte.^{255,256} Nous avons également exploré l'utilisation du modèle IPW-Cox et il en ressort que c'est une alternative assez intéressante qui devrait être davantage utilisée lorsque les conditions d'application s'y prêtent car elle permet de prendre en compte beaucoup de variables dans les analyses en maintenant un bon ratio évènement/variable. D'autre part, deux éléments ont motivé l'utilisation du modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni. Premièrement, l'hypothèse de risque proportionnel fondamental pour l'utilisation du modèle de Cox et même du modèle de Fine et Gray n'est pas toujours vérifiée. Dans ce cas de figure, les résultats présentés ne sont pas toujours valides. L'introduction des interactions des covariables fixes avec les fonctions du temps est une alternative pour pallier le problème. Nous l'avons d'ailleurs utilisé dans l'article 2. Cependant, le choix de la fonction du temps est arbitraire et peut potentiellement conduire à des estimations biaisées. De plus, l'augmentation des covariables dans le modèle peut être assez problématique dans les études portant sur les greffés qui sont généralement réalisées avec des échantillons de petites tailles. Fort de ces éléments, les modèles de risque additifs devraient davantage être utilisés pour adresser la problématique des facteurs de risque de l'infection active du VEB même si l'interprétation des résultats n'est pas autant triviale que pour les autres modèles. Deuxièmement, le modèle de Cox ou le modèle de Fine et Gray postulent que les covariables ont un effet multiplicatif sur la fonction de risque. Il est difficile de prouver cette hypothèse. Lorsqu'il y a un doute, il nous semble pertinent d'estimer à la fois un

modèle multiplicatif et un modèle additif qui fourniront des informations permettant de mieux comprendre le phénomène utilisé. Dans le domaine médical, les avis des cliniciens pourraient permettre de privilégier un modèle par rapport à l'autre. D'autre part, à l'instar du modèle de risque additif, cette recherche est la première à rapporter l'analyse des facteurs de risque de la récurrence de l'infection du VEB post-greffe. Nous avons présenté trois modèles conditionnels courants à savoir : le modèle d'Andersen-Gill (AG) et le modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré selon le processus de comptage (PWP-CP) et le modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré par intervalles (PWP-GT). Si le risque de base est commun pour tous les événements le modèle AG est un choix approprié. En revanche si le risque de base est différent pour chaque événement, ce sont les modèles PWP-CP ou PWP-GT qui seraient indiqués. Pour ces deux derniers modèles, PWP-GT serait le choix à considérer si après chaque événement il y a comme un renouvellement de l'individu, tandis que PWP-CP est pertinent dans le contexte où l'usure au cours du temps est un élément clé pour le phénomène étudié. Cependant le choix n'est pas toujours évident à faire. Le critère statistique Akaike information criterion (AIC) est souvent utilisé pour départager ces modèles en contexte d'incertitudes.

Chapitre 5 : Discussion et Conclusion

Dans ce chapitre nous discutons les résultats qui ont été présentés dans les trois articles qui répondent aux objectifs de la thèse en y intégrant les résultats des analyses complémentaires et en mettant en exergue les forces et les limites de l'étude ainsi que les perspectives en termes de futures études.

5.1 Article 1 : Facteurs associés à l'infection active du virus d'Epstein-Barr et au syndrome lymphoprolifératif post-transplantation chez les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques : Revue systématique et méta-analyse

L'objectif principal de cet article était de mettre en lumière les facteurs de risque connus de l'infection active du VEB post-transplantation ainsi que ceux du SLPT chez les patients pédiatriques et adultes recevant des GCSH. Il était également question d'identifier les lacunes à combler par des nouvelles études pour mieux appréhender ces phénomènes.

Au total, 62 articles ont été retenus pour la description des facteurs de risque de l'infection active du VEB post-transplantation et 22 pour la description des facteurs de risque du SLPT. Ensuite, une méta-analyse incluant 11 articles a été réalisée pour examiner l'association entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB post-transplantation et une autre s'appuyant sur cinq articles a permis d'explorer l'association entre ce facteur et le SLPT.

En termes de résultats, l'utilisation de l'ATG comme prophylaxie ou traitement contre la GvHD et l'apparition de la forme aigue de la GvHD ont été identifiées comme les deux facteurs augmentant le risque d'infection active du VEB post-transplantation et le risque du SLPT dont la reproductibilité²⁵⁷ a été observée dans plusieurs études. En outre, pour ce qui de l'ATG, les risques relatifs (RR) agrégés obtenus à l'aide de la méta-analyse ont corroboré la forte association entre ce facteur et l'infection active du VEB et avec le SLPT. En plus de la reproductibilité, l'association entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB passe le filtre de la plausibilité biologique, un autre critère évoqué par Hill²⁵⁷ pour sous-tendre un lien potentiellement causal. En effet, l'ATG est un puissant agent immunosuppresseur utilisé pour la prévention de la GvHD aigue grâce à sa

capacité à cibler et à épuiser les lymphocytes T.^{136,159,258-260} Cette déplétion des lymphocytes T pourrait avoir pour corollaire la réactivation du VEB latent contenu dans les cellules B matures avec l'expansion maligne des cellules infectées.²⁵⁹ Dans le cas où cette prolifération des cellules B infectées est rapide et soutenue, une évolution vers le SLPT peut être observée.⁴⁷ Il est important de souligner que la principale indication de l'ATG est de l'ajouter dans le traitement prophylactique contre la GvHD chez les patients qui reçoivent des greffes venant des donneurs alternatifs (non apparentés et/ou non appariés) et que toutes les études qui ont rapporté une association statistiquement significative ont considéré ce paramètre et de façon induite le biais de confusion par indication a été potentiellement réduit. Par ailleurs, quelques-unes des études qui ont mis en relief une augmentation du risque d'infection active du VEB ou du SLPT liée à l'utilisation de l'ATG ont rapporté des informations sur les doses reçues par les patients. Dans chacune de ces études la posologie était quasiment la même pour tous les patients qui recevaient l'ATG. Cette information est nécessaire pour mieux apprécier l'effet de l'ATG. En effet une étude randomisée multicentrique a montré que les patients recevant des fortes doses d'ATG seraient plus à risque de l'infection active du VEB post-greffe que ceux recevant des doses moins élevées.¹⁴³

Concernant l'association entre la survenue d'une GvHD aigüe et l'infection active du VEB post-transplantation, une méta-analyse n'a pas été réalisée car les catégories de la variable GvHD étaient différentes entre les études. Toutefois, comme indiqué au chapitre 1, l'association entre la GvHD aigüe et l'infection active du VEB ou avec le SLPT s'expliquerait beaucoup plus par la situation d'immunodépression provoquée par les immunosuppresseurs agressifs qui sont administrés aux patients qu'à la survenue d'une GvHD. En effet, dans la majorité des études qui ont mis en relief une association significative entre la GvHD aigüe et l'infection active du VEB post-greffe ou avec le SLPT, le traitement administré pour pallier la GvHD n'a pas été considéré dans les analyses. De plus, l'histoire naturelle de cette association n'est pas triviale à expliquer. En effet, la physiopathologie de la GvHD est complexe.¹⁵⁸ Des études sur les animaux ont montré que les cellules T CD4⁺ du donneur, stimulées par les cellules présentatrices d'antigène de l'hôte, stimulent à leur tour les cellules B du receveur, qui produisent des auto-anticorps.¹⁵⁸ Les lymphocytes T et B sont également impliqués dans la physiopathologie de la GvHD chez l'homme¹⁵⁸ bien que le mécanisme liant les lymphocytes B et la GvHD ne soit pas bien connu.¹⁵⁹

Par ailleurs, quelques études ont montré que le diagnostic primaire était associé à l'infection active du VEB post-transplantation.^{49,83,84} Le cas spécifique de l'association de la maladie de

Hodgkin et de l'infection active du VEB post-greffe^{49,84} mérite une attention particulière car certaines formes du lymphome hodgkinien sont liées étiologiquement au VEB^{261,262} et peuvent survenir chez des personnes qui ne sont pas en mesure de contrôler correctement l'infection à VEB. Ainsi, l'on peut penser que ces personnes sont plus sensibles à d'autres maladies liées au VEB (comme une infection active du VEB post-transplantation) tout au long du continuum de soins, mais la GCSH aurait corrigé tout problème de cellules immunitaires. D'autres études sont nécessaires pour confirmer l'association potentielle entre la maladie de Hodgkin et l'infection active du VEB post-transplantation chez les patients recevant une GCSH.

Plusieurs autres variables ont été analysées dans les articles inclus dans la revue systématique, mais très peu d'associations statistiquement significatives ont été mises en évidence. La reproductibilité des résultats a été difficile à apprécier d'une part parce que les définitions des variables sont assez hétérogènes d'une étude à une autre et d'autre part certaines variables ont été explorées par très peu d'études. Les variables pour lesquelles au moins une association statistiquement significative avec l'infection active du VEB post-transplantation ou avec le SLPT a été mise en exergue sont les suivantes: âge du receveur, sexe du receveur, sérologie VEB du receveur et du donneur, sexe du donneur, type de donneur, type de régime de conditionnement, source de greffe, antécédents de greffe, contenu du greffon (CD34⁺, CD3⁺, CD8⁺, CD3⁺ / CD8⁺), restauration immunitaire post-transplantation (CD4⁺, CD8⁺), réactivation du CMV, génotype (gène IFN γ 3/3, CCR5), splénectomie, l'utilisation des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) et volumes de plaquettes transfusés dans la période post-transplantation.

Soulignons par ailleurs que plusieurs facteurs rendent difficile ou limitent la comparaison des résultats des différentes études. Il s'agit en l'occurrence de la définition de l'infection active du VEB post-transplantation qui est assez variable d'une étude à une autre; les compartiments sanguins utilisés pour réaliser les tests PCR ne sont pas les mêmes dans toutes les études. Notons que la sensibilité des tests PCR utilisés pour détecter la charge virale VEB est plus grande lorsque le sang total est utilisé comparativement au plasma.¹¹² Aussi, les études diffèrent également par les méthodes statistiques qui ont été utilisées pour examiner les facteurs de risque de l'infection active du VEB et ceux du SLPT. Pour les analyses multivariées, les trois modèles statistiques les plus utilisés ont été le modèle de risque proportionnel de Cox, le modèle de risque compétitif de Fine et Gray, et la régression logistique. Le rapport de cotes communément appelé odds ratio obtenu en utilisant une régression logistique est un estimateur biaisé du risque relatif lorsque le phénomène

étudié n'est pas rare. Ainsi, l'infection active du VEB post-transplantation n'étant pas un phénomène rare, les résultats obtenus avec une régression logistique ne sont pas toujours comparables avec ceux des deux modèles de survie susmentionnés. D'autre part, dans plusieurs études uniquement des analyses statistiques univariées ont été rapportées. Ces résultats univariés sont potentiellement entachés d'un biais de confusion et ne permettent pas de tirer des conclusions robustes sur la présence ou l'absence d'association significative entre la variable et l'issue considérés. En outre dans certaines études, les estimés ponctuels des risques ainsi que les intervalles de confiance et/ou les p-values n'ont pas été rapportés lorsque les associations n'étaient pas statistiquement significatives. Il convient également de noter que 25 des 77 études sélectionnées dans cette revue systématique ont une taille d'échantillon inférieure à 100. Par conséquent, il est possible que certaines associations positives n'étaient pas statistiquement significatives à cause du défaut de la puissance statistique. La présentation des résultats d'estimation pour les facteurs non significativement associés à l'issue considérée dans les différentes études permettrait non seulement d'avoir une idée sur la direction des associations examinées mais aussi de réaliser des méta-analyses apportant un meilleur niveau d'évidence.

Par ailleurs, il n'a pas été possible de comparer les greffés pédiatriques et les greffés adultes en termes de facteurs de risque de l'infection active du VEB et ou du SLPT. En effet, la quasi-totalité des études qui ont examiné les facteurs de risque du SLPT et près de la moitié de celles qui ont exploré les facteurs de risque de l'infection active du VEB post-transplantation ont été réalisées avec des échantillons composés à la fois des patients pédiatriques et des patients adultes. Aussi, les facteurs de risque qui ont été explorés dans les études qui ont été réalisées soit avec des échantillons composés exclusivement de patients pédiatriques ou uniquement de patients adultes sont assez hétérogènes et dans plusieurs de ces études ce sont les résultats des analyses univariées qui ont été rapportés. Étant donné que selon le type de greffe, la restauration immunitaire par reconstitution des lymphocytes T après la transplantation peut être différente entre les enfants et les adultes⁹⁹, les facteurs de risque de l'infection active du VEB ou du SLPT pourraient être différents entre ces deux groupes. Il est donc important que des nouvelles études portant singulièrement sur chacun de ces groupes soient réalisées pour clarifier la situation. Un autre constat qui mérite une attention est le fait que dans toutes les études qui ont été considérées, l'analyse a été restreinte à l'identification des facteurs associés à la première occurrence de l'infection active du VEB post-transplantation, bien qu'au cours du suivi, un patient puisse avoir plusieurs épisodes d'infection active du VEB.^{49,93}

Ce dernier aspect devrait être pris en compte dans des nouvelles études pour mieux comprendre la dynamique de l'évolution de l'infection active du VEB post-transplantation chez les receveurs de GCSH. Notons par ailleurs que toutes les études ont été réalisées sur la base d'un suivi de cohorte, cependant très peu d'entre elles ont rapporté des informations sur l'attrition qui pourrait être une source de biais de sélection. Il est important que dans les futures études portant sur les facteurs de risque de l'infection active du VEB ou du SLPT, les informations sur l'attrition soient présentées. Nous avons initialement l'intention de réaliser une méta-analyse de tous les potentiels facteurs de risque de l'infection active du VEB et ceux du SLPT, mais cela n'a pas été possible à cause de plusieurs raisons mentionnées plus haut. Toutefois, une méta-analyse a été réalisée pour mesurer l'association entre l'utilisation de l'ATG et l'infection active du VEB et celle entre ce même facteur et le SLPT. Cependant, les résultats qui ont été présentés doivent être considérés avec prudence car la définition de l'issue n'était pas la même dans les études et les tests PCR utilisés pour détecter le VEB dans le sang ne sont pas standardisés.

Cette étude est la première revue systématique qui a mis en relief de manière holistique les facteurs de risque de l'infection active du VEB et du SLPT chez les enfants et adultes ayant reçu une GCSH. Elle a permis de mettre en évidence la nécessité de réaliser des nouvelles études pour mieux élucider les déterminants de l'infection active du VEB et du SLPT chez les receveurs de GCSH.

5.2 Article 2 : Infection par le virus d'Epstein-Barr (VEB) liée à la transfusion : une étude de cohorte prospective multicentrique chez des receveurs pédiatriques de greffes de cellules souches hématopoïétiques (étude TREASuRE)

L'objectif principal de cet article était d'examiner le lien entre les produits sanguins déleucocytés transfusés (globules rouges, plaquettes) et l'infection à VEB post-transplantation chez les receveurs pédiatriques de GCSH. Les analyses statistiques qui ont été réalisées n'ont pas mis en exergue des associations positives significatives, suggérant qu'il n'y a pas de relation entre la transfusion de produits sanguins et l'infection à VEB post-transplantation. Ces résultats sont rassurants mais la plupart des associations explorées ont indiqué une augmentation du risque d'infection à VEB associé aux transfusions de produits sanguins, même après un contrôle rigoureux des potentiels biais de confusion et de sélection à l'aide d'un modèle marginal structurel. Un défaut de puissance statistique pourrait expliquer l'absence d'association significative. Nous avons

également exploré l'association entre le volume total de chaque produit sanguin reçu et l'infection à VEB post-transplantation en utilisant une régression logistique et les résultats étaient similaires avec ceux obtenus avec le modèle de risque proportionnel de Cox en considérant les volumes de produits sanguins reçus par les patients comme variable dépendant du temps.

Par ailleurs, l'un des résultats importants de cette étude est la détection du VEB chez un enfant qui était séronégatif avant la transplantation et qui a reçu une greffe du sang de cordon. La souche du VEB détecté chez le patient était étroitement liée par génotypage à une souche trouvée chez l'un des donneurs de sang. Ce cas illustre la possibilité de transmission du VEB par la transfusion des produits sanguins déleucocytés dans le contexte d'une immunodépression sévère chez les receveurs de GCSH. Le risque de cet événement est faible car la leucoréduction est efficace pour éliminer les leucocytes infectés.^{65,66} Dans notre étude seulement un des 21 patients séronégatifs ayant reçu une greffe négative au VEB a développé une infection à VEB, malgré le fait que ces patients ont reçu collectivement un total de 87 concentrés de globules rouges et 238 de plaquettes. Il est également important de mentionner que le cas possible d'infection acquise par transfusion chez un receveur séronégatif n'a pas conduit au SLPT.

Par ailleurs, le délai d'apparition de la CV-VEB du patient, suspectée d'être liée à la transfusion a été illustré par la Figure 4. Ces observations doivent être interprétées dans le contexte de la reconstitution immunitaire chez les patients pédiatriques GCSH. Il est connu que le VEB infecte naturellement les cellules B matures, une population qui est lente à se reconstituer après une GCSH allogénique. La reconstitution d'une population de cellules B pleinement fonctionnelle peut prendre 1 à 2 ans ou plus.²⁶³ Le patient en question avait subi un régime d'ablation de la moelle osseuse oblitérant toutes les cellules immunitaires. Par conséquent, tout VEB introduit dans l'hôte via du sang transfusé ne serait pas capable d'infecter et de se répliquer de manière optimale avant le repeuplement par les précurseurs CD34⁺ et leur différenciation en cellules B matures. Le cycle de vie du VEB chez son hôte humain implique également une infection et une réplication dans les cellules épithéliales oropharyngées²⁶⁴; cependant, des titres infectieux élevés, mesurés dans le sang par le test de routine qPCR, ne peuvent se produire que lors d'une infection à grande échelle des cellules B mémoire. Cela pourrait expliquer le faible niveau de CV-VEB (449 copies/mL) à +123 jours et une augmentation exponentielle (6619678 copies/mL) observée à +332 jours. L'ensemble des preuves tirées des données biologiques (Tableau 4) indique que le donneur de la plaquette n° 280524 est le plus susceptible d'avoir transmis le VEB au patient. Cependant, l'absence de

correspondance exacte de la séquence d'ADN entre la souche VEB d'un donneur de sang et celle du receveur, en particulier en ce qui concerne la longue délétion de 132 pb dans la région codant pour LMP1, signifie que nous ne pouvons pas exclure une infection d'origine communautaire. L'apparition tardive du VEB chez ce receveur favorise également le fait que l'infection peut avoir été contractée dans la communauté. Toutefois, d'autres facteurs peuvent expliquer les différences de séquence observées. La variabilité de la séquence du VEB intra-hôte a été décrite dans la littérature, ce qui suggère que certaines des mutations pourraient avoir eu lieu à la suite d'une réplication dans l'hôte infecté.²⁶⁵ Cet événement ne serait pas surprenant dans le contexte de l'immunosuppression. Néanmoins, les souches de VEB récupérées chez les individus immunocompétents après l'infection primaire ne présentent qu'une variabilité génomique mineure au fil du temps, ce qui suggère que le virus du donneur récupéré plus tard (pour le génotypage) est assez fidèle au virus transfusé d'origine.²⁶⁶ Chez le patient qui fait l'objet de cette analyse, la présence d'une séquence de délétion de 30 paires de bases chez deux donneurs alors que le patient a cette séquence intacte élimine efficacement ces donneurs en tant que sources d'infection. Cependant, dans le cas de la délétion de 132 paires de bases, tous les donneurs présentent une diversité par rapport à la longueur de cette séquence. A notre connaissance, cette délétion n'a pas été rapportée précédemment et peut constituer une région sujette à des délétions spontanées lors d'une culture in vitro. Notamment, la comparaison des séquences EBNA3b et LMP-1 du patient avec des séquences de lignées cellulaires contenant du VEB de laboratoire ne révèle aucune contamination. Une autre preuve indiquant que la plaquette n° 280524 est probablement la source de l'infection est la positivité au VEB dans la fraction plasmatique et la génération efficace d'une lignée cellulaire lymphoblastoïde immortalisée stable lors de la culture in vitro des cellules mononucléées du sang périphérique du donneur.

La problématique de la possibilité de transmission du VEB via les produits sanguins a été abordée par très peu d'études et les résultats manquent de solidité. D'après Wagner et al.⁶⁷, la leucoréduction est suffisante pour éliminer le risque de transmission du VEB par les produits sanguins. Dans le même ordre d'idées, l'étude de Qu et al.⁶⁸ a souligné l'efficacité de la leucoréduction pour éliminer le signal détectable par PCR dans les poches de plaquettes positives au VEB. En revanche, les études de Qu et al.⁶⁶ et Trottier et al.⁶³ ont montré la présence de charge virale VEB dans les produits sanguins déleucocytés, traduisant ainsi que malgré l'efficacité de la leucoréduction celle-ci ne réduit pas à zéro la probabilité de transmission du VEB par les produits

sanguins. Par ailleurs, Trottier et al.⁶² ont mis en relief une association positive statistiquement significative entre le volume de plaquettes reçu et l'infection à VEB post-transplantation dans une cohorte rétrospective de patients pédiatriques recevant une GCSH. En effet, cette étude a montré un risque plus élevé d'infection à VEB post-transplantation chez les patients qui avaient reçu plus de 2530 mL de plaquettes (HR=2,19 [IC à 95%: 1,21-3,97]) ou entre 1260-2530 mL de plaquettes (HR=1,65 [IC à 95%: 0,86- 3,18]) comparativement à ceux qui avaient reçu moins de 1260 mL. Toutefois, les résultats de cette étude observationnelle doivent être considérés avec précaution en raison d'un possible biais de confusion et de l'absence de génotypage pour les patients infectés par le VEB et leurs donneurs de sang. Il nous semble important de souligner que TREASuRE est la première étude de cohorte pédiatrique utilisant le génotypage pour démontrer la possibilité de transmission du VEB via des produits sanguins transfusés.

Cette étude a plusieurs points forts. La cohorte comprend un nombre important de GCSH pédiatriques de quatre grands centres au Canada, améliorant ainsi la représentativité de l'échantillon. Le risque de biais d'information a également été réduit grâce à une collecte de données prospective rigoureuse offrant notamment la possibilité d'avoir une précision sur la date des événements. Nous avons également utilisé des approches conservatrices afin de contrôler les biais de confusion et de sélection. Aussi, l'analyse de génotypage visant à corréler les souches virales est l'avantage le plus important de cette étude. En revanche, l'une des limites est que les tests PCR qui ont été utilisés pour détecter le VEB dans les quatre sites de l'étude TREASuRE n'étaient pas standardisés. Cette situation pourrait induire un biais d'information non différentiel qui serait plus susceptible de sous-estimer les tailles d'effets des différentes associations. En outre, il est possible que nous ayons manqué des cas de VEB parmi les patients séronégatifs en raison des données manquantes pour le statut VEB du greffon (19,9%) et le statut sérologique VEB pré-transplantation du receveur (8,3%). Il est également envisageable que les receveurs avec un transfert passif d'anticorps acquis par transfusion pré-transplantation aient été classés parmi les receveurs séropositifs et non inclus dans le bras de surveillance. Ces limites n'ont cependant pas eu d'incidence sur la validité de l'analyse de génotypage. Enfin, bien que nous ayons des preuves solides que l'infection était liée à la transfusion, nous ne pouvons pas exclure la possibilité qu'elle ait été acquise dans la communauté.

En conclusion, la question de la possibilité de transmission du VEB par la transfusion des produits sanguins déleucocytés dans le contexte de GCSH est restée longtemps sans réponse et

avait un réel besoin de clarification. Cette étude suggère que le VEB peut être transmis par transfusion de produits sanguins déleucocytés chez les patients pédiatriques recevant une GCSH. Ainsi, en mettant en avant le principe de précaution, la leucoréduction, qui est une stratégie d'intervention de santé publique à visée populationnelle,²⁶⁷ devrait être associée à une stratégie d'intervention ciblant les groupes à haut risque²⁶⁷ afin de réduire davantage le risque d'infection à VEB transmise par la transfusion pendant la période péri-transplantation aux patients vulnérables vis-à-vis des maladies associées au VEB notamment le SLPT. Dans cet ordre d'idées, une option pourrait être l'utilisation des produits sanguins provenant des donneurs séronégatifs au VEB. Cette alternative est cependant difficilement réalisable car la grande majorité des donneurs de sang (90%)²⁶⁸ sont séropositifs pour le VEB, contrairement au CMV. Le traitement des composants sanguins, en particulier les plaquettes, avec des procédés de réduction des agents pathogènes récemment développés pourrait permettre des transfusions sanguines "sans-VEB" à des patients vulnérables, notamment les patients immunodéprimés séronégatifs au VEB et recevant une GCSH.

5.3 Article 3 : Facteurs de risque de l'infection active du Virus d'Epstein-Barr post-transplantation chez les receveurs pédiatriques de greffes de cellules souches hématopoïétiques

L'objectif de cet article était d'identifier chez les enfants qui ont reçu chacun une GCSH les facteurs de risque des événements post-transplantation ci-après : la première occurrence de l'ADNémie VEB, la récurrence de l'ADNémie VEB, l'augmentation significative de la CV-VEB et le SLPT définis dans le cadre de cette étude par le diagnostic des médecins traitants sur la base de critères cliniques ou par l'administration du traitement préventif au rituximab.

Nous avons mis en évidence que l'utilisation du MMF, qui est un immunosuppresseur faisant partie des prophylaxies contre la GvHD, réduisait de manière significative le risque de tous les événements post-transplantation susmentionnés. À l'opposé, l'utilisation de l'ATG, qui fait également partie des prophylaxies contre la GvHD, était fortement associée à un risque accru de développer tous les événements suscités. Il est aussi intéressant de noter que comparativement aux garçons, les filles étaient plus à risque à une augmentation significative de la CV-VEB et au proxy du SLPT considéré. Cependant, aucune différence significative n'a été observée entre les filles et garçons en ce qui concerne le risque de la survenue de la première occurrence ou de la récurrence

de l'ADNémie VEB. Par ailleurs, des risques plus élevés de l'ADNémie VEB et d'une augmentation importante de la CV-VEB ont été mis en relief chez les patients séropositifs au VEB avant la transplantation. D'autre part, la réception d'un greffon positif au VEB était associée de manière significative à un risque plus élevé de la première occurrence et de la récurrence de l'ADNémie VEB mais pas au risque des autres événements considérés.

Notre étude consolide la littérature existante en ce qui concerne l'utilisation de l'ATG comme un facteur de risque important de l'ADNémie VEB et du SLPT. En effet, l'ATG a déjà été mis en évidence comme facteur de risque de l'ADNémie VEB par des études réalisées avec des échantillons composés exclusivement ou majoritairement de patients pédiatriques^{75,76} ou portant sur des échantillons constitués uniquement ou de manière prépondérante des patients adultes.^{46,73,87,92,142} L'augmentation du risque du SLPT liée à l'utilisation de l'ATG a été montrée dans des études réalisées avec des échantillons de patients adultes ou des échantillons composés à la fois de patients adultes et pédiatriques.^{39,43,98,162} L'ATG est utilisé pour la prévention ou le traitement de la GvHD aiguë et chronique grâce à sa capacité à cibler et à épuiser les lymphocytes T alloréactifs.^{159,258-260} La déplétion des lymphocytes T épuise également les lymphocytes T cytotoxiques (CTL) spécifiques du VEB, ce qui pourrait compromettre l'immunité des lymphocytes T, un élément fondamental de l'immunité virale.²⁶⁹ De plus, la restauration des lymphocytes T CD4 est plus lente chez les patients ayant reçu de l'ATG comme traitement de conditionnement, tandis que celle des lymphocytes B est généralement plus rapide.²⁷⁰ Notons que l'impact du biais de confusion par indication serait potentiellement faible car nous avons pris en compte le type de donneur dans le processus d'élaboration du modèle statistique multivarié.

Notre étude est la première à suggérer que l'utilisation du MMF comme prophylaxie contre la GvHD chez les greffés de CSH est fortement et systématiquement associé à une diminution du risque de toutes les issues en lien avec le VEB. Le MMF a la capacité d'annihiler la prolifération des cellules B.^{187,258,271} Ce qui pourrait limiter l'expansion des cellules B infectées par le VEB. Cet immunosupresseur est généralement donné aux patients qui reçoivent un régime de conditionnement à intensité réduite. Cette variable a été prise en compte dans le processus d'élaboration du modèle. Ce facteur n'a pas été exploré dans les études antérieures réalisées avec des échantillons composés exclusivement ou en majorité de patients pédiatriques.^{53,62,69,75-79,86,91} Par ailleurs, certaines études ont exploré l'association du MMF en combinaison avec d'autres immunosuppresseurs et l'ADNémie VEB^{73,84} ou avec le SLPT.⁸⁴ Sanz et al.⁸⁴, (n=288 patients

pédiatriques et adultes), n'ont pas montré de différence statistiquement significative pour ce qui est du risque de l'ADNémie VEB ou du risque du SLPT en comparant les patients ayant reçu l'association CsA + MMF par rapport à ceux qui ont reçu la combinaison CsA + prednisone. De leur côté, Peric et al.⁷³ (n=175 patients adultes) n'ont pas mis en exergue une différence significative du risque de l'ADNémie VEB entre les patients ayant reçu la CsA seule, la CsA + MMF et la CsA + MTX (p=0,85 en analyse univariée). D'autre part, une étude menée par Yu et al.²⁷² avec un échantillon de 90 patients pédiatriques et adultes a montré que l'utilisation prolongée du MMF retarderait les cellules tueuses naturelles (NK étant l'abréviation en anglais), en particulier les sous-populations NKp30, ce qui était en corrélation avec une diminution de la virémie VEB. Ces auteurs ont également montré une réduction du risque de réactivation du VEB associé à la fréquence de NKp30 parmi les cellules NK à un mois après la transplantation (HR=0,96 [IC à 95%: 0,918-0,998]). Par ailleurs, l'association entre le MMF et le VEB ainsi qu'avec d'autres virus de l'herpès notamment le CMV a été explorée dans le contexte des greffes d'organes solides.²⁷³⁻²⁷⁵ Un risque plus faible d'ADNémie VEB lié à l'utilisation du MMF a été mis en évidence chez les patients transplantés rénaux.^{274,275} Cependant, l'effet protecteur potentiel du MMF devrait être mis en balance avec le risque d'ADNémie CMV, car un risque plus élevé de réactivation du CMV a été observé chez les patients ayant reçu du MMF.²⁷³ Il est donc plausible que le MMF puisse prévenir l'ADNémie VEB et par ricochet le SLPT grâce à la suppression des cellules contenant le VEB, mais l'effet délétère potentiel sur d'autres infections comme le CMV doit être soigneusement étudié. Cet immunosuppresseur pourrait être recommandé pour les patients pédiatriques séronégatifs au CMV afin de réduire les risques d'infection VEB.

Une des trouvailles les plus intéressantes de notre étude a été le lien entre le sexe et les différentes issues du VEB; les filles ayant un niveau équivalent de développer une virémie VEB mais étant plus à risque d'issues sévères comparativement aux garçons. L'association entre le sexe du receveur de greffe et l'ADNémie VEB a été examinée dans plusieurs études réalisées avec des échantillons de patients pédiatriques,^{74,75,79,106} de patients adultes^{32,71,73,98,109} ou composés de patients pédiatriques et adultes.^{4,39,69,70,82-84,86,88,90,92,94,95,97,105,142,143,155,276} Parmi les études portant exclusivement sur les patients pédiatriques, Elmahdi et al.⁷⁹ (n=37) ont rapporté que les hommes avaient un risque moins élevé mais non statistiquement significatif de charge virale VEB >1 x10^{2.5} copies/μg d'ADN de cellules mononuclées du sang périphérique ou d'une charge virale >20000 copies/mL dans le sang total (HR non ajusté= 0,70 [IC à 95% : 0,27-1,84]). De leur côté, Kullberg-

Lindh et al.⁷⁵ (n=47) ont rapporté qu'en moyenne, la CV-VEB maximum était plus faible chez les hommes, bien que le résultat ne soit pas statistiquement significatif (coefficient bêta ajusté = -0,08, p = 0,86). Deux autres études portant exclusivement sur les patients pédiatriques^{74,106} n'ont pas rapporté une différence significative du risque d'ADNémie VEB selon le sexe biologique. En outre, aucune association significative entre le sexe biologique et l'ADNémie VEB n'a été mise en évidence dans les études qui ont été réalisées avec des échantillons composés à la fois des patients pédiatriques et des patients adultes.^{69,70,82-84,86,88,90,92,105,155} ou avec des échantillons constitués uniquement des patients adultes.^{32,71,73,109} Soulignons toutefois que l'étude de Jaskula et al.⁸⁸ a montré au seuil de 10% un risque significativement plus élevé de l'ADNémie VEB chez les femmes (n=102, OR=2,48; p=0,070). Pour le SLPT, aucune association statistiquement significative n'a été trouvée avec le sexe biologique du receveur dans les études réalisées avec un échantillon composé de patients pédiatriques et adultes.^{4,39,84,94,95,97} ou des échantillons de patients adultes.⁹⁸ Il reste difficile de préciser la direction de l'association entre le sexe et les événements VEB post-transplantation dans ces études, car les estimés de risque bruts ou ajustés ont été rapportés dans très peu d'études.^{79,83,86,88,95,97} Les associations entre le sexe biologique du receveur de greffe et l'augmentation de la CV-VEB d'une part et avec le proxy du SLPT d'autre part qui ont été mises en relief dans notre étude doivent être considérées en gardant à l'esprit qu'elles pourraient être entachées d'un potentiel biais de confusion. En effet, des potentiels facteurs de confusion qui n'ont pas été ajustés tels que l'âge à la primo-infection par le VEB ou une infection active du CMV pourraient impacter nos résultats. Il a été montré qu'un âge précoce à la primo-infection par le VEB est associé à une virémie VEB plus élevée et plus soutenue.^{277,278} La virémie CMV quant à elle a été associée à une virémie VEB ou au SLPT.^{52,97} Des études supplémentaires sont nécessaires, en particulier parmi les GCSH pédiatriques pour élucider la nature de ces associations.

Par ailleurs, notre étude a mis en évidence qu'une sérologie VEB positive du receveur avant la transplantation était associée à une ADNémie VEB et à une augmentation significative de la CV-VEB. Pour ce qui est du lien entre le statut sérologique VEB du receveur et l'ADNémie VEB, les études réalisées avec des patients pédiatriques^{74,77,106}, des patients adultes ou avec des échantillons constitués à la fois de patients adultes et pédiatriques^{69,90} n'ont montré aucune association statistiquement significative. Cette situation pourrait s'expliquer par le fait que peu de patients sont généralement séronégatifs au VEB au moment de la transplantation, ce qui rend l'analyse de ce facteur de risque difficile en raison d'un manque de puissance statistique. Notre étude n'a pas mis

en lumière une association statistiquement significative entre la sérologie VEB du receveur et le proxy du SLPT que nous avons considéré. Un résultat semblable a été trouvé par Sanz et al.⁸⁴ avec un échantillon de patients pédiatriques et adultes. Toutefois, il convient de préciser que dans l'étude de Sanz et al.⁸⁴ il était question des cas confirmés de SLPT.

Le statut VEB du greffon était aussi associé à l'ADNémie VEB (1^{ère} occurrence et récurrence) dans notre étude. Il est reconnu que le VEB présent dans le greffon peut être transmis au receveur.^{35,214} Larberko et al.⁸⁶ (n=182 patients pédiatriques) ont exploré l'association entre l'ADNémie VEB et la combinaison du statut VEB du greffon (D) et la sérologie VEB du receveur (R). Ils ont trouvé un risque plus élevé d'ADNémie VEB chez les receveurs séronégatifs au VEB (R-) qui ont reçu un greffon positif au VEB (D+) comparativement aux receveurs séropositifs au VEB (R+) qui ont reçu un greffon positif au (D+) (HR=2,85 [IC à 95%: 1,12-7,28]). En outre, Cesaro et al.⁷⁶ dans leur étude réalisée avec un échantillon de patients pédiatriques n'ont pas mis en évidence un risque significatif d'ADNémie VEB chez les patients du groupe D-/R- comparativement aux autres patients (p=0,08 en analyse univariée). Dans les autres études qui ont examinées l'association entre le statut VEB du greffon et l'ADNémie VEB, aucune association significative n'a été trouvée.^{73,82,88,92} Nos résultats n'ont pas mis en relief une association statistiquement significative entre le statut VEB du greffon et le proxy du SLPT. Notons toutefois qu'au seuil 10% cette association est significative. Aucune des études que nous avons rencontrées dans la littérature n'a exploré l'association entre le statut VEB du greffon et le SLPT sans tenir compte de la sérologie VEB du receveur. Kalra et al.⁹⁶ avec un échantillon de 554 patients pédiatriques et adultes ont rapporté une analyse univariée mettant en exergue un risque plus élevé de SLPT chez les patients séronégatifs au VEB (R-) qui ont reçu un greffon positif au VEB (D+) par opposition aux patients du groupe D+/R+ (SHR=2,96, p=0,03). De leur côté, Uhlin et al.⁴ ont trouvé un risque plus élevé de SLPT chez les patients du groupe D+ / R- par rapport aux autres patients (SHR=4,97 [IC à 95%: 2,30-10,7])⁴, mais ce dernier résultat n'est pas corroboré par ceux de deux autres études.^{39,97}

Notre étude n'a montré aucune association significative entre le type de donneur (alternatif versus donneur apparenté et apparié) et les différents événements qui ont été considérés. Plusieurs études ont examiné l'association entre l'ADNémie VEB et le type de greffe/donneur, considérant comme variable soit la compatibilité des HLA,^{53,69,78,79,83,84,87,88,90-92} soit le type de donneur

(apparenté/non-apparenté)^{32,46,70,76,78,83,92,151} ou encore la combinaison de ces caractéristiques.^{49,52,73,80,82,86,88,89,142}, mais très peu d'associations significatives ont été trouvées.

Toutes les études réalisées avec des échantillons de patients pédiatriques qui ont examiné l'association entre la compatibilité des HLA et l'ADNémie VEB n'ont pas trouvé des liens significatifs.^{53,76,78,79} En revanche, une propension plus élevée à développer une ADNémie VEB a été observée chez les patients pédiatriques ou adultes ayant reçu une greffe de type HLA non génodentiques comparativement aux autres patients.⁹⁰ Dans leur étude, Omar et al.⁸⁹ ont relevé un niveau de CV-VEB en moyenne significativement plus élevé chez les patients pédiatriques ou adultes ayant bénéficié d'une greffe venant d'un donneur non apparenté ou d'un membre de la famille avec des HLA incompatibles comparativement à ceux qui ont reçu une greffe avec HLA compatibles. De toutes les études qui ont analysé l'association entre la compatibilité HLA et le SLPT,^{4,39,78,84,94,96,97} celle de Uhlin et al.⁴ a été la seule qui a trouvé un risque plus élevé de SLPT chez les patients pédiatriques ou adultes qui ont reçu une greffe avec HLA non compatibles. Parmi toutes ces études, celle de Cohen et al.⁷⁸ est la seule qui a été menée exclusivement avec un échantillon de patients pédiatriques.

D'autre part, parmi toutes les études qui ont exploré la relation entre le type de donneur (donneur apparenté versus non apparenté) et l'ADNémie VEB,^{39,78,94,151,165}, dont deux études réalisées avec des échantillons de patients pédiatriques,^{78,151} celle de Tsoumakas et al.¹⁵¹ a été la seule a montré une association statistiquement significative. Le risque d'une ADNémie VEB était plus faible chez les patients qui ont reçu une greffe venant d'un donneur apparenté par opposition aux patients ayant bénéficié d'une greffe d'un donneur non apparenté (0,38 [IC à 95%: 0,15-0,98]). Par ailleurs, deux associations statistiquement significatives entre le type de greffe/donneur et le SLPT^{43,162} ont été mises en évidence parmi toutes les études dans lesquelles le potentiel facteur de risque a été défini en combinant la compatibilité des HLA et le type de donneur.^{43,95,96,142,162} Fujimoto et al.¹⁶² ont constaté que les patients qui avaient reçu une greffe d'un donneur alternatif ou une greffe du sang de cordon étaient plus à risque de SLPT que ceux qui avaient bénéficié d'une greffe d'un donneur apparenté et apparié. En outre, Landgren et al.⁴³ ont rapporté un risque plus élevé de SLPT chez les patients qui ont reçu une greffe provenant d'un donneur non apparenté ou d'un donneur apparenté avec un degré d'incompatibilité des HLA ≥ 2 et ayant reçu l'ATG et/ou une déplétion sélective des lymphocytes T comparativement aux patients qui ont reçu une greffe avec des HLA compatibles venant d'un frère ou d'une sœur ou une greffe venant d'un parent avec

un degré d'incompatibilité des HLA égal à 1. Notons que le lien entre le type de greffe/donneur et l'ADNémie VEB ou avec le SLPT est loin d'être établi dans la littérature. Il est tout à fait possible que les associations qui ont été trouvées soient liées à des facteurs de confusion non contrôlés tels que le régime de conditionnement ou le niveau d'immunosuppression. Par exemple, plusieurs études ont mis en évidence une association statistiquement significative entre le type de greffe/donneur et l'ADNémie de VEB^{32,46,52,53,70,76,91,92} ou avec le SLPT^{39,94} en analyse univariée mais pas en analyse multivariée.^{32,39,46,92,94} Aussi, l'étude de Landgren et al.⁴³ n'avait pas mis en relief une association significative entre le type de greffe/donneur et le SLPT en l'absence de l'utilisation de l'ATG. En effet, un risque plus élevé de SLPT n'a pas été observé chez les patients qui avaient reçu une greffe provenant d'un donneur non apparenté ou d'un donneur apparenté avec un degré d'incompatibilité des HLA ≥ 2 et n'ayant reçu ni l'ATG, ni une déplétion sélective des lymphocytes T comparativement aux patients qui ont reçu une greffe avec des HLA compatibles venant d'un frère ou d'une sœur ou une greffe venant d'un parent avec un degré d'incompatibilité des HLA égal à 1. Les études futures qui exploreront l'association entre le type de greffe/donneur devront soigneusement contrôler les facteurs de confusion potentiels pour permettre de clarifier ces associations mais il semble fort plausible que les associations trouvées dans la littérature entre la compatibilité et l'infection VEB soit le plus souvent dû à un effet de confusion.

Nos résultats n'ont pas mis non plus en lumière une réduction significative du risque d'ADNémie VEB post-transplantation ou du SLPT liée à l'utilisation d'un régime de conditionnement myéloablatif. Pour ce qui est de l'ADNémie VEB, ce résultat est corroboré par plusieurs études qui ont été réalisées avec des échantillons de patients pédiatriques,⁵³ adultes^{32,72,80} ou des échantillons combinant à la fois des patients pédiatriques et adultes.^{83,276} En revanche, l'étude de Sanz et al.⁸⁴ a indiqué un risque plus faible d'ADNémie VEB post-transplantation et du SLPT associé à l'utilisation d'un régime de conditionnement myéloablatif. Ce résultat n'est cependant pas corroboré par celui obtenu par Fujimoto et al.¹⁶²

Aucune association statistiquement significative n'a été trouvée entre l'âge du receveur au moment de la transplantation et les différents événements qui ont été considérés dans notre étude. Plusieurs études antérieures ont examiné le lien entre l'âge du receveur et l'ADNémie VEB^{32,49,70,73,75,79,82-84,86,88,90,92,143} et entre ce facteur et le SLPT.^{4,39,43,84,94-97,143} Pour ce qui est de l'ADNémie VEB, Bogunia-Kubik et al.⁸² ont montré que les patients de plus de 25 ans avaient une propension significativement plus élevée que les autres à développer cet événement (OR=1,54 [IC

à 95%: 1,14-2,70]). Pour le SLPT une seule étude,⁴³ a mis en évidence un risque significativement plus élevé chez les patients âgés de 50 ans ou plus comparativement aux autres patients. Dans toutes les autres études, aucune association statistiquement significative n'a été enregistrée et seulement deux de ces études concernaient exclusivement des patients pédiatriques.^{75,79} Il est important de souligner que les catégories de la variable âge sont assez hétérogènes d'une étude à une autre.

Par ailleurs, nous avons exploré l'association entre plusieurs autres immunosuppresseurs (CsA, tacrolimus, MTX et alemtuzumab) et les différents événements que nous avons considérés, mais aucun lien statistiquement significatif n'a été trouvé. Ces résultats sont cohérents avec ceux des précédentes études. En effet, de même que nous, Hoshino et al.¹⁰⁷ n'ont pas trouvé une différence significative du risque de l'ADNémie VEB en comparant les patients pédiatriques ou adultes qui ont reçu le tacrolimus à ceux qui ont reçu la CsA. Aussi, l'utilisation du MTX comme prophylaxie contre la GvHD n'a pas été identifiée par les études antérieures comme facteur de risque de l'ADNémie VEB^{73,80,105} ou comme facteur augmentant le risque du SLPT.⁴ L'absence d'association statistiquement significative entre l'utilisation de l'alemtuzumab comme prophylaxie contre la GvHD et l'ADNémie VEB mise en exergue dans notre étude corrobore le résultat d'une précédente étude réalisée avec un échantillon de patients pédiatriques.¹⁵⁶ Signalons toutefois que cette dernière étude n'a rapporté que les résultats d'une analyse statistique univariée. Enfin, nous n'avons pas trouvé une association significative entre le diagnostic primaire (maladie maligne versus maladie non maligne) et tous les événements qui ont été considérés. Nos résultats sont en phases avec ceux de Laberko et al.⁸⁶ et Cesaro et al.¹⁰⁶ pour ce qui est de l'ADNémie et avec ceux de Uhlin et al.⁴ en ce qui concerne le SLPT. L'étude de Laberko et al.⁸⁶ a été réalisée avec un échantillon composé majoritairement des patients pédiatriques et celle de Cesaro et al.¹⁰⁶ avec un échantillon exclusivement constitué des patients pédiatriques. Cesaro et al.¹⁰⁶ n'ont rapporté qu'une analyse statistique univariée.

Nous avons réalisé toutes les analyses en considérant d'abord l'ensemble de la cohorte et ensuite en restreignant à la sous-cohorte des patients qui avaient déjà une sérologie VEB positive avant la transplantation. Cette déclinaison n'est généralement pas faite dans la majorité des études. Elle nous semble pourtant importante car un patient qui est porteur du VEB avant la transplantation a probablement une propension plus élevée à développer une réactivation du VEB dans la période post-transplantation qu'un patient qui n'était pas encore porteur de ce virus. Toutefois, les résultats

des estimations que nous avons obtenus avec les deux groupes de patients sont assez similaires. Cette situation pourrait s'expliquer par la très forte représentativité des patients avec une sérologie VEB positive dans l'échantillon.

Enfin, nous avons réalisé plusieurs analyses alternatives dans l'optique de les comparer avec les résultats discutés précédemment. En premier lieu, étant donné que les différents résultats de la littérature qui ont été présentés plus haut en comparaison aux résultats de notre étude ont été obtenus en utilisant plusieurs types de modèles statistiques, en termes d'analyse de sensibilité nous avons estimé les trois modèles les plus utilisés pour l'identification des facteurs de risque de l'ADNémie VEB ou du SLPT à savoir : le modèle de risque proportionnel de Cox,^{46,62,70,72,76,79,83,91,92,97,111,167} le modèle de risque compétitif de Fine et Gray,^{4,49,69,73,84,86,96} et la régression logistique^{32,52,53,77,78,80,82,85,87,88,90,98}. Les facteurs de risque qui ont été mis en relief avec ses trois modèles sont similaires. Soulignons toutefois que les intervalles de confiance à 95% des estimés ponctuels sont généralement plus larges lorsque la régression logistique est utilisée. D'autre part, pour ce qui de l'identification des facteurs associés à la récurrence de l'ADNémie VEB, nous avons également utilisé le modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré selon le processus de comptage (PWP-CP) et le modèle d'Andersen-Gill (AG). Les résultats obtenus étaient assez similaires à ceux du modèle de Prentice-Williams-Petersen avec le temps mesuré par intervalles (PWP-GT). Les similitudes entre les résultats obtenus avec les deux variantes du modèle PWP montrent que le choix de l'échelle de temps semble ne pas avoir un grand impact sur les résultats. D'autre part, le fait que les résultats des modèles PWP et ceux du modèle AG soient semblables cela implique que le choix de la fonction de risque de base n'a pas eu une grande influence sur les résultats. Pour le modèle AG le risque de base est le même pour tous les événements, tandis que pour les modèles PWP le risque de base est spécifique à chaque événement. La convergence entre les résultats des modèles qui ont été utilisés pour examiner les facteurs associés à la récurrence de l'ADNémie VEB pourrait également s'expliquer par le fait que nous nous sommes limités aux deux premières récurrences pour éviter des strates avec des très petits effectifs pouvant induire des estimations instables. En effet, parmi les 66 patients qui ont eu au moins un épisode d'ADNémie VEB, 22 ont eu un second épisode et seulement sept ont enregistré trois épisodes ou plus.

Cette étude présente plusieurs points forts. Il s'agit de la première étude dans laquelle les facteurs de risque de la récurrence de l'ADNémie VEB ont été analysés. Aussi très peu d'études

ont examiné à la fois les facteurs associés à une simple occurrence de l'ADNémie VEB aux formes plus sévères du VEB (i.e, augmentation de la charge virale et proxy du SLPT). Le caractère multicentrique de l'étude améliore le niveau de représentativité de l'échantillon. De plus, le devis d'étude prospectif a permis de limiter les données manquantes. Les observations manquantes pour les variables "sérologie VEB du receveur" et "statut VEB du greffon" ont été remplacées en utilisant une méthode d'imputation non paramétrique.^{220,221} Une analyse de sensibilité réalisée en utilisant la méthode d'imputation multiple par équations chaînées^{250,251} a montré que les estimations qui ont été obtenus avec la méthode d'imputation non paramétrique étaient robustes. D'autre part, ce travail est le premier à mettre en lumière les facteurs associés aux événements VEB post-transplantation chez les GCSH pédiatriques en utilisant un modèle de risque additif. En termes de facteurs de risque des événements VEB identifiés, les résultats qui ont été obtenus avec le modèle semi-paramétrique de risque additif de McKeague et Sasieni²⁴⁷ étaient similaires à ceux du modèle de Cox, qui est un modèle multiplicatif reposant sur l'hypothèse de la proportionnalité des risques. L'un des avantages du modèle de McKeague et Sasieni est qu'il nous a permis d'analyser aisément les variables qui n'avaient pas un effet fixe sur la fonction de risque ou qui ne vérifiaient l'hypothèse de la proportionnalité des risques. Étant donné qu'il n'est pas toujours trivial de savoir *a priori* si une variable a un effet multiplicatif ou un effet additif sur une fonction de risque, l'utilisation couplée du modèle de Cox et un modèle additif tel que le modèle de McKeague et Sasieni ou le modèle de risque additif d'Aalen peut permettre de mieux comprendre les associations analysées. Par ailleurs, ce travail est le premier à mettre en lumière simultanément les résultats de l'analyse des facteurs de risque des événements VEB post-transplantation en utilisant les trois modèles statistiques communément utilisés dans les précédentes études, en l'occurrence le modèle de Cox, le modèle de risques compétitifs de Fine et Gray, et la régression logistique. Les résultats des estimations qui ont été obtenus avec ces trois modèles contribuent à mesurer la consistance des comparaisons des résultats de différentes études qui ont utilisé l'un de ces modèles.

L'étude a cependant aussi des limites. Les tests qPCR qui ont été utilisés dans les quatre sites sont différents. Cette situation pourrait induire un biais d'information probablement non différentiel. D'autre part, en tant qu'étude observationnelle, il est possible que des facteurs de confusion résiduels demeurent, malgré l'application d'une méthodologie rigoureuse pour les ajustements. Par exemple nous avons analysé les immunosuppresseurs (MTX, CsA, MMF, ATG, tacrolimus, etc.) comme des variables binaires fixes dans le temps. Cependant leurs posologies

peuvent varier en fonction de l'évolution clinique des patients. Une meilleure analyse de ces variables est contrainte par la disponibilité de l'historique de l'utilisation de chacun de ces médicaments pour chaque patient. En outre, bien que la taille de l'échantillon de la présente étude soit plus grande que la majorité des études abordant la même problématique, la puissance statistique reste un problème pour étudier les interventions pédiatriques peu fréquentes telles que la GCSH. Une taille d'échantillon plus grande aurait peut-être permis de mettre en relief d'autres associations statistiquement significatives. De plus, avec une taille d'échantillon plus grande, nous aurions pu explorer l'effet de certaines interactions, en particulier entre les prophylaxies contre la GvHD, sur les différents événements d'intérêt. Dans la même veine, il aurait également été possible d'étudier l'association entre le diagnostic primaire et les différents événements d'intérêt en considérant une variable avec plusieurs catégories qui met en exergue les maladies associées au VEB telles que les lymphomes, les infections chroniques actives de l'ordre du syndrome hémophagocytaire et la lymphohistiocytose. Aussi, une taille d'échantillon plus importante aurait permis d'être plus proche du ratio d'une variable incluse dans un modèle pour 10 événements qui est communément recommandé pour avoir des estimations plus stables.²⁷⁹

Nous avons exploré plusieurs potentiels facteurs de risque de l'ADNémie VEB ou du SLPT. Cependant, la liste n'est pas exhaustive car certains facteurs de risque mis en évidence par des études antérieures n'ont pas été pris en compte car les variables n'étaient pas disponibles. En ce qui concerne l'ADNémie VEB post-transplantation, parmi les facteurs qui seraient associés à cet événement il y a la GvHD (aGvHD,^{46,53,78,79,89,90} cGvHD⁷⁵), la présence du génotype 3/3 du gène de l'interféron- γ ⁸⁵, l'absence de mutation de délétion du récepteur 5 de la chimiokine C-C⁸², la quantité de certaines cellules immunitaires dans le greffon [CD34⁺ (>1,35x10⁶/kg)⁷⁰, CD3⁺CD8⁺ (< versus \geq à la médiane)⁸⁰, CD3⁺ (< versus \geq à la médiane)⁸⁰], la quantité des lymphocytes CD4⁺ par μ l du sang périphérique un mois après la transplantation (<50 versus \geq 50)³². Le sexe du donneur de greffe semble être associé à l'ADNémie VEB post-transplantation.^{87,88} Cependant, les résultats de ces deux études sont contradictoires. Pour le PTLT, les facteurs qui auraient un lien avec cet événement sont: la GvHD (aGvHD,^{4,43} cGvHD⁴³), la quantité de cellules CD8⁺ au jour 30 après la greffe (< versus \geq à la médiane)⁹⁷, la quantité d'immunoglobulines M (IgM) 30 jours après la greffe (< versus \geq à la médiane)⁹⁷, la splénectomie⁴ ou l'utilisation des cellules stromales mésenchymateuses (CSM).⁴

Par ailleurs, notre définition du SLPT, basée sur le diagnostic clinique et l'utilisation du rituximab, avait une spécificité inférieure à une définition basée sur l'imagerie médicale ou sur la biopsie tissulaire. En effet, étant donné que la plupart des patients GCSH allogéniques reçoivent un traitement préventif par rituximab à mesure que la CV-VEB augmente ou que d'autres signes cliniques apparaissent, il est possible que des cas qui n'auraient pas systématiquement débouché à un SLPT aient été pris en compte. Par conséquent, les facteurs de risque du SLPT qui ont été identifiés dans notre étude doivent être interprétés avec précaution.

En conclusion, le sexe biologique semble être un facteur à considérer pour expliquer la sévérité de l'ADNémie VEB chez les receveurs pédiatriques de GCSH; les filles ont présenté un risque plus élevé de sévérité du VEB bien qu'elles ne soient pas plus susceptibles d'avoir une ADNémie du VEB que les garçons. Cela devrait être étudié plus en détail avec un contrôle approprié des biais de confusion afin de confirmer ces résultats et de comprendre le fondement biologique derrière ces observations. Le MMF qui est un immunosuppresseur utilisé comme prophylaxie pour la GvHD a aussi diminué le risque des formes simple et sévère de l'ADNémie VEB ainsi que potentiellement du SLPT. Ce résultat doit être cependant considéré en pondérant avec le risque d'infection à CMV. Par ailleurs, l'utilisation de l'ATG a été confirmée comme un facteur de risque important de l'infection active du VEB post-transplantation et de ses dérivées. Davantage d'études prospectives sur les receveurs pédiatriques de GCSH allogéniques sont nécessaires en utilisant des définitions harmonisées des facteurs de risque et des événements d'intérêt afin de consolider les preuves scientifiques et mieux comprendre les événements en rapport avec le VEB dans la période post-transplantation. Aussi, il est également nécessaire que les tests qPCR soient standardisés pour améliorer la comparabilité des études.

5.4 Conclusion générale

La GCSH représente une avancée considérable permettant de réduire la morbidité et la mortalité liées aux maladies hématologiques et non-hématologiques à travers le monde. Cependant, l'efficacité de cet acte médical peut être mise à rude épreuve par les complications post-transplantation telles que la GvHD aigüe ou chronique et les maladies liées au VEB notamment le SLPT. Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés à l'identification des facteurs de risque de l'infection active du VEB post-transplantation et du SLPT chez les patients pédiatriques

qui ont reçu une GCSH. Nous avons dans un premier temps mis en relief tous les facteurs de risque connus de l'infection active du VEB post-transplantation et du SLPT chez les patients pédiatriques et adultes qui ont reçu une GCSH en réalisant une revue systématique et une méta-analyse. Cette étude a montré que très peu de travaux scientifiques disponibles dans la littérature ont porté exclusivement sur les patients pédiatriques. Les facteurs limitant la comparaison des résultats des différentes études notamment les divergences en termes de définition de variables (événements d'intérêt ou potentiels facteurs de risque) et l'absence de standardisation des outils de mesure utilisés ont été mis en lumière. De manière générale, cette étude a illustré la nécessité d'effectuer des nouvelles recherches pour mieux appréhender l'infection active et le SLPT dans la population des patients pédiatriques qui reçoivent une GCSH.

Le deuxième centre d'intérêt de cette thèse consistait à élucider le lien potentiel entre les produits sanguins transfusés et l'infection à VEB post-transplantation. En nous appuyant sur une étude de cohorte prospective et multicentrique, aucune association statistiquement significative n'a été trouvée entre la transfusion de globules rouges ou de plaquettes et l'infection à VEB post-transplantation. Cependant, la possibilité de transmission du VEB via les produits sanguins transfusés a été montrée en réalisant le génotypage du VEB détecté chez un patient séronégatif avant la greffe et qui a reçu une greffe du sang du cordon, et le VEB de ses donneurs de sang. En dépit qu'elle semble très rare, la transmission du VEB par l'entremise de transfusion de produits semble tout de même possible. Il semble donc souhaitable de transfuser des produits sanguins excluant toute présence potentielle de VEB dans cette population particulière à haut-risque. Le traitement des composants sanguins avec des méthodes de réduction des agents pathogènes récemment développées pourrait fournir des transfusions sanguines « sans VEB » à des patients vulnérables, notamment les receveurs séronégatifs VEB immunodéprimés de la GCSH.

La troisième articulation de cette thèse avait pour objectif de consolider la littérature existante en termes de facteurs de risque de l'infection active du VEB et du SLPT et de potentiellement mettre en exergue de nouveaux facteurs de risque de ces événements en utilisant les données de l'étude de cohorte prospective susmentionnée chez les greffés de CSH pédiatrique. Cette étude consolide l'utilisation de l'ATG en prophylaxie contre la GvHD comme principal facteur de risque des événements VEB post-transplantation chez les patients pédiatriques recevant une GCSH. Elle a par ailleurs permis d'identifier deux facteurs associés aux événements VEB post-transplantation qui n'ont pas été mise en évidence dans les études précédentes portant sur les

patients pédiatriques et même sur les patients adultes dans le contexte de GCSH. Il s'agit en l'occurrence de l'utilisation du MMF comme prophylaxie contre la GvHD et le sexe biologique du receveur de greffe. Le MMF s'est montré efficace dans la réduction du risque de tous les événements VEB post-transplantation qui ont été examinés. Nous avons constaté qu'il n'y avait pas de différence significative entre les filles et les garçons concernant l'occurrence ou la récurrence de l'ADNémie VEB de manière générale mais que les filles étaient plus susceptibles que les garçons à avoir une augmentation significative de la CV-VEB et à présenter un tableau clinique nécessitant l'utilisation du rituximab pour prévenir le SLPT. Ces résultats devront être consolidés par de nouvelles études. Cette étude est la première à examiner les facteurs associés à la récurrence de l'ADNémie VEB. Une similitude a été observée entre les facteurs de risque de la première occurrence de l'ADNémie VEB et ceux de la récurrence de l'ADNémie VEB à l'exception de la sérologie VEB positive du receveur qui augmentait significativement le risque de l'occurrence de l'ADNémie VEB mais qui n'était pas significativement associée à la récurrence de l'ADNémie VEB. Pour ce qui est de l'identification des facteurs de risque de la récurrence de l'ADNémie VEB, des nouvelles études devraient être réalisées y compris des études de simulation de type Monte Carlo pour comparer les différents modèles statistiques qui peuvent être utilisés pour adresser cette problématique.

Cette thèse s'inscrit dans le champ de deux des neuf fonctions essentielles de la santé publique (FESP)²⁸⁰ à savoir : (i) Prévention, surveillance et contrôle des maladies transmissibles et non transmissibles et (ii) Santé pour les populations vulnérables et à risque. Nous nous sommes intéressés aux facteurs de risque de l'infection à VEB post-greffe ainsi qu'à ceux du SLPT dans l'optique de produire de l'évidence permettant de contribuer à la prévention de ces problèmes de santé. L'ancrage de ce travail avec la première FESP susmentionnée est trivial car nous nous sommes intéressés à l'infection primaire du VEB notamment en rapport avec la transfusion sanguine, et à ses dérivées post-transplantation. Quant à la deuxième FESP, son lien avec le présent travail se justifie par le fait que les enfants font partie des groupes vulnérables de la population et la vulnérabilité des enfants qui reçoivent des GCSH est accrue par le fait que ceux-ci sont généralement atteints de maladies "rares" et graves.

Par ailleurs, l'étude multicentrique prospective « TREASuRE » sur laquelle est adossée cette thèse a reçu l'approbation éthique des différents hôpitaux participants. La confidentialité des données a été assurée tout au long du processus de rédaction de cette thèse. Nous avons présenté

les résultats en évitant que des jugements péjoratifs soient faits à l'endroit des sites qui ont participé à l'étude « TREASuRE ». Les résultats de ce travail seront présentés dans des conférences et feront l'objet de publication dans des revues scientifiques. Notre étude n'a pas de retombées directes pour les patients ayant participé à l'étude, cependant nos résultats contribuent à la massification de l'évidence scientifique nécessaire pour améliorer la prise en charge des enfants recevant une GCSH.

Bibliographie

1. Société canadienne de cancer. Greffe de cellules souches. 2016; <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/diagnosis-and-treatment/stem-cell-transplant/?region=on>.
2. Kenyon M, Babic A. *The European Blood and Marrow Transplantation Textbook for Nurses*: Springer International Publishing; 2018.
3. Gratwohl A, Pasquini MC, Aljurf M, et al. One million haemopoietic stem-cell transplants: a retrospective observational study. *The Lancet Haematology*. 2015;2(3):e91-e100.
4. Uhlin M, Wikell H, Sundin M, et al. Risk factors for Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. Feb 2014;99(2):346-352.
5. Gratwohl A, Baldomero H, Gratwohl M, et al. Quantitative and qualitative differences in use and trends of hematopoietic stem cell transplantation: a Global Observational Study. *Haematologica*. Aug 2013;98(8):1282-1290.
6. Epstein M, Achong B, Barr Y. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *The Lancet*. 1964;283(7335):702-703.
7. Segondy M. Infections virales chez les patients transplantés. *Rev Francoph Lab*. 2008;2008(403):31-40.
8. IARC. Proceedings of the IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Epstein-Barr Virus and Kaposi's Sarcoma Herpesvirus/Human Herpesvirus 8. Lyon, France, 17-24 June 1997. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 1997;70:1-492.
9. Allen U, Alfieri C, Preiksaitis J, et al. Epstein-Barr virus infection in transplant recipients: Summary of a workshop on surveillance, prevention and treatment. *Can J Infect Dis*. Mar 2002;13(2):89-99.
10. Pariente M, Bartolome J, Lorente S, Crespo MD. [Age distribution of serological profiles of Epstein-Barr virus infection: review of results from a diagnostic laboratory]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Feb 2007;25(2):108-110.
11. Dowd JB, Palermo T, Brite J, McDade TW, Aiello A. Seroprevalence of Epstein-Barr virus infection in US children ages 6-19, 2003-2010. *PloS one*. 2013;8(5):e64921.
12. Papesch M, Watkins R. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. Feb 2001;26(1):3-8.
13. Perera RA, Samaranayake LP, Tsang CS. Shedding dynamics of Epstein-Barr virus: A type 1 carcinogen. *Arch Oral Biol*. Sep 2010;55(9):639-647.
14. Hjalgrim H, Friborg J, Melbye M. The epidemiology of EBV and its association with malignant disease. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, et al., eds. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge2007.
15. Kyaw MT, Hurren L, Evans L, et al. Expression of B-type Epstein-Barr virus in HIV-infected patients and cardiac transplant recipients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. Nov 1992;8(11):1869-1874.

16. Sculley TB, Apolloni A, Hurren L, Moss DJ, Cooper DA. Coinfection with A- and B-type Epstein-Barr virus in human immunodeficiency virus-positive subjects. *J Infect Dis.* Sep 1990;162(3):643-648.
17. Walling DM, Brown AL, Etienne W, Keitel WA, Ling PD. Multiple Epstein-Barr virus infections in healthy individuals. *J Virol.* Jun 2003;77(11):6546-6550.
18. Walling DM, Edmiston SN, Sixbey JW, Abdel-Hamid M, Resnick L, Raab-Traub N. Coinfection with multiple strains of the Epstein-Barr virus in human immunodeficiency virus-associated hairy leukoplakia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jul 15 1992;89(14):6560-6564.
19. Walling DM, Perkins AG, Webster-Cyriaque J, Resnick L, Raab-Traub N. The Epstein-Barr virus EBNA-2 gene in oral hairy leukoplakia: strain variation, genetic recombination, and transcriptional expression. *J Virol.* Dec 1994;68(12):7918-7926.
20. Yao QY, Croom-Carter DS, Tierney RJ, et al. Epidemiology of infection with Epstein-Barr virus types 1 and 2: lessons from the study of a T-cell-immunocompromised hemophilic cohort. *J Virol.* May 1998;72(5):4352-4363.
21. Yao QY, Tierney RJ, Croom-Carter D, et al. Frequency of multiple Epstein-Barr virus infections in T-cell-immunocompromised individuals. *J Virol.* Aug 1996;70(8):4884-4894.
22. Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM, et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion.* Aug 2009;49 Suppl 2:1S-29S.
23. Crawford DH. Biology and disease associations of Epstein-Barr virus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* Apr 29 2001;356(1408):461-473.
24. Gulley ML, Tang W. Using Epstein-Barr viral load assays to diagnose, monitor, and prevent posttransplant lymphoproliferative disorder. *Clin Microbiol Rev.* Apr 2010;23(2):350-366.
25. Corssmit EP, Leverstein-van Hall MA, Portegies P, Bakker P. Severe neurological complications in association with Epstein-Barr virus infection. *J Neurovirol.* Dec 1997;3(6):460-464.
26. Jenson HB. Acute complications of Epstein-Barr virus infectious mononucleosis. *Curr Opin Pediatr.* Jun 2000;12(3):263-268.
27. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer.* Jun 15 2006;118(12):3030-3044.
28. Khan G, Hashim MJ. Global burden of deaths from Epstein-Barr virus attributable malignancies 1990-2010. *Infect Agent Cancer.* 2014;9(1):38.
29. Aalto SM, Juvonen E, Tarkkanen J, et al. Epstein-Barr viral load and disease prediction in a large cohort of allogeneic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.* Nov 15 2007;45(10):1305-1309.
30. Faraci M, Caviglia I, Morreale G, et al. Viral-load and B-lymphocyte monitoring of EBV reactivation after allogeneic hemopoietic SCT in children. *Bone Marrow Transplant.* Jun 2010;45(6):1052-1055.
31. Herreman A, Dierickx D, Morscio J, et al. Clinicopathological characteristics of posttransplant lymphoproliferative disorders of T-cell origin: single-center series of nine cases and meta-analysis of 147 reported cases. *Leuk Lymphoma.* Oct 2013;54(10):2190-2199.
32. Patriarca F, Medeot M, Isola M, et al. Prognostic factors and outcome of Epstein-Barr virus DNAemia in high-risk recipients of allogeneic stem cell transplantation treated with preemptive rituximab. *Transpl Infect Dis.* Jun 2013;15(3):259-267.

33. Rasche L, Kapp M, Einsele H, Mielke S. EBV-induced post transplant lymphoproliferative disorders: a persisting challenge in allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* Feb 2014;49(2):163-167.
34. Reddy N, Rezvani K, Barrett AJ, Savani BN. Strategies to prevent EBV reactivation and posttransplant lymphoproliferative disorders (PTLD) after allogeneic stem cell transplantation in high-risk patients. *Biol Blood Marrow Transplant.* May 2011;17(5):591-597.
35. Styczynski J, Einsele H, Gil L, Ljungman P. Outcome of treatment of Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in hematopoietic stem cell recipients: a comprehensive review of reported cases. *Transpl Infect Dis.* Oct 2009;11(5):383-392.
36. Skvortsova YV, Balashov DN, Shelikhova LN, et al. Posttransplant lymphoproliferative disorder in children after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single-center experience and literature.
37. Styczynski J, Van Der Velden W, Fox CP, et al. Management of epstein-barr virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European conference on infections in leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica.* 2016;101(7):803-811.
38. Luo L, Zhang L, Cai B, et al. Post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single-center experience. *Ann Transplant.* 2014;19:6-12.
39. Xuan L, Jiang X, Sun J, et al. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation.* Sep 2013;96(6):560-566.
40. Curtis RE, Travis LB, Rowlings PA, et al. Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study. *Blood.* Oct 1 1999;94(7):2208-2216.
41. Faye A, Vilmer E. Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder in Children. *Paediatr Drugs.* 2005;7(1):55-65.
42. Kinch A, Oberg G, Arvidson J, Falk KI, Linde A, Pauksens K. Post-transplant lymphoproliferative disease and other Epstein-Barr virus diseases in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation after introduction of monitoring of viral load by polymerase chain reaction. *Scand J Infect Dis.* 2007;39(3):235-244.
43. Landgren O, Gilbert ES, Rizzo JD, et al. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2009;113(20):4992-5001.
44. Hussein K, Tiede C, Maecker-Kolhoff B, Kreipe H. Posttransplant lymphoproliferative disorder in pediatric patients. *Pathobiology.* 2013;80(6):289-296.
45. Ocheni S, Kroeger N, Zabelina T, et al. EBV reactivation and post transplant lymphoproliferative disorders following allogeneic SCT. *Bone Marrow Transplant.* Aug 2008;42(3):181-186.
46. Juvonen E, Aalto S, Tarkkanen J, Volin L, Hedman K, Ruutu T. Retrospective evaluation of serum Epstein Barr virus DNA levels in 406 allogeneic stem cell transplant patients. *Haematologica.* Jun 2007;92(6):819-825.
47. Scheenstra R, Verschuuren E, De Haan A, et al. The value of prospective monitoring of Epstein-Barr virus DNA in blood samples of pediatric liver transplant recipients. *Transplant infectious disease.* 2004;6(1):15-22.
48. Blaes AH, Cao Q, Wagner JE, Young JA, Weisdorf DJ, Brunstein CG. Monitoring and preemptive rituximab therapy for Epstein-Barr virus reactivation after antithymocyte

- globulin containing nonmyeloablative conditioning for umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. Feb 2010;16(2):287-291.
49. Carpenter B, Haque T, Dimopoulou M, et al. Incidence and dynamics of Epstein-Barr virus reactivation after alemtuzumab-based conditioning for allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation*. Sep 15 2010;90(5):564-570.
 50. Lupo J, Thiebaut-Bertrand A, Epaulard O, Morand P, Germe R. Virus d'Epstein-Barr et syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2019;2019(515):26-35.
 51. Green M, Michaels M. Epstein-Barr virus infection and posttransplant lymphoproliferative disorder. *American Journal of Transplantation*. 2013;13(s3):41-54.
 52. Zallio F, Primon V, Tamiasso S, et al. Epstein-Barr virus reactivation in allogeneic stem cell transplantation is highly related to cytomegalovirus reactivation. *Clin Transplant*. Jul-Aug 2013;27(4):E491-497.
 53. Hiwarkar P, Gaspar HB, Gilmour K, et al. Impact of viral reactivations in the era of pre-emptive antiviral drug therapy following allogeneic haematopoietic SCT in paediatric recipients. *Bone Marrow Transplant*. Jun 2013;48(6):803-808.
 54. Andersson-Ellstrom A, Bergstrom T, Svennerholm B, Milsom I. Epstein-Barr virus DNA in the uterine cervix of teenage girls. *Acta Obstet Gynecol Scand*. Sep 1997;76(8):779-783.
 55. Enbom M, Strand A, Falk KI, Linde A. Detection of Epstein-Barr virus, but not human herpesvirus 8, DNA in cervical secretions from Swedish women by real-time polymerase chain reaction. *Sex Transm Dis*. May 2001;28(5):300-306.
 56. Thomas R, Macsween KF, McAulay K, et al. Evidence of shared Epstein-Barr viral isolates between sexual partners, and low level EBV in genital secretions. *J Med Virol*. Sep 2006;78(9):1204-1209.
 57. Alfieri C, Tanner J, Carpentier L, et al. Epstein-Barr virus transmission from a blood donor to an organ transplant recipient with recovery of the same virus strain from the recipient's blood and oropharynx. *Blood*. Jan 15 1996;87(2):812-817.
 58. Gerber P, Walsh JH, Rosenblum EN, Purcell RH. Association of EB-virus infection with the post-perfusion syndrome. *Lancet*. Mar 22 1969;1(7595):593-595.
 59. Henle W, Henle G, Scriba M, et al. Antibody responses to the Epstein-Barr virus and cytomegaloviruses after open-heart and other surgery. *N Engl J Med*. May 7 1970;282(19):1068-1074.
 60. Nguyen L, Ozier Y. Risques transfusionnels. *Réanimation*. 2008;17(4):326-338.
 61. Tattevin P, Cremieux AC, Descamps D, Carbon C. Transfusion-related infectious mononucleosis. *Scand J Infect Dis*. 2002;34(10):777-778.
 62. Trottier H, Buteau C, Robitaille N, et al. Transfusion-related Epstein-Barr virus infection among stem cell transplant recipients: A retrospective cohort study in children. *Transfusion*. December 2012;52(12):2653-2663.
 63. Trottier H, Delage G, Hu J, et al. Detection of Epstein-Barr virus in leucoreduced blood products. *Vox Sang*. Feb 2016;110(2):199-201.
 64. Sher GD. Leukoreduction of the blood supply. *Canadian Blood Services*. PDF available at http://www.bloodservices.ca/centreapps/internet/uw_v502_mainengine.nsf/web/0E98B978BE790BC585256AB10068D347. 1999.
 65. Graham DS. Leukoreduction of the blood supply 1999.
 66. Qu L, Xu S, Rowe D, Triulzi D. Efficacy of Epstein-Barr virus removal by leukoreduction of red blood cells. *Transfusion*. Apr 2005;45(4):591-595.

67. Wagner HJ, Kluter H, Kruse A, Kirchner H. [Relevance of transmission of Epstein-Barr virus through blood transfusion]. *Beitr Infusionsther Transfusionsmed.* 1994;32:138-141.
68. Qu L, Rowe DT, Donnenberg AD, Griffin DL, Triulzi DJ. Effects of storage and leukoreduction on lymphocytes and Epstein-Barr virus genomes in platelet concentrates. *Transfusion.* Aug 2009;49(8):1580-1583.
69. Dumas PY, Ruggeri A, Robin M, et al. Incidence and risk factors of EBV reactivation after unrelated cord blood transplantation: a Eurocord and Societe Francaise de Greffe de Moelle-Therapie Cellulaire collaborative study. *Bone Marrow Transplant.* Feb 2013;48(2):253-256.
70. Van Esser JWJ, Van Der Holt B, Meijer E, et al. Epstein-Barr virus (EBV) reactivation is a frequent event after allogeneic stem cell transplantation (SCT) and quantitatively predicts EBV-lymphoproliferative disease following T-cell-depleted SCT. *Blood.* 15 Aug 2001;98(4):972-978.
71. Auger S, Orsini M, Ceballos P, et al. Controlled Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic transplantation is associated with improved survival. *Eur J Haematol.* 2014;92(5):421-428.
72. Garcia-Cadenas I, Castillo N, Martino R, et al. Impact of Epstein Barr virus-related complications after high-risk allo-SCT in the era of pre-emptive rituximab. *Bone Marrow Transplant.* Apr 2015;50(4):579-584.
73. Peric Z, Cahu X, Chevallier P, et al. Features of Epstein-Barr Virus (EBV) reactivation after reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia.* Jun 2011;25(6):932-938.
74. Chiereghin A, Prete A, Belotti T, et al. Prospective Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder prevention program in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant: Virological monitoring and first-line treatment. *Transplant Infectious Disease.* 01 Feb 2016;18(1):44-54.
75. Kullberg-Lindh C, Mellgren K, Friman V, et al. Opportunistic virus DNA levels after pediatric stem cell transplantation: serostatus matching, anti-thymocyte globulin, and total body irradiation are additive risk factors. *Transpl Infect Dis.* 2011;13(2):122-130.
76. Cesaro S, Murrone A, Mengoli C, et al. The real-time polymerase chain reaction-guided modulation of immunosuppression enables the pre-emptive management of Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2004;128(2):224-233.
77. Bordon V, Padalko E, Benoit Y, Dhooge C, Laureys G. Incidence, kinetics, and risk factors of Epstein-Barr virus viremia in pediatric patients after allogeneic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant.* Mar 2012;16(2):144-150.
78. Cohen J, Gandhi M, Naik P, et al. Increased incidence of EBV-related disease following paediatric stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Br J Haematol.* 2005;129(2):229-239.
79. Elmahdi S, Muramatsu H, Narita A, et al. Correlation of rabbit antithymocyte globulin serum levels and clinical outcomes in children who received hematopoietic stem cell transplantation from an alternative donor. *Pediatr Transplant.* Feb 2016;20(1):105-113.
80. Christopheit M, Janssen N, Weber T, et al. Cyclosporine area under the curve after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an indicator of Epstein-Barr virus DNAemia. *Leuk Lymphoma.* 2013;54(1):133-137.

81. Liu J, Bian Z, Wang X, et al. Inverse correlation of Vdelta2(+) T-cell recovery with EBV reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* Jan 2018;180(2):276-285.
82. Bogunia-Kubik K, Jaskula E, Lange A. The presence of functional CCR5 and EBV reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* Jul 2007;40(2):145-150.
83. Burns DM, Rana S, Martin E, et al. Greatly reduced risk of EBV reactivation in rituximab-experienced recipients of alemtuzumab-conditioned allogeneic HSCT. *Bone Marrow Transplant.* Jun 2016;51(6):825-832.
84. Sanz J, Arango M, Senent L, et al. EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disorder after umbilical cord blood transplantation in adults with hematological diseases. *Bone Marrow Transplant.* Mar 2014;49(3):397-402.
85. Bogunia-Kubik K, Mlynarczewska A, Jaskula E, Lange A. The presence of IFNG 3/3 genotype in the recipient associates with increased risk for Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2005;132(3):326-332.
86. Laberko A, Bogoyavlenskaya A, Shelikhova L, et al. Risk Factors for and the Clinical Impact of Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Pediatric Recipients of TCR-alpha/beta- and CD19-Depleted Grafts. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 01 Mar 2017;23(3):483-490.
87. Fan J, Jing M, Yang M, et al. Herpesvirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients seropositive for human cytomegalovirus before transplantation. *Int J Infect Dis.* May 2016;46:89-93.
88. Jaskula E, Dlubek D, Sedzimirska M, Duda D, Tarnowska A, Lange A. Reactivations of cytomegalovirus, human herpes virus 6, and Epstein-Barr virus differ with respect to risk factors and clinical outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Proc.* 2010;42(8):3273-3276.
89. Omar H, Hagglund H, Gustafsson-Jernberg A, et al. Targeted monitoring of patients at high risk of post-transplant lymphoproliferative disease by quantitative Epstein-Barr virus polymerase chain reaction. *Transpl Infect Dis.* 2009;11(5):393-399.
90. Sirvent-Von Buelzingsloewen A, Morand P, Buisson M, et al. A prospective study of Epstein-Barr virus load in 85 hematopoietic stem cell transplants. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29(1):21-28.
91. Torre-Cisneros J, Roman J, Torres A, et al. Control of Epstein-Barr virus load and lymphoproliferative disease by maintenance of CD8+ T lymphocytes in the T lymphocyte-depleted graft after bone marrow transplantation. *J Infect Dis.* 2004;190(9):1596-1599.
92. Liu Q, Xuan L, Liu H, et al. Molecular monitoring and stepwise preemptive therapy for Epstein-Barr virus viremia after allogeneic stem cell transplantation. *Am J Hematol.* 2013;88(7):550-555.
93. Greenfield HM, Gharib MI, Turner AJ, et al. The impact of monitoring Epstein-Barr virus PCR in paediatric bone marrow transplant patients: can it successfully predict outcome and guide intervention? *Pediatr Blood Cancer.* Aug 2006;47(2):200-205.
94. Liu QF, Ling YW, Fan ZP, et al. Epstein-Barr virus (EBV) load in cerebrospinal fluid and peripheral blood of patients with EBV-associated central nervous system diseases after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2013;15(4):379-392.
95. Buyck HCE, Ball S, Junagade P, Marsh J, Chakrabarti S. Prior immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin increases the risk of EBV-related lymphoproliferative disorder

- following allo-SCT for acquired aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplant.* 2009;43(10):813-816.
96. Kalra A, Roessner C, Jupp J, et al. Risk factors for post-transplant lymphoproliferative disorder after Thymoglobulin-conditioned hematopoietic cell transplantation. *Clinical Transplantation.* January 2018;32 (1) (no pagination)(e13150).
 97. Xu LP, Zhang CL, Mo XD, et al. Epstein-Barr Virus-Related Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder after Unmanipulated Human Leukocyte Antigen Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Incidence, Risk Factors, Treatment, and Clinical Outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant.* December 2015;21(12):2185-2191.
 98. Van Der Velden WJFM, Mori T, Stevens WBC, et al. Reduced PTLTD-related mortality in patients experiencing EBV infection following allo-SCT after the introduction of a protocol incorporating pre-emptive rituximab. *Bone Marrow Transplant.* November 2013;48(11):1465-1471.
 99. Small T, Papadopoulos E, Boulad F, et al. Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell-depleted bone marrow transplantation: effect of patient age and donor leukocyte infusions. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.* 1999;93(2):467-480.
 100. Gulley ML, Tang W. Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. *J Mol Diagn.* Jul 2008;10(4):279-292.
 101. Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med.* 2000;343(7):481-492.
 102. Mazon M-C, Amiel C, Agut H. Mesure et interprétation des charges virales dans les infections à herpèsvirus humains (cytomégalovirus, virus Epstein-Barr, herpèsvirus humains 6 et 8). *Revue Francophone des Laboratoires.* 2016;2016(487):47-54.
 103. D'Aveni M, Aissi-Rothe L, Venard V, et al. The clinical value of concomitant Epstein Barr virus (EBV)-DNA load and specific immune reconstitution monitoring after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Immunol.* 2011;24(4):224-232.
 104. Han SB, Bae EY, Lee JW, et al. Features of Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic hematopoietic cell transplantation in Korean children living in an area of high seroprevalence against Epstein-Barr virus. *Int J Hematol.* 2014;100(2):188-199.
 105. Islam MS, Anoop P, Gordon-Smith EC, Rice P, Datta-Nemdharry P, Marsh JC. Epstein-Barr virus infections after allogeneic stem cell transplantation: a comparison between non-malignant and malignant hematological disorders. *Hematol.* Oct 2010;15(5):344-350.
 106. Cesaro S, Pegoraro A, Tridello G, et al. A prospective study on modulation of immunosuppression for Epstein-Barr virus reactivation in pediatric patients who underwent unrelated hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation.* 2010;89(12):1533-1540.
 107. Hoshino Y, Kimura H, Tanaka N, et al. Prospective monitoring of the Epstein-Barr virus DNA by a real-time quantitative polymerase chain reaction after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2001;115(1):105-111.
 108. Neumann T, Schneidewind L, Thiele T, et al. No indication of increased infection rates using low-dose alemtuzumab instead of anti-thymocyte globulin as graft-versus-host disease prophylaxis before allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2018;20(1):e12822.
 109. Peric Z, Cahu X, Chevallier P, et al. Features of EBV reactivation after reduced intensity conditioning unrelated umbilical cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant.* Feb 2012;47(2):251-257.

110. Meijer E, Dekker AW, Lokhorst HM, Petersen EJ, Nieuwenhuis HK, Verdonck LF. Low incidence of infectious complications after nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2004;6(4):171-178.
111. Xuan L, Huang F, Fan Z, et al. Effects of intensified conditioning on Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies. *J Hematol Oncol.* 2012;5 (no pagination)(46).
112. Hakim H, Gibson C, Pan J, et al. Comparison of various blood compartments and reporting units for the detection and quantification of Epstein-Barr virus in peripheral blood. *J Clin Microbiol.* Jul 2007;45(7):2151-2155.
113. Kawa K, Sawada A, Koyama M, Inoue M. Epstein-Barr virus infection after unrelated cord blood transplantation: reactivation or reinfection? *Int J Hematol.* 2007;85(3):267.
114. Meijer E, Spijkers S, Moschatsis S, et al. Active Epstein-Barr virus infection after allogeneic stem cell transplantation: re-infection or reactivation? *Transplant infectious disease.* 2005;7(1):4-10.
115. Choquet S, Varnous S, Deback C, Golmard JL, Leblond V. Adapted treatment of Epstein-Barr virus infection to prevent posttransplant lymphoproliferative disorder after heart transplantation. *Am J Transplant.* Apr 2014;14(4):857-866.
116. Dhir S, Slatter M, Skinner R. Recent advances in the management of graft-versus-host disease. *Arch Dis Child.* 2014;99(12):1150-1157.
117. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *The Lancet.* 2009;373(9674):1550-1561.
118. Zecca M, Prete A, Rondelli R, et al. Chronic graft-versus-host disease in children: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.* 2002;100(4):1192-1200.
119. Peters C, Minkov M, Gadner H, et al. Statement of current majority practices in graft-versus-host disease prophylaxis and treatment in children. *Bone marrow transplant.* 2000;26(4):405-411.
120. Ruutu T, Gratwohl A, De Witte T, et al. Prophylaxis and treatment of GVHD: EBMT-ELN working group recommendations for a standardized practice. *Bone marrow transplant.* 2014;49(2):168-173.
121. Société Française de Greffe de Moelle et Thérapie cellulaire. Greffe de cellules souches hématopoïétiques: Livret d'information et d'aide à la décision à l'usage des patients 2013: <http://sfgm-tc.com/documents/LivretGreffeMoelle2013.pdf>.
122. Jacobsohn D. Acute graft-versus-host disease in children. *Bone marrow transplant.* 2008;41(2):215-221.
123. Eisner M, August C. Impact of donor and recipient characteristics on the development of acute and chronic graft-versus-host disease following pediatric bone marrow transplantation. *Bone marrow transplantation.* 1995;15(5):663-668.
124. Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. *Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE): Quality-assessed Reviews [Internet]:* Centre for Reviews and Dissemination (UK); 2001.
125. Eapen M, Horowitz MM, Klein JP, et al. Higher mortality after allogeneic peripheral-blood transplantation compared with bone marrow in children and adolescents: the Histocompatibility and Alternate Stem Cell Source Working Committee of the International Bone Marrow Transplant Registry. *Journal of clinical oncology.* 2004;22(24):4872-4880.

126. Kernan NA, Bordignon C, Heller G, et al. Graft failure after T-cell-depleted human leukocyte antigen identical marrow transplants for leukemia: I. Analysis of risk factors and results of secondary transplants. *Blood*. 1989;74:2227-2236.
127. Ziakas PD, Zervou FN, Zacharioudakis IM, Mylonakis E. Graft-versus-host disease prophylaxis after transplantation: a network meta-analysis. *PloS one*. 2014;9(12).
128. Furlong T, Kiem H-P, Appelbaum FR, et al. Sirolimus in combination with cyclosporine or tacrolimus plus methotrexate for prevention of graft-versus-host disease following hematopoietic cell transplantation from unrelated donors. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2008;14(5):531-537.
129. Kasper C, Sayer H, Mügge L, et al. Combined standard graft-versus-host disease (GvHD) prophylaxis with mycophenolate mofetil (MMF) in allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from unrelated donors. *Bone marrow transplantation*. 2004;33(1):65-69.
130. Militano O, Ozkaynak MF, Mehta B, van de Ven C, Hamby C, Cairo MS. Mycophenolate mofetil administered every 8 hours in combination with tacrolimus is efficacious in the prophylaxis of acute graft versus host disease in childhood, adolescent, and young adult allogeneic stem cell transplantation recipients. *Pediatric blood & cancer*. 2018;65(8):e27091.
131. Nassar A, Elgohary G, Elhassan T, Nurgat Z, Mohamed SY, Aljurf M. Methotrexate for the treatment of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of transplantation*. 2014;2014.
132. Yerushalmi R, Shem-Tov N, Danylesko I, Shouval R, Nagler A, Shimoni A. The combination of cyclosporine and mycophenolate mofetil is less effective than cyclosporine and methotrexate in the prevention of acute graft-versus host disease after stem-cell transplantation from unrelated donors. *Am J Hematol*. 2017;92(3):259-268.
133. Yuan J, Pei R, Su W, Cao J, Lu Y. Meta-analysis of the actions of antithymocyte globulin in patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Oncotarget*. 2017;8(7):10871.
134. Meijer E, Bloem AC, Dekker AW, Verdonck LF. Effect of antithymocyte globulin on quantitative immune recovery and graft-versus-host disease after partially T-cell-depleted bone marrow transplantation: a comparison between recipients of matched related and matched unrelated donor grafts. *Transplantation*. 2003;75(11):1910-1913.
135. Kawamura K. Effect of antithymocyte globulin on HLA-mismatched unrelated transplantation. *Int J Hematol*. 2019;110(1):22-29.
136. Kekre N, Antin JH. ATG in allogeneic stem cell transplantation: standard of care in 2017? Counterpoint. *Blood Adv*. 2017;1(9):573-576.
137. Ali R, Ramdial J, Algaze S, Beitinjaneh. The role of anti-thymocyte globulin or alemtuzumab-based serotherapy in the prophylaxis and management of graft-versus-host disease. *Biomedicines*. 2017;5(4):67.
138. Walker I, Panzarella T, Couban S, et al. Pretreatment with anti-thymocyte globulin versus no anti-thymocyte globulin in patients with haematological malignancies undergoing haemopoietic cell transplantation from unrelated donors: A randomised, controlled, open-label, phase 3, multicentre trial. *Lancet Oncol*. 01 Feb 2016;17(2):164-713.
139. Bacigalupo A. ATG in allogeneic stem cell transplantation: standard of care in 2017? Point. *Blood Adv*. 2017;1(9):569-572.
140. Arai Y, Jo T, Matsui H, Kondo T, Takaori-Kondo A, lymphoma. Efficacy of antithymocyte globulin for allogeneic hematopoietic cell transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Leukemia*. 2017;58(8):1840-1848.

141. Bacigalupo A. Antilymphocyte/thymocyte globulin for graft versus host disease prophylaxis: efficacy and side effects. *Bone marrow transplant.* 2005;35(3):225-231.
142. Gao X-N, Lin J, Wang L-J, et al. Risk factors and clinical outcomes of Epstein–Barr virus DNAemia and post-transplant lymphoproliferative disorders after haploidentical and matched-sibling PBSCT in patients with hematologic malignancies. *Ann Hematol.* 2019;98(9):2163-2177.
143. Lin R, Wang Y, Huang F, et al. Two dose levels of rabbit antithymocyte globulin as graft-versus-host disease prophylaxis in haploidentical stem cell transplantation: a multicenter randomized study. *BMC medicine.* 2019;17(1):156.
144. Duval M, Pedron B, Rohrllich P, et al. Immune reconstitution after haematopoietic transplantation with two different doses of pre-graft antithymocyte globulin. *Bone Marrow Transplant.* 2002;30(7):421-426.
145. Fehse N, Fehse B, Kröger N, et al. Influence of anti-thymocyte globulin as part of the conditioning regimen on immune reconstitution following matched related bone marrow transplantation. *J Hematother Stem Cell Res.* 2003;12(2):237-242.
146. Mackall C, Fry T, Gress R, Peggs K, Storek J, Toubert A. Background to hematopoietic cell transplantation, including post transplant immune recovery. *Bone marrow transplant.* 2009;44(8):457-462.
147. de Koning C, Admiraal R, Nierkens S, Boelens JJ. Immune reconstitution and outcomes after conditioning with anti-thymocyte-globulin in unrelated cord blood transplantation; the good, the bad, and the ugly. *Stem Cell Investig.* 2017;4:38.
148. Lawitschka A, Lucchini G, Strahm B, et al. Pediatric acute graft-versus-host disease prophylaxis and treatment: surveyed real-life approach reveals dissimilarities compared to published recommendations. *Transplant International.* 2020.
149. Duver F, Weisbrich B, Eyrych M, Wolfl M, Schlegel PG, Wiegeling V. Viral reactivations following hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients - A single center 11-year analysis. *PLoS ONE [Electronic Resource].* 2020;15(2):e0228451.
150. Marinho-Dias J, Baldaque I, Pinho-Vaz C, et al. Association of Epstein-Barr virus infection with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients in Portugal. *Mol Med Rep.* March 2019;19(3):1435-1442.
151. Tsoumakas K, Giamaïou K, Goussetis E, et al. Epidemiology of viral infections among children undergoing hematopoietic stem cell transplant: A prospective single-center study. *Transpl Infect Dis.* 2019;21(4):e13095.
152. Ru Y, Zhang X, Song T, et al. Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: multifactorial impact on transplant outcomes. *Bone Marrow Transplant.* 2020.
153. Biondi-Zoccai G, Romagnoli E, Agostoni P, et al. Are propensity scores really superior to standard multivariable analysis? *Contemp Clin Trials.* Sep 2011;32(5):731-740.
154. Cepeda MS, Boston R, Farrar JT, Strom BL. Comparison of logistic regression versus propensity score when the number of events is low and there are multiple confounders. *Am J Epidemiol.* Aug 1 2003;158(3):280-287.
155. Comoli P, Basso S, Zecca M, et al. Preemptive therapy of EBV-related lymphoproliferative disease after pediatric haploidentical stem cell transplantation. *American Journal of Transplantation.* June 2007;7(6):1648-1655.
156. Rustia E, Violago L, Jin Z, et al. Risk Factors and Utility of a Risk-Based Algorithm for Monitoring Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus Infections in Pediatric

- Recipients after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 01 Sep 2016;22(9):1646-1653.
157. Zeiser R, Blazar BR. Acute graft-versus-host disease—biologic process, prevention, and therapy. *N Engl J Med*. 2017;377(22):2167-2179.
 158. Andréoli AL, de Latour RP, Thépot S, Socié G. La maladie chronique du greffon contre l'hôte. *Hématologie*. 2010;16(6):420-429.
 159. Shimabukuro-Vornhagen A, Hallek MJ, Storb RF, von Bergwelt-Baildon MS. The role of B cells in the pathogenesis of graft-versus-host disease. *Blood*. 2009;114(24):4919-4927.
 160. Jethava Y, Sica S, Savani B, et al. Conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplants in acute myeloid leukemia. *Bone marrow transplant*. 2017;52(11):1504-1511.
 161. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(12):1628-1633.
 162. Fujimoto A, Hiramoto N, Yamasaki S, et al. Risk factors and predictive scoring system for post-transplant lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(7):1441-1449.
 163. Atay D, Akcay A, Erbey F, Ozturk G. The impact of alternative donor types on viral infections in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant*. Mar 2018;22(2).
 164. Li S, Wang B, Fu L, et al. Hematopoietic stem cell transplantation without in vivo T-cell depletion for pediatric aplastic anemia: A single-center experience. *Pediatr Transplant*. 2018;22(5):e13204.
 165. Pagliuca S, Bommier C, Michonneau D, et al. Epstein-Barr Virus-Associated Post-Transplantation Lymphoproliferative Disease in Patients Who Received Anti-CD20 after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(12):2490-2500.
 166. Hoegh-Petersen M, Goodyear D, Geddes MN, et al. High incidence of post transplant lymphoproliferative disorder after antithymocyte globulin-based conditioning and ineffective prediction by day 28 EBV-specific T lymphocyte counts. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46(8):1104-1112.
 167. Brunstein CG, Weisdorf DJ, DeFor T, et al. Marked increased risk of Epstein-Barr virus-related complications with the addition of antithymocyte globulin to a nonmyeloablative conditioning prior to unrelated umbilical cord blood transplantation. *Blood*. 2006;108(8):2874-2880.
 168. Styczynski J, Gil L, Tridello G, et al. Response to rituximab-based therapy and risk factor analysis in epstein barr virus-related lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplant in children and adults: A study from the infectious diseases working party of the european group for blood and marrow transplantation. *Clin Infect Dis*. 15 Sep 2013;57(6):794-802.
 169. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group P. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *J Clin Epidemiol*. Oct 2009;62(10):1006-1012.
 170. Effective Public Health Practice Project. Quality Assessment Tool For Quantitative Studies. Hamilton, ON: Effective Public Health Practice Project. 1998; Available from: https://merst.ca/wp-content/uploads/2018/02/quality-assessment-tool_2010.pdf . Accessed 30/09/2019.

171. Effective Public Health Practice Project. Dictionary for the Effective Public Health Practice Project Quality Assessment Tool For Quantitative Studies. 1998; Available from: https://merst.ca/wp-content/uploads/2018/02/quality-assessment-dictionary_2017.pdf. Accessed 30/09/2019.
172. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ*. Sep 6 2003;327(7414):557-560.
173. Borenstein M. *Introduction to meta-analysis*. Chichester, West Sussex, U.K. ; Hoboken: John Wiley & Sons; 2009.
174. Gagnier JJ, Moher D, Boon H, Beyene J, Bombardier C. Investigating clinical heterogeneity in systematic reviews: a methodologic review of guidance in the literature. *BMC Med Res Methodol*. 2012;12(1):111.
175. Harrer M, Cuijpers P, Furukawa T, Ebert D. Doing meta-analysis in R: a hands-on guide. *PROTECT Lab Erlangen*. 2019.
176. Carpentier L, Tapiero B, Alvarez F, Viau C, Alfieri C. Epstein-Barr virus (EBV) early-antigen serologic testing in conjunction with peripheral blood EBV DNA load as a marker for risk of posttransplantation lymphoproliferative disease. *The Journal of infectious diseases*. 2003;188(12):1853-1864.
177. Chang RS, Blankenship W. Spontaneous in vitro transformation of leukocytes from a neonate. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1973;144(1):337-339.
178. Weinberg A, Enomoto L, Li S, Shen D, Coll J, Shpall EJ. Risk of transmission of herpesviruses through cord blood transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2005;11(1):35-38.
179. Stanworth S, Hyde C, Heddle N, Rebulla P, Brunskill S, Murphy MF. Prophylactic platelet transfusion for haemorrhage after chemotherapy and stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004(4).
180. Gajewski JL, Johnson VV, Sandler SG, Sayegh A, Klumpp TR. A review of transfusion practice before, during, and after hematopoietic progenitor cell transplantation. *Blood*. 2008;112(8):3036-3047.
181. Gaies E, Jebabli N, Trabelsi S, et al. Methotrexate side effects: review article. *J Drug Metab Toxicol*. 2012;3(4):1-5.
182. Chan ES, Cronstein BN. Mechanisms of action of methotrexate. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2013;71(suppl 1):S5.
183. Pinana J, Valcarcel D, Fernandez-Aviles F, et al. MTX or mycophenolate mofetil with CsA as GVHD prophylaxis after reduced-intensity conditioning PBSCT from HLA-identical siblings. *Bone marrow transplant*. 2010;45(9):1449-1456.
184. Bolwell B, Sobecks R, Pohlman B, et al. A prospective randomized trial comparing cyclosporine and short course methotrexate with cyclosporine and mycophenolate mofetil for GVHD prophylaxis in myeloablative allogeneic bone marrow transplantation. *Bone marrow transplant*. 2004;34(7):621-625.
185. Kitchin JES, Pomeranz MK, Pak G, Washenik K, Shupack JL. Rediscovering mycophenolic acid: a review of its mechanism, side effects, and potential uses. *J Am Acad Dermatol*. 1997;37(3):445-449.
186. Neumann F, Graef T, Tapprich C, et al. Cyclosporine A and mycophenolate mofetil vs cyclosporine A and methotrexate for graft-versus-host disease prophylaxis after stem cell transplantation from HLA-identical siblings. *Bone marrow transplant*. 2005;35(11):1089-1093.

187. Renoult E, Buteau C, Lamarre V, Turgeon N, Tapiero B. Infectious risk in pediatric organ transplant recipients: Is it increased with the new immunosuppressive agents? *Pediatr Transplant*. 2005;9(4):470-479.
188. Freedman MS, Kaplan JM, Markovic-Plese S. Insights into the Mechanisms of the Therapeutic Efficacy of Alemtuzumab in Multiple Sclerosis. *J Clin Cell Immunol*. 2013;4(4):1000152.
189. Wiendl H, Carraro M, Comi G, et al. Lymphocyte pharmacodynamics are not associated with autoimmunity or efficacy after alemtuzumab. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2020;7(1).
190. Cohen J. Statistical power analysis for the behavioural sciences, 2nd edn.(Hillsdale, NJ: L. Erlbaum Associates). 1988.
191. v3.0 D. Available from: <http://www.dagitty.net/dags.html>. Accessed 10/01/2021, 2021.
192. Gray RJ. A class of K-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *The Annals of statistics*. 1988:1141-1154.
193. Kleinbaum DG, Klein M. *Survival analysis*. Vol 3: Springer; 2010.
194. Royston P. Estimating a smooth baseline hazard function for the Cox model. *London: Department of Statistical Science, University College London*. 2011.
195. Dunkler D, Plischke M, Leffondré K, Heinze G. Augmented backward elimination: a pragmatic and purposeful way to develop statistical models. *PLoS One*. 2014;9(11):e113677.
196. Cole SR, Hernán MA. Constructing inverse probability weights for marginal structural models. *American journal of epidemiology*. 2008;168(6):656-664.
197. Fewell Z, Hernán MA, Wolfe F, Tilling K, Choi H, Sterne JA. Controlling for time-dependent confounding using marginal structural models. *Stata J*. 2004;4(4):402-420.
198. Hernán MÁ, Brumback B, Robins JM. Marginal structural models to estimate the causal effect of zidovudine on the survival of HIV-positive men. *Epidemiology*. 2000:561-570.
199. Karim ME, Gustafson P, Petkau J, et al. Marginal structural Cox models for estimating the association between β -interferon exposure and disease progression in a multiple sclerosis cohort. *American journal of epidemiology*. 2014;180(2):160-171.
200. Robins JM, Hernan MA, Brumback B. Marginal structural models and causal inference in epidemiology: LWW; 2000.
201. van der Wal WM, Geskus RB. Ipw: an R package for inverse probability weighting. *J Stat Softw*. 2011;43(13):1-23.
202. Howe CJ, Cole SR, Lau B, Napravnik S, Eron Jr JJ. Selection bias due to loss to follow up in cohort studies. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*. 2016;27(1):91.
203. Willems S, Schat A, van Noorden M, Fiocco M. Correcting for dependent censoring in routine outcome monitoring data by applying the inverse probability censoring weighted estimator. *Statistical methods in medical research*. 2018;27(2):323-335.
204. Alonso A, Seguí-Gómez M, De Irala J, Sánchez-Villegas A, Beunza JJ, Martínez-Gonzalez MÁ. Predictors of follow-up and assessment of selection bias from dropouts using inverse probability weighting in a cohort of university graduates. *European journal of epidemiology*. 2006;21(5):351-358.
205. Buchanan AL, Hudgens MG, Cole SR, Lau B, Adimora AA, Study WsIH. Worth the weight: using inverse probability weighted Cox models in AIDS research. *AIDS research and human retroviruses*. 2014;30(12):1170-1177.
206. Hernán MA, Hernández-Díaz S, Robins JM. A structural approach to selection bias. *Epidemiology*. 2004;15(5):615-625.

207. Therneau T, Crowson C, Atkinson E. Using time dependent covariates and time dependent coefficients in the cox model. *Red.* 2013;2:1.
208. Austin PC. The use of propensity score methods with survival or time-to-event outcomes: reporting measures of effect similar to those used in randomized experiments. *Statistics in medicine.* 2014;33(7):1242-1258.
209. Cleves MA, Gould W, Marchenko YV. *An introduction to survival analysis using Stata.* Revised third edition. ed. College Station, Texas: Stata Press; 2016.
210. Palser AL, Grayson NE, White RE, et al. Genome diversity of Epstein-Barr virus from multiple tumor types and normal infection. *Journal of virology.* 2015;89(10):5222-5237.
211. Walling DM, Andritsos LA, Etienne W, et al. Molecular markers of clonality and identity in Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disease. *Journal of medical virology.* 2004;74(1):94-101.
212. Henn A, Melica G, Fourati S, Gallien S. Réactivation du CMV et de l'EBV: généralités et aspects pratiques de la prise en charge. *Le Courrier de la Transplantation.* 2016;XVI - n° 2.
213. Brissot E, Alsuliman T, Gruson B, et al. Conduite à tenir devant une réactivation EBV et un syndrome lymphoprolifératif à EBV, une réactivation ou infection à CMV et à HHV-6 après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques: recommandations de la SFGM-TC (mises à jour). *Bull Cancer.* 2017;104(12):S181-S187.
214. Haut P, Kovarik P, Shaw P, Walterhouse D, Jenson H, Kletzel M. Detection of EBV DNA in the cord blood donor for a patient developing Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorder following mismatched unrelated umbilical cord blood transplantation. *Bone marrow transplantation.* 2001;27(7):761-765.
215. Taylor JM, Cooper KL, Wei JT, Sarma AV, Raghunathan TE, Heeringa SG. Use of multiple imputation to correct for nonresponse bias in a survey of urologic symptoms among African-American men. *American Journal of Epidemiology.* 2002;156(8):774-782.
216. Lee BJ, Marsh LC. Sample selection bias correction for missing response observations. *Oxford Bulletin of Economics and Statistics.* 2000;62(2):305-322.
217. Joseph L, Bélisle P, Tamim H, Sampalis JS. Selection bias found in interpreting analyses with missing data for the prehospital index for trauma. *Journal of clinical epidemiology.* 2004;57(2):147-153.
218. Hughes RA, Heron J, Sterne JA, Tilling K. Accounting for missing data in statistical analyses: multiple imputation is not always the answer. *International journal of epidemiology.* 2019;48(4):1294-1304.
219. Eddings W, Marchenko Y. Diagnostics for multiple imputation in Stata. *Stata Journal.* 2012;12(3):353.
220. Stekhoven DJ. Using the missForest package. *R package.* 2011:1-11.
221. Stekhoven DJ, Bühlmann P. MissForest—non-parametric missing value imputation for mixed-type data. *Bioinformatics.* 2011;28(1):112-118.
222. Buuren Sv, Groothuis-Oudshoorn K. mice: Multivariate imputation by chained equations in R. *Journal of statistical software.* 2010:1-68.
223. Cox DR. Regression models and life-tables. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological).* 1972;34(2):187-202.
224. Kelly PJ, Lim LLY. Survival analysis for recurrent event data: an application to childhood infectious diseases. *Statistics in medicine.* 2000;19(1):13-33.
225. Commenges D, Jacqmin-Gadda H. *Modèles biostatistiques pour l'épidémiologie: De Boeck Supérieur;* 2015.

226. Amorim LD, Cai J. Modelling recurrent events: a tutorial for analysis in epidemiology. *International journal of epidemiology*. 2015;44(1):324-333.
227. Cook RJ, Lawless JF, SpringerLink (Service en ligne). The statistical analysis of recurrent events. *Statistics for biology and health*. New York: Springer;; 2007: <http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-69810-6> Accès réservé UdeM.
228. Allison PD. *Event history and survival analysis*. Second edition. ed. Thousand Oaks, California: SAGE; 2014.
229. Fox J, Friendly GG, Graves S, et al. The car package. *R Foundation for Statistical Computing*. 2007.
230. Fox J, Monette G. Generalized Collinearity Diagnostics. *Journal of the American Statistical Association*. 1992/03/01 1992;87(417):178-183.
231. Allison P. When Can You Safely Ignore Multicollinearity? 2012; <https://statisticalhorizons.com/multicollinearity>. Accessed 20/07/2019, 2019.
232. Vatcheva KP, Lee M, McCormick JB, Rahbar MH. Multicollinearity in Regression Analyses Conducted in Epidemiologic Studies. *Epidemiology (Sunnyvale)*. Apr 2016;6(2).
233. Menard SW. *Applied logistic regression analysis*. Thousand Oaks: Sage Publications; 1995.
234. O'Brien RM. A caution regarding rules of thumb for variance inflation factors. *Quality & quantity*. 2007;41(5):673-690.
235. Johnston R, Jones, K., & Manley, D. Confounding and collinearity in regression analysis: a cautionary tale and an alternative procedure, illustrated by studies of British voting behaviour. *Quality & quantity*. 2018;52(4):1957-1976.
236. Martinussen T, Scheike TH. *Dynamic regression models for survival data*. New York: Springer; 2006.
237. Aalen OO, Scheike TH. Aalen's additive regression model. *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online*. 2014.
238. Scheike MT. Package 'timereg'. 2019.
239. Hosmer Jr DW, Lemeshow S, Sturdivant RX. *Applied logistic regression*. Vol 398: John Wiley & Sons; 2013.
240. Fine JP, Gray RJ. A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *Journal of the American statistical association*. 1999;94(446):496-509.
241. Austin PC, Lee DS, Fine JP. Introduction to the analysis of survival data in the presence of competing risks. *Circulation*. 2016;133(6):601-609.
242. Putter H, Fiocco M, Geskus RB. Tutorial in biostatistics: competing risks and multi-state models. *Statistics in medicine*. 2007;26(11):2389-2430.
243. Andersen PK, Gill RD. Cox's regression model for counting processes: a large sample study. *The annals of statistics*. 1982:1100-1120.
244. Austin PC, Stuart EA. Moving towards best practice when using inverse probability of treatment weighting (IPTW) using the propensity score to estimate causal treatment effects in observational studies. *Statistics in medicine*. 2015;34(28):3661-3679.
245. Normand S-LT, Landrum MB, Guadagnoli E, et al. Validating recommendations for coronary angiography following acute myocardial infarction in the elderly: a matched analysis using propensity scores. *Journal of clinical epidemiology*. 2001;54(4):387-398.
246. Leite W. *Practical propensity score methods using R*. Los Angeles: Sage; 2017.
247. McKeague IW, Sasieni PD. A partly parametric additive risk model. *Biometrika*. 1994;81(3):501-514.

248. Scheike TH. The additive nonparametric and semiparametric Aalen model as the rate function for a counting process. *Lifetime Data Analysis*. 2002;8(3):247-262.
249. Pénichoux J. *Modèles multiplicatifs du risque pour des évènements successifs en présence d'hétérogénéité*: ÉCOLE DOCTORALE DE SANTÉ PUBLIQUE ED420, UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11; 2012.
250. Royston P, White IR. Multiple imputation by chained equations (MICE): implementation in Stata. *J Stat Softw*. 2011;45(4):1-20.
251. White IR, Royston P, Wood AM. Multiple imputation using chained equations: issues and guidance for practice. *Statistics in medicine*. 2011;30(4):377-399.
252. Clark TG, Altman DG. Developing a prognostic model in the presence of missing data: an ovarian cancer case study. *Journal of clinical epidemiology*. 2003;56(1):28-37.
253. Marshall A, Altman DG, Holder RL, Royston P. Combining estimates of interest in prognostic modelling studies after multiple imputation: current practice and guidelines. *BMC Med Res Methodol*. Jul 28 2009;9:57.
254. Thoemmes F, Ong AD. A primer on inverse probability of treatment weighting and marginal structural models. *Emerging Adulthood*. 2016;4(1):40-59.
255. Austin PC, Latouche A, Fine JP. A review of the use of time-varying covariates in the Fine-Gray subdistribution hazard competing risk regression model. *Stat Med*. Jan 30 2020;39(2):103-113.
256. Latouche A, Porcher R, Chevret S. A note on including time-dependent covariate in regression model for competing risks data. *Biom J*. Dec 2005;47(6):807-814.
257. Hill AB. The Environment and Disease: Association or Causation? *Proc R Soc Med*. May 1965;58:295-300.
258. Ram R, Storb R. Pharmacologic prophylaxis regimens for acute graft-versus-host disease: past, present and future: Taylor & Francis; 2013.
259. Hoegh-Petersen M, Amin M, Liu Y, et al. Anti-thymocyte globulins capable of binding to T and B cells reduce graft-vs-host disease without increasing relapse. *Bone marrow transplant*. 2013;48(1):105-114.
260. Mohty M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia*. 2007;21(7):1387-1394.
261. Čičkušić E, Mustedanagić-Mujanović J, Iljazović E, Karasalihović Z, Škaljić I. Association of Hodgkin's lymphoma with Epstein Barr virus infection. *Bosn J Basic Med Sci*. 2007;7(1):58.
262. Glaser SL, Lin RJ, Stewart SL, et al. Epstein-Barr virus-associated Hodgkin's disease: epidemiologic characteristics in international data. *Int J Cancer*. 1997;70(4):375-382.
263. van der Maas NG, Berghuis D, van der Burg M, Lankester AC. B Cell Reconstitution and Influencing Factors After Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:782.
264. Sixbey JW, Nedrud JG, Raab-Traub N, Hanes RA, Pagano JS. Epstein-Barr virus replication in oropharyngeal epithelial cells. *New England Journal of Medicine*. 1984;310(19):1225-1230.
265. Renzette N, Somasundaran M, Brewster F, et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 genetic variability in peripheral blood B cells and oropharyngeal fluids. *J Virol*. Apr 2014;88(7):3744-3755.
266. Kwok H, Chan KW, Chan KH, Chiang AK. Distribution, persistence and interchange of Epstein-Barr virus strains among PBMC, plasma and saliva of primary infection subjects. *PLoS One*. 2015;10(3):e0120710.

267. Rose G. Sick individuals and sick populations. *International journal of epidemiology*. 2001;30(3):427-432.
268. Vamvakas EC, Tegtmeier GE. Herpes viruses. *Transfusion microbiology*: Cambridge University Press Cambridge, UK; 2008:35-58.
269. Al Hamed R, Bazarbachi AH, Mohty M. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease (EBV-PTLD) in the setting of allogeneic stem cell transplantation: a comprehensive review from pathogenesis to forthcoming treatment modalities. *Bone marrow transplantation*. 2019:1-15.
270. Bosch M, Dhadda M, Hoegh-Petersen M, et al. Immune reconstitution after anti-thymocyte globulin-conditioned hematopoietic cell transplantation. *Cytotherapy*. 2012;14(10):1258-1275.
271. Alfieri C, Allison A, Kieff E. Effect of mycophenolic acid on Epstein-Barr virus infection of human B lymphocytes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1994;38(1):126-129.
272. Yu X-X, Cao X-H, Yan H, et al. Delay expression of NKp30 on NK cells correlates with long-term mycophenolate mofetil treatment and higher EBV viremia post allogeneic hematological stem cells transplantation. *Clin Immunol*. 2019;205:49-56.
273. Yun JSW, Yap T, Martyres R, Kern JS, Varigos G, Scardamaglia L. The association of mycophenolate mofetil and human herpes virus infection. *Journal of Dermatological Treatment*. 2020;31(1):46-55.
274. Birkeland S, Andersen H, Hamilton-Dutoit SJ. Preventing acute rejection, Epstein-Barr virus infection, and posttransplant lymphoproliferative disorders after kidney transplantation: use of aciclovir and mycophenolate mofetil in a steroid-free immunosuppressive protocol. *Transplantation*. 1999;67(9):1209-1214.
275. Holmes MV, Caplin B, Atkinson C, et al. Prospective monitoring of Epstein-Barr virus DNA in adult renal transplant recipients during the early posttransplant period: role of mycophenolate mofetil. *Transplantation*. 2009;87(6):852-856.
276. Wang H, Zhang T-T, Qi J-Q, et al. Incidence, risk factors, and clinical significance of Epstein-Barr virus reactivation in myelodysplastic syndrome after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol*. 2019;98(4):987-996.
277. Piriou E, Asito AS, Sumba PO, et al. Early age at time of primary Epstein-Barr Virus infection results in poorly controlled viral infection in infants from Western Kenya: clues to the Etiology of Endemic Burkitt Lymphoma. *Journal of Infectious Diseases*. 2012;205(6):906-913.
278. Slyker JA, Casper C, Tapia K, et al. Clinical and virologic manifestations of primary Epstein-Barr virus (EBV) infection in Kenyan infants born to HIV-infected women. *The Journal of infectious diseases*. 2013;207(12):1798-1806.
279. Peduzzi P, Concato J, Feinstein AR, Holford TR. Importance of events per independent variable in proportional hazards regression analysis. II. Accuracy and precision of regression estimates. *J Clin Epidemiol*. Dec 1995;48(12):1503-1510.
280. Pommier J, Grimaud O. Les fonctions essentielles de santé publique: histoire, définition et applications possibles. *Santé publique*. 2007;19(hs):9-14.

Annexes

Annexe 1 : Maquette du tableau d'extraction des informations dans les articles pour la revue systématique

1 ^{er} Auteur, année publication	Pays	Année de la greffe	Devis d'étude	Type/source de greffe	Taille échantillon	Âge des patients	Produit sanguin utilisé pour les tests	Définition de l'issue	Fréquence de mesure de l'issue	Durée de suivi des patients	Facteurs de risque	Variables de confusion/ajustement	Outils de mesure des variables	Méthodes statistiques	Résultats (coefficients, IC95%, p-value)	Observations
Auteur 1											Facteur 1					
											...					
															
											Facteur n					
Auteur 2											Facteur 1					
											...					
															
											Facteur n					
...											Facteur 1					
											...					
															
											Facteur n					
Auteur n											Facteur 1					
											...					
															
											Facteur n					

Annexe 2 : Formulaires de collecte des données de l'étude TREASuRE

Les contenus des MRF 2, 3 et 4 sont identiques. C'est pourquoi nous avons juste présenté les CRF 1 et 2.

<p>TREASuRE study</p> <p>baseline</p>	<h1>CRF-1</h1>	<p>Patient I _ I _ I - I _ I _ I _ I</p> <p style="text-align: center;">Site ID</p>
---------------------------------------	----------------	--

<u>Inclusion criteria</u>	
<u>All questions must be answered to recruit the patient:</u>	
1. Patient will undergo an allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
2. Patient is under 21 years old	<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
3. Patient will undergo his/her first transplantation	<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No

Transplantation date: |_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

Part 1: SOCIODEMOGRAPHIC and PRE-TRANSPLANT INDICATORS	
1. Date of hospital admission: _ _ / _ _ _ _ / _2_ _0_ _1_ _ D D M M M Y Y Y Y	
2. Birth date: _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	
3. Gender: <input type="checkbox"/> Male <input type="checkbox"/> Female	
4. Primary diagnosis:	
4.1. Acute myelogenous leukemia (AML or ANLL)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.2. Acute lymphoblastic leukemia (ALL)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.3. Other acute leukemia	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.4. Chronic myelogenous leukemia (CML)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no

4.5. Other leukemia	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.6. Myelodysplastic (MDS)/myeloproliferative (MPS) diseases	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.7. Non-Hodgkin lymphoma	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.8. Hodgkin lymphoma	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.9. Severe aplastic anemia	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.10. Inherited abnormalities of erythrocyte differentiation or function	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.11. Disorders of the immune system	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.12. Inherited abnormalities of platelets	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.13. Inherited disorders of metabolism	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.14. Histiocytic disorders	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.15. Autoimmune diseases	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.16. Other disease (specify : _____)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
5. Date of primary diagnosis: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	
6. Chemotherapy received (other than pre-transplant conditioning chemotherapy):	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no

Part 2: HSCT

1. Graft source:

- | | |
|----------------------------------|--------------------------|
| 1.1. Cord blood | <input type="checkbox"/> |
| 1.2. Marrow | <input type="checkbox"/> |
| 1.3. Peripheral blood stem cells | <input type="checkbox"/> |

2. Donor match

- | | |
|---|--|
| 2.1. Syngeneic (monozygotic twin) | <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no |
| 2.2. HLA-identical sibling (may include non-monozygotic twin) | <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no |
| 2.3. HLA-matched other relative | <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no |
| 2.4. HLA-mismatched relative
<i>If yes, degree of mismatch</i> | <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no |

2.4.1. 1 HLA antigen mismatch	<input type="checkbox"/>
2.4.2. \geq 2 HLA antigen mismatch (full haploidentical)	<input type="checkbox"/>
2.5. Unrelated match	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.6. Unrelated mismatch <i>If yes, degree of mismatch</i>	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.6.1. 1 HLA antigen mismatch	<input type="checkbox"/>
2.6.2. \geq 2 HLA antigen mismatch (full haploidentical)	<input type="checkbox"/>

PART 3: CONDITIONING and GVH PROPHYLAXIS

1. Pre-transplant conditioning chemotherapy	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2. Was the following performed as part of the pre-HSCT preparative regimen? <i>If yes, complete the following</i>	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.1. Busulfan, total dose \geq 12 mg/kg	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.2. Busulfan, total dose <12 mg/kg	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.3. Total body irradiation \geq 10 Gy	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.4. Total Body Irradiation <10 Gy	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.5. Melphalan	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.6. Cyclophosphamide	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.7. Ara-C	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.8. Fludarabine	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.9. Thiotepa	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no

PART 3: CONDITIONING and GVH PROPHYLAXIS

2.10. Other	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.10.1. If yes, specify _____	
2.10.2. If yes, specify _____	
3. Was the graft in vitro T-depleted?	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no

4. Was specific therapy used after the start of the preparative regimen ?				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no	
<i>If yes, please complete</i>						
4.1.	<input type="checkbox"/> ALS	<input type="checkbox"/> ALG	<input type="checkbox"/> ATS	<input type="checkbox"/> ATG	<input type="checkbox"/> Alemtuzumab or similar antibodies	
4.2.	Corticosteroids (systemic)				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
4.3.	Cyclosporine (CSA) (Sandimmune, Neoral)				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
4.4.	FK 506 (Tacrolimus, Prograf)				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
4.5.	Methotrexate (MTX) (Amethopterin)				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
4.6.	Mycophenolate mofetil (MMF) (CellCept)				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
4.7.	Rituximab				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
4.8.	Sirolimus				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
4.9.	Other agent (specify : _____)				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no

PART 4: ANTIVIRAL PROPHYLAXIS						
1. Antiviral drugs					<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
<i>If yes, please check one or more of the following drugs</i>						
1.1.	Acyclovir				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
1.2.	Valaciclovir				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
1.3.	Famciclovir				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
1.4.	Ganciclovir				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
1.5.	Valganciclovir				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
1.6.	Cidofovir				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
1.7.	Foscarnet				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
1.8.	Other (please specify: _____)				<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no
2. IVIG or IM immunoglobulins prophylaxis					<input type="checkbox"/> yes	<input type="checkbox"/> no

PART 5: DONOR: ALL PRE-TRANSPLANT EBV SEROLOGY

1. Cord-blood transplantation

If yes, go to Part 6

yes no

2. Serology testing for the donor

If yes, complete question

yes no

DONOR EBV serology*: confirm the interpretation (positive, negative, doubtful or N/A)

	DATE (dd/mmm/yyyy)	VCA (IgG)				EBNA (IgG)				EA (IgG)			
		pos	neg	doubtful	N/D	pos	neg	doubtful	N/D	pos	neg	doubtful	N/D
2.1.	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre
		____/____				____/____				____/____			
2.2.	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre
		____/____				____/____				____/____			

* list all if more than one (see extra sheet at the end of the CRF)

PART 6: RECIPIENT: ALL PRE-TRANSPLANT EBV SEROLOGY

1. Serology testing for the recipient

complete question

yes no If yes,

RECIPIENT EBV serology*: confirm the interpretation (positive, negative, doubtful or N/A)

	DATE (dd/mmm/yyyy)	VCA (IgG)				EBNA (IgG)				EA (IgG)			
		pos	neg	doub	N/D	pos	neg	doub	N/D	pos	neg	doub	N/D
1.1.	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre
		____/____				____/____				____/____			
1.2.	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Titre
		____/____				____/____				____/____			

1.3.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Titre ____/____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Titre ____/____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Titre ____/____
1.4.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Titre ____/____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Titre ____/____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Titre ____/____
1.5.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Titre ____/____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Titre ____/____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Titre ____/____

* list all if more than one (see extra sheet at the end of the CRF)

PART 7: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (During the 2 months prior the day of HSCT)			
1. RED BLOOD CELLS (detail each unit of red blood received) <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No			
	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Unit #
1.1.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.2.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.3.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.4.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.5.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.6.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.7.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.8.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.9.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.10.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.11.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.12.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.13.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.14.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.15.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.16.	___/___/20__	_ _ _ _	
1.17.	___/___/20__	_ _ _ _	

1.18.	__/__/20__	_ _ _ _	
1.19.	__/__/20__	_ _ _ _	
1.20.	__/__/20__	_ _ _ _	
1.21.	__/__/20__	_ _ _ _	
1.22.	__/__/20__	_ _ _ _	
1.23.	__/__/20__	_ _ _ _	
1.24.	__/__/20__	_ _ _ _	
1.25.	__/__/20__	_ _ _ _	
1.26.	More than 25 red blood cells (RBC) transfusions have been done		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
	If yes, please use extra sheet for RBC products received (ES-RBCR) at the end of the CRF		

PART 7: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (During the 2 months prior the day of HSCT)

2. PLATELETS (detail each unit of platelets received) Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Unit #
2.1.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.2.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.3.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.4.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.5.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.6.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.7.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.8.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.9.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.10.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.11.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.12.	__/__/20__	_ _ _ _	

2.13.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.14.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.15.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.16.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.17.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.18.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.19.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.20.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.21.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.22.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.23.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.24.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.25.	__/__/20__	_ _ _ _	
2.26.	More than 25 platelets transfusions have been done		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
	If yes, use extra sheet for platelets received (ES-PT-R) at the end of the CRF		

PART 7: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (During the 2 months prior the day of HSCT)

3. FRESH FROZEN PLASMA (detail each unit of FFP received)			<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Unit #
3.1.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.2.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.3.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.4.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.5.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.6.	__/__/20__	_ _ _ _	

3.7.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.8.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.9.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.10.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.11.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.12.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.13.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.14.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.15.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.16.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.17.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.18.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.19.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.20.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.21.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.22.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.23.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.24.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.25.	__/__/20__	_ _ _ _	
3.26.	<p>More than 25 fresh frozen plasma (FFP) transfusions have been <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No done If yes, use extra sheet for FFP products received (ES-FFP-R) at the end of the CRF</p>		

PART 7: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (During the 2 months prior the day of HSCT)

4. CRYOPRECIPITATES (detail each unit of cryoprecipitate received)

Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Unit #
4.1.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.2.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.3.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.4.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.5.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.6.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.7.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.8.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.9.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.10.	___/___/20__	_ _ _ _	
4.11.	More than 10 cryoprecipitate (CR) transfusions have been done If yes, use extra sheet for CR received (ES-CR-R) at the end of the CRF		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No

5. **ALBUMIN (5%)** (detail each unit of albumin 5% received) Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Expiry date (dd/mmm/yyyy)
5.1.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.2.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.3.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.4.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.5.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.6.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.7.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.8.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.9.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.10.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
5.11.	More than 10 albumin 5% (A5) transfusions have been done		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No

If yes, use extra sheet for A5 received (ES-A5-R) at the end of the CRF

PART 7: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (During the 2 months prior the day of HSCT)

6. ALBUMIN (25%) (detail each unit of albumin 25% received)

Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Expiry date (dd/mmm/yyyy)
6.1.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
6.2.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
6.3.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
6.4.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
6.5.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
6.6.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
6.7.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
6.8.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
6.9.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__
6.10.	___/___/20__	_ _ _ _	___/___/20__

6.11. More than 10 albumin 25% (A25) transfusions have been done

Yes No

If yes, use extra sheet for A25 received (ES-A25-R) at the end of the CRF

7. IMMUNOGLOBULIN (detail each unit of immunoglobulin received)

Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Qty transfused (g or µg per transfusion)	Expiry date (dd/mmm/yyyy)
7.1.	___/___/20__	_ _ _ .l. _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/20__
7.2.	___/___/20__	_ _ _ .l. _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/20__
7.3.	___/___/20__	_ _ _ .l. _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/20__
7.4.	___/___/20__	_ _ _ .l. _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/20__
7.5.	___/___/20__	_ _ _ .l. _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/20__
7.6.	___/___/20__	_ _ _ .l. _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/20__

TREASuRE study
BASELINE

CRF 1

Patient |__|__| - |__|__|__|
Site ID

SIGNATURE(S)

SIGNATURES

SIGNATURES			
Site Investigator (mandatory)	_____ Printed name	_____ Signature	___/___/201___ (dd/mmm/yyyy)
Site Research Coordinator/assistant (optional)	_____ Printed name	_____ Signature	___/___/201___ (dd/mmm/yyyy)

I reviewed the content of the CRF and I hereby confirm that the data of the case report form has been as accurate and complete. **Site Research Assistant:** Signature optional

**PLEASE FAX THIS COMPLETED CRF TO THE TREASuRE COORDINATING CENTER
AT 514-345-2160**

<p>TREASuRE study</p> <p>baseline</p>	<h1>CRF-2</h1>	<p>Patient I _ I _ I - I _ I _ I _ I</p> <p style="text-align: center;">Site ID</p>
---------------------------------------	----------------	---

Day-100 date: |_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

PART 1: PATIENT STATUS	
1. Patient still in the hospital at day-100	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.1. If no, date of hospital discharge: _ _ / _ _ / _ _ _ _ <small style="margin-left: 100px;">D D M M M Y Y Y Y</small>	
2. Has the patient been re-hospitalized since the first hospital discharge and day-100 <i>If yes, complete</i>	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.1. Number of re-hospitalisation(s)	_ _
2.2. Reason(s) for re-hospitalisation(s)	
2.2.1. Relapse	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.2.2. GVHD (<i>If yes, complete PART 7</i>)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.2.3. Infection	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.2.4. Other (specify _____)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.2.5. Other (specify _____)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.2.6. Other (specify _____)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.2.7. Other (specify _____)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
3. Patient alive at day-100?	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
<i>If no, complete below</i>	
3.1. Date of death _ _ / _ _ / _ _ _ _ <small style="margin-left: 100px;">D D M M M Y Y Y Y</small>	
3.2. Main cause of death	
3.2.1. ARDS	<input type="checkbox"/>
3.2.2. Due to protocol treatment	<input type="checkbox"/>
3.2.3. Due to primary diagnosis	<input type="checkbox"/>
3.2.4. GVHD	<input type="checkbox"/>
3.2.5. Hemorrhages	<input type="checkbox"/>

3.2.6.	Infection, please specify _____	?
3.2.7.	Multi-organ failure	?
3.2.8.	Other malignant tumor	?
3.2.9.	VOD	?
3.2.10.	Unknown	?

PART 2: POST-TRANSPLANTATION PCR RESULTS FOR EBV TESTING IN RECIPIENTS (from HSCT to day-100)

1. **PCR Results:** list all EBV PCR tests performed on the recipient's **blood** NONE [?]
(there should be at least one EBV PCR test result per week during hospitalisation)

	Date PCR EBV (dd/mmm/yyyy)	Results for PCR EBV			If positive, number of copies
		Pos.	Neg.	Unkn.	
1.1.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.2.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.3.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.4.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.5.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.6.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.7.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.8.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.9.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.10.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]
1.11.	___/___/201__	?	?	?	ml [?] or μ l [?]

1.12.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
1.13.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
1.14.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
1.15.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
1.16.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
1.17.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
1.18.	___/___/201__	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
1.19.	<p>More than 20 PCR have been done</p> <p>If yes, please use extra sheet for PCR testing in blood (ES-PCR-B) at the end of the CRF</p>		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No

PART 3: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (from HSCT to day-100)			
1. RED BLOOD CELLS (detail each unit of red blood received)			<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Unit #
1.1.	___/___/201__	_ _ _ _	
1.2.	___/___/201__	_ _ _ _	
1.3.	___/___/201__	_ _ _ _	
1.4.	___/___/201__	_ _ _ _	
1.5.	___/___/201__	_ _ _ _	
1.6.	___/___/201__	_ _ _ _	
1.7.	___/___/201__	_ _ _ _	
1.8.	___/___/201__	_ _ _ _	

1.9.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.10.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.11.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.12.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.13.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.14.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.15.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.16.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.17.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.18.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.19.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.20.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.21.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.22.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.23.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.24.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.25.	__/__/201__	_ _ _ _	
1.26.	More than 25 red blood cells (RBC) transfusions have been done		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
	If yes, please use extra sheet for RBC products received (ES-RBCR) at the end of the CRF		

PART 3: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (from HSCT to day-100)

2. **PLATELETS** (detail each unit of platelets received) Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Unit #
2.1.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.2.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.3.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.4.	__/__/201__	_ _ _ _	

2.5.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.6.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.7.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.8.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.9.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.10.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.11.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.12.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.13.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.14.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.15.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.16.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.17.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.18.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.19.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.20.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.21.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.22.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.23.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.24.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.25.	__/__/201__	_ _ _ _	
2.26.	More than 25 platelets transfusions have been done		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
	If yes, use extra sheet for platelets received (ES-PT-R) at the end of the CRF		

PART 3: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (from HSCT to day-100)			
3. FRESH FROZEN PLASMA (detail each unit of FFP received)			<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Unit #

3.1.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.2.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.3.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.4.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.5.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.6.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.7.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.8.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.9.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.10.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.11.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.12.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.13.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.14.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.15.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.16.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.17.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.18.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.19.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.20.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.21.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.22.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.23.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.24.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.25.	__/__/201__	_ _ _ _	
3.26.	More than 25 fresh frozen plasma (FFP) transfusions have been <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No done If yes, use extra sheet for FFP products received (ES-FFP-R) at the end of the CRF		

PART 3: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (from HSCT to day-100)

4. CRYOPRECIPITATES (detail each unit of cryoprecipitate received) Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Unit #
4.1.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.2.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.3.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.4.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.5.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.6.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.7.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.8.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.9.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.10.	___/___/201__	_ _ _ _	
4.11.	More than 10 cryoprecipitate (CR) transfusions have been done If yes, use extra sheet for CR received (ES-CR-R) at the end of the CRF		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No

5. ALBUMIN (5%) (detail each unit of albumin 5% received) Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Expiry date (dd/mmm/yyyy)
5.1.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
5.2.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
5.3.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
5.4.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
5.5.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
5.6.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
5.7.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
5.8.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
5.9.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__

5.10.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
5.11.	More than 10 albumin 5% (A5) transfusions have been done		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
	If yes, use extra sheet for A5 received (ES-A5-R) at the end of the CRF		

PART 3: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (from HSCT to day-100)

6. ALBUMIN (25%) (detail each unit of albumin 25% received) Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (ml) (per transfusion)	Expiry date (dd/mmm/yyyy)
6.1.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.2.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.3.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.4.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.5.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.6.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.7.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.8.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.9.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.10.	___/___/201__	_ _ _ _	___/___/201__
6.11.	More than 10 albumin 25% (A25) transfusions have been done		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
	If yes, use extra sheet for A25 received (ES-A25-R) at the end of the CRF		

7. IMMUNOGLOBULIN (detail each unit of immunoglobulin received) Yes No

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Qty transfused (g or µg per transfusion)	Expiry date (dd/mmm/yyyy)
7.1.	___/___/201__	_ _ _ _ . _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__
7.2.	___/___/201__	_ _ _ _ . _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__
7.3.	___/___/201__	_ _ _ _ . _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__
7.4.	___/___/201__	_ _ _ _ . _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__
7.5.	___/___/201__	_ _ _ _ . _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__
7.6.	___/___/201__	_ _ _ _ . _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__

7.7.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__
7.8.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__
7.9.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__
7.10.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g or <input type="checkbox"/> µg	___/___/201__
7.11.	More than 10 immunoglobulin (I) transfusions have been done If yes, use extra sheet for I received (ES-I-R) at the end of the CRF		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No

PART 3: BLOOD PRODUCTS RECEIVED (from HSCT to day-100)

8. **OTHER PRODUCTS** (detail each unit of other products received): Yes No

If yes, specify: _____

	Date of each unit transfused (dd/mmm/yyyy)	Volume transfused (g, µg or ml per transfusion)	Expiry date (dd/mmm/yyyy)
8.1.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.2.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.3.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.4.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.5.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.6.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.7.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.8.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.9.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.10.	___/___/201__	_ _ _ _ .l_ _ <input type="checkbox"/> g, <input type="checkbox"/> µg or <input type="checkbox"/> ml	___/___/201__
8.11.	More than 10 other product (OP) transfusions have been done If yes, use extra sheet for OP received (ES-OP-R) at the end of the CRF		<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No

PART 4: PTLD

1. Suspected post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) <i>If yes, please complete. If no, go to Part 5</i>	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.1. Date of PTLD suspicion: _ _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	

PTLD DIAGNOSTIC CRITERIA	
1.2. Fever	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.3. Splenomegaly	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.4. Lymphadenopathy	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.4.1. If yes, please specify location _____	
1.5. Hepatomegaly	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.6. Nephromegaly	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.7. Effusion <i>If yes, complete</i>	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.7.1. Pleural	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.7.2. Pericardial	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.7.3. Ascitis	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.7.4. Other, please specify _____	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.8. Mouth lesion (leukoplakia)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.9. Tonsil abnormalities (e.g. enlargement)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
1.10. Other, please specify _____	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no

PART 4: PTLD

2. EBV PCR testing in other than blood specimen

yes no

If yes, please complete

	Type of specimen*	Date PCR EBV (dd/mmm/yyyy)	PCR EBV			If positive, number of copies
			Pos	Neg	Unkn.	
2.1.	lymph node <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
2.2.	BAL <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
2.3.	CSF <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
2.4.	Ascites <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
2.5.	Pleural fluid <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
2.6.	Pericardial fluid <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
2.7.	Other <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no _____	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ml <input type="checkbox"/> or μ l <input type="checkbox"/>
2.8.	More than one PCR (PCR) have been tested If yes, use extra sheet for PCR (ES-PCR) at the end of the CRF					<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No

PART 4: PTLD

3. IMAGING

yes no

If yes, please complete below

3.1. FDG-PET scan

yes no

3.1.1. How many negative were performed?	_____
3.1.2. How many positive (PTLD, lymphoma or Lymphoproliferative-type lesion)	_____
→ List all positive (date and conclusion)	
3.1.2.1. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
3.1.2.2. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
3.1.2.3. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
3.2. CT scan	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
3.2.1. How many negative were performed?	_____
3.2.2. How many positive (PTLD, lymphoma or Lymphoproliferative-type lesion)	_____
→ List all positive (date and conclusion)	
3.2.2.1. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
3.2.2.2. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
3.2.2.3. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
3.3. MRI	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
3.3.1. How many negative were performed?	_____
3.3.2. How many positive (PTLD, lymphoma or Lymphoproliferative-type lesion)	_____

PART 4: PTLD

→ **List all positive (date and conclusion)**

3.3.2.1. |_|_|/|_|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

- PTLD
- Lymphoma
- Lymphoproliferative-type lesion

3.3.2.2. |_|_|/|_|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

- PTLD
- Lymphoma
- Lymphoproliferative-type lesion

3.3.2.3. |_|_|/|_|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

- PTLD
- Lymphoma
- Lymphoproliferative-type lesion

3.4. Ultrasonography

yes no

3.4.1. How many negative were performed?

3.4.2. How many positive (PTLD, lymphoma or Lymphoproliferative-type lesion)

→ **List all positive (date and conclusion)**

3.4.2.1. |_|_|/|_|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

- PTLD
- Lymphoma
- Lymphoproliferative-type lesion

3.4.2.2. |_|_|/|_|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

- PTLD
- Lymphoma
- Lymphoproliferative-type lesion

3.4.2.3. |_|_|/|_|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

- PTLD
- Lymphoma
- Lymphoproliferative-type lesion

3.5. Chest X-ray

yes no

3.5.1. How many negative were performed?

3.5.2. How many positive (PTLD, lymphoma or Lymphoproliferative-type lesion)

→ **List all positive (date and conclusion)**

3.5.2.1. |_|_|/|_|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

- PTLD
- Lymphoma
- Lymphoproliferative-type lesion

3.5.2.2. |_|_|/|_|_|_|/|_|_|_|_|
D D M M M Y Y Y Y

- PTLD
- Lymphoma
- Lymphoproliferative-type lesion

3.5.2.3. _ _ / _ _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
---	--

PART 4: PTLD

3.6. Other	☑ yes ☑ no
------------	------------

3.6.1. If yes, specify _____

3.6.2. How many negative were performed?	_____
--	-------

3.6.3. How many positive (PTLD, lymphoma or Lymphoproliferative-type lesion)	_____
--	-------

→ **List all positive (date and conclusion)**

3.6.3.1. _ _ / _ _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
---	--

3.6.3.2. _ _ / _ _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
---	--

3.6.3.3. _ _ / _ _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> PTLD <input type="checkbox"/> Lymphoma <input type="checkbox"/> Lymphoproliferative-type lesion
---	--

3.7. More imaging test has been performed If yes, please use extra sheet for radiology (ES-R) at the end of the CRF	☑ Yes ☑ No
--	------------

4. BIOPSY / FLUID ANALYSIS <i>If yes, please complete</i>	☑ yes ☑ no
---	------------

4.1. Lymph node	☑ yes ☑ no
-----------------	------------

4.1.1. How many hystopathology negative were performed?	_____
---	-------

4.1.2. How many hystopathology positive (Early lesions, Polymorphic PTLD, Monomorphic PTLD, Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD)	_____
---	-------

→ **List all positive (date and conclusion)**

4.1.2.1. _ _ / _ _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
---	---

4.1.2.2. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.2. Liver	☑ yes ☑ no
4.2.1. How many hystopathology negative were performed?	_____
4.2.2. How many hystopathology positive (Early lesions, Polymorphic PTLD, Monomorphic PTLD, Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD)	_____

PART 4: PTLD	
→ List all positive (date and conclusion)	
4.2.2.1. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.2.2.2. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.3. GI	☑ yes ☑ no
4.3.1. How many hystopathology negative were performed?	_____
4.3.2. How many hystopathology positive (Early lesions, Polymorphic PTLD, Monomorphic PTLD, Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD)	_____
→ List all positive (date and conclusion)	
4.3.2.1. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.3.2.2. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.4. Kidney	☑ yes ☑ no
4.4.1. How many hystopathology negative were performed?	_____

4.4.2. How many hystopathology positive (Early lesions, Polymorphic PTLD, -type Monomorphic PTLD, Classical Hodgkin lymphom PTLD)	_____
→ List all positive (date and conclusion)	
4.4.2.1. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.4.2.2. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.5. Ascites	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.5.1. How many hystopathology negative were performed?	_____
4.5.2. How many hystopathology positive (Early lesions, Polymorphic PTLD, Monomorphic PTLD, Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD)	_____

PART 4: PTLD

→ List all positive (date and conclusion)	
4.5.2.1. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.5.2.2. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.6. CSF	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.6.1. How many hystopathology negative were performed?	_____
4.6.2. How many hystopathology positive (Early lesions, Polymorphic PTLD, -type Monomorphic PTLD, Classical Hodgkin lymphom PTLD)	_____
→ List all positive (date and conclusion)	
4.6.2.1. _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD

4.6.2.2. _ _ / _ _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD	
4.7. Pleural fluid		<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.7.1. How many hystopathology negative were performed?		_____
4.7.2. How many hystopathology positive (Early lesions, Polymorphic PTLD, -type Monomorphic PTLD, Classical Hodgkin lymphom PTLD)		_____
→ List all positive (date and conclusion)		
4.7.2.1. _ _ / _ _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD	
4.7.2.2. _ _ / _ _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD	
4.8. Other		<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
4.8.1. How many hystopathology negative were performed?		_____
4.8.2. How many hystopathology positive (Early lesions, Polymorphic PTLD, Monomorphic PTLD, Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD)		_____

If you have checked at least one positive

biopsy/fluid analysis, please contact the coordinating center at: 514-345-4931 ext. 2760

PART 4: PTLD	
→ List all positive (date and conclusion)	
4.8.2.1. _ _ / _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.8.2.2. _ _ / _ _ / _ _ _ _ D D M M M Y Y Y Y	<input type="checkbox"/> Early lesions <input type="checkbox"/> Polymorphic PTLD <input type="checkbox"/> Monomorphic PTLD <input type="checkbox"/> Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD
4.9. More biopsy/fluid analysis test has been performed	
If yes, please use extra sheet for radiology (ES-BFA) at the end of the CRF	
<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No	

PART 4: PTLD		
5. List of drugs use for PTLD (preventive or treatment) <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no		
DRUGS	Date treatment starts	Reason for prescription
	Date treatment ends	
5.1. Rituximab® <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	Start: ___/___/_____ End: ___/___/_____ 	<input type="checkbox"/> Preventive <input type="checkbox"/> Treatment for confirmed PTLD
5.2. Ganciclovir <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	Start: ___/___/_____ End: ___/___/_____ 	<input type="checkbox"/> Preventive <input type="checkbox"/> Treatment for confirmed PTLD
5.3. Donor Lymphocyte Infusion (DLI) <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	Start: ___/___/_____ End: ___/___/_____ 	<input type="checkbox"/> Preventive <input type="checkbox"/> Treatment for confirmed PTLD
5.4. Specific Cytotoxic T Lymphocytes (CTLs) <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	Start: ___/___/_____ End: ___/___/_____ 	<input type="checkbox"/> Preventive <input type="checkbox"/> Treatment for confirmed PTLD

5.5. Other _____ <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	Start: ___/___/___ End: ___/___/___	<input type="checkbox"/> Preventive <input type="checkbox"/> Treatment for confirmed PTLD
--	--	--

PART 5: OTHER CONDITIONS

1. Other conditions diagnosed <i>If yes, complete below</i>	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
--	--

Conditions / Infections	Yes No	Date of diagnosis (dd/mmm/yyyy)
1.1. Hemophagocytic syndrome	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.2. Viral (ABC) Hepatitis:	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.3. CMV disease	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.4. GVH disease	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.5. Idiopathic pneumonitis	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.6. Thrombocytopenia	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.7. Encephalitis	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.8. Fungal infection	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.9. Sepsis	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___

PART 5: OTHER CONDITIONS

Conditions / Infections	Yes No	Date of diagnosis (dd/mmm/yyyy)
1.10. Viral infection, please specify (e.g. adenovirus) _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.11. Other, please specify _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___
1.12. Other, please specify _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/___/___

1.13. More than 2 other conditions or infections have been diagnosed	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	If yes, please use extra sheet for other conditions / infections (ES-OC) at the end of the CRF
--	---	--

PART 6: ADDITIONAL INFORMATION

1. Did patient undergo another **graft** (HSCT)? yes no
If yes, complete below

1.2 Date of graft: |_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|
 D D M M M Y Y Y Y

1.3 Graft source:

1.3.1 Cord blood

1.3.2 Marrow

1.3.3 Peripheral blood stem cells

1.4 Serology* testing for the donor yes no
 DONOR EBV serology*: *confirm the interpretation (positive, negative, doubtful or N/A)*

	DATE (dd/mmm/yyyy)	VCA (IgG)				EBNA (IgG)				EA (IgG)			
		pos	neg	doubt.	N/D	pos	neg	doubt.	N/D	pos	neg	doubt.	N/D
1.4.1	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Titre _____/_____				Titre _____/_____				Titre _____/_____			
1.4.2	___/___/201__	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Titre _____/_____				Titre _____/_____				Titre _____/_____			

2. Did patient undergo another **graft(s)** (HSCT)? yes no
 If yes, please use extra sheet for additional information (ES-AI) at the end of the CRF

PART 7: GVHD : GRADE AND TREATMENT

(If PART 1, question 2.2.2 is yes)

Complete below **only if you answered yes at PART 1 question 2.2.2**

1. Maximum overall grade of acute GVHD (*check one*)

grade I grade II grade III

grade IV

2. Was specific therapy used to **treat** acute GVHD?

yes no

If yes, complete below

2.1 ALS, ALG, ATS, ATG

yes no

If yes, specify source

2.1.1 Horse

yes no

2.1.2 Rabbit

yes no

2.1.3 Other (specify _____)

yes no

2.2 Azathioprine

yes no

2.3 Corticosteroids (systemic)

yes no

2.4 Corticosteroids (topical)

yes no

2.5 Cyclosporine (CSA) (Sandimmune, Neoral)

yes no

2.6 ECP (extra-corporeal photopheresis)

yes no

2.7 Etrexinate

yes no

2.8 FK 506 (Tacrolimus, Prograf)

yes no

2.9 Hydroxychloroquine (Plaquenil)

yes no

2.10 In vivo monoclonal antibody

yes no

If yes, specify

2.10.1 Anti CD 25 (Zenapax, Daclizumab, AntiTAC)

yes no

2.10.2 Alemtuzumab

yes no

2.10.3 Etanercept (Enbrel)

yes no

2.10.4 Infliximab (Remicade)

yes no

2.10.5 Other in vivo monoclonal antibody

yes no

(specify _____)

2.11 Lamprene (Clofazimine)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.12 Methotrexate (MTX) (Amethopterin)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.13 Mycophenolate mofetil (MMF) (CellCept)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.14 Pentostatin	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.15 PUVA (Psoralen and UVA)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no

PART 7: GVHD : GRADE AND TREATMENT

(If PART 1, question 2.2.2 is yes)

2.16 Sirolimus (Rapamycin, Rapamune)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.17 Thalidomide	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.18 Ursodiol	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
2.19 Other agent (specify _____)	<input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no

SIGNATURE(S)

SIGNATURES			
Site Investigator (mandatory)	_____ Printed name	_____ Signature	__ __ / __ __ __ / <u>2 0 1</u> __ (dd/mmm/yyyy)
Site Research Coordinator/ assistant (optional)	_____ Printed name	_____ Signature	__ __ / __ __ __ / <u>2 0 1</u> __ (dd/mmm/yyyy)

I reviewed the content of the CRF and I hereby confirm that the data of the case report form has been as accurate and complete. **Site Research Assistant:** Signature optional

Transfusion-related Epstein-Barr Virus (EBV) infection among allogeneic stem cell transplant pediatric recipients: a multicenter prospective cohort study (TREASuRE study)

SITE REPORT FORM FOR CANADIAN SITES

1. For your HSCT patients, do you provide irradiated blood products? yes no
2. Which labile blood products (among the following) are transfused to hematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients?
 - 2.1. Plasma
 - 2.1.1. Frozen plasma yes no
 - 2.1.2. Solvent-detergent (S/D) plasma yes no
 - 2.2. Platelets
 - 2.2.1. Apheresis platelets yes no
 - 2.2.2. Buffy coat platelets yes no
 - 2.2.3. Single donor random platelets yes no
 - 2.3. Cryoprecipitates yes no
 - 2.4. Granulocyte yes no
 - 2.5. Packed red blood cells
 - 2.5.1. AS-3 RBCs yes no
 - 2.5.2. SAGM RBCs yes no
 - 2.5.3. CPDA-1 RBCs yes no
 - 2.5.4. Other yes no

If yes, specify: _____
3. Do you transfuse washed RBCs to HSCT recipients? yes no
 - 3.1. If yes, specify indications: _____

Annexe 3 : Approbation éthique TREASuRE

Le 19 juin 2013

Madame Helen Trottier
Centre de recherche
Étage A Bloc 7



CHU Sainte-Justine
*Le centre hospitalier
universitaire mère-enfant*

Pour l'amour des enfants



OBJET: Titre du projet: Risque d'infection par le virus Epstein-Barr (EBV) via la transfusion de produits sanguins chez les enfants receveurs de greffe de cellules souches allogéniques. Une étude de cohorte prospective multicentrique

No. de dossier: 3700

Responsables du projet: Helen Trottier Ph. D., chercheuse principale. Collaborateurs: Jacques Lacroix, Marisa Tucci, Carolina Alfieri, Nancy Robitaille, Michel Duval, Chantal Bureau et Philip C. Spinella

Madame,

Votre projet cité en rubrique a été approuvé par le comité d'éthique de la recherche en date du 10 mai 2013. Vous trouverez ci-joints la liste des documents approuvés ainsi que vos formulaires d'information et de consentement estampillés dont nous vous prions de vous servir d'une copie pour distribution. Nous tenons à vous préciser que l'approbation présente est valable pour le commencement du projet au CHU Sainte-Justine uniquement. Lorsque les ententes avec les autres centres auront été finalisées par le Bureau des ententes de recherche (BER), veuillez nous en aviser afin que nous puissions approuver l'ensemble de votre projet. D'ici là, vous ne pouvez pas recruter des participants dans ces autres centres.

Tous les projets de recherche impliquant des sujets humains doivent être réexaminés annuellement et la durée de l'approbation de votre projet sera effective du **10 mai 2013 au 10 mai 2014**. Notez qu'il est de votre responsabilité de soumettre une demande au comité pour que votre projet soit renouvelé avant la date d'expiration.

Nous vous souhaitons bonne chance dans la réalisation de votre projet et vous prions de recevoir nos meilleures salutations.

Jean-Marie Therrien, Ph.D., éthicien
Président du Comité d'éthique de la recherche

JMT/sa
c.c. : BER

Le 31 mai 2016

Helen Trotter
CHU Sainte-Justine

Objet	Renouvellement de l'approbation éthique - CER
	2014-534, 3700 Risque d'infection par le virus Epstein-Barr (EBV) via la transfusion de produits sanguins chez les enfants receveurs de greffe de cellules souches allogéniques. Une étude de cohorte prospective multicentrique
	Co-chercheurs : Philip Spinella; Chantal Buteau; Michel Duval; Nancy Robitaille; Carolina Alfieri; Marisa Tucci; MD Jacques Lacroix

Bonjour,

L'approbation éthique de votre projet cité en rubrique a été renouvelée par le Comité d'éthique de la recherche du CHU Sainte-Justine en date du 30 mai 2016 et les documents suivants ont été approuvés:

- Protocole de recherche daté du 20 octobre 2014
- Formulaires d'information et de consentement, donneur de moelle de plus de 18 ans, datés du 11 mai 2016 (versions française et anglaise)
- Formulaires d'information et de consentement, parents/enfants, datés du 11 novembre 2014 (versions française et anglaise)

Les formulaires d'information et de consentement estampillés ont été déposés dans le dossier du projet. Nous vous prions de vous servir de ces versions estampillées.

Tous les projets de recherche impliquant des sujets humains doivent être réévalués annuellement. La durée de votre approbation sera effective jusqu'au 30 mai 2017. Il est de votre responsabilité de soumettre une demande au comité pour que l'approbation éthique soit renouvelée avant la date d'expiration. Il est également de votre responsabilité d'aviser le comité dans les plus brefs délais de toute modification au projet et/ou de tout événement grave et inattendu susceptible d'augmenter le niveau de risque ou d'influer sur le bien-être du participant.

En vous souhaitant une bonne poursuite de votre projet,

Carolina Martin
Conseillère en éthique,
Comité d'éthique de la recherche

Le 29 mai 2018

Madame Helen Trottier
CHU Sainte-Justine

Objet	Renouvellement de l'approbation éthique - CÉR
	2014-534, 3700 Risque d'infection par le virus Epstein-Barr (EBV) via la transfusion de produits sanguins chez les enfants receveurs de greffe de cellules souches allogéniques. Une étude de cohorte prospective multicentrique Co-chercheurs: Chantal Buteau; Phillip Spinella; Michel Duval; Nancy Robitaille; Carolina Alfieri; Marisa Tucci; MD Jacques Lacroix

Madame,

Les membres du comité restreint du Comité d'éthique de la recherche du CHU Sainte-Justine ont examiné votre demande de renouvellement de l'approbation éthique de votre projet cité en rubrique à leur réunion du 23 mai 2018. L'approbation éthique de votre projet a été renouvelée par le Comité en date du 23 mai 2018 et le document suivant a été approuvé:

- Protocole de recherche modifié daté du 27 février 2018

Les formulaires d'information et de consentement n'ont pas été réévalués puisque votre rapport annuel indique que le recrutement des participants est terminé.

Tous les projets de recherche impliquant des sujets humains doivent être réévalués annuellement. La durée de votre approbation sera effective jusqu'au 23 mai 2019. Il est de votre responsabilité de soumettre une demande au comité pour que l'approbation éthique soit renouvelée avant la date d'expiration. Il est également de votre responsabilité d'aviser le comité dans les plus brefs délais de toute modification au projet et/ou de tout événement grave et inattendu susceptible d'augmenter le niveau de risque ou d'influer sur le bien-être du participant.

En vous souhaitant une bonne poursuite de votre projet,

Carolina Martin
Conseillère en éthique,
Comité d'éthique de la recherche

Le 03 juillet 2017

Madame Helen Trottier

CHU Sainte-Justine

Objet	Renouvellement de l'approbation éthique - CÉR
	2014-534, 3700 Risque d'infection par le virus Epstein-Barr (EBV) via la transfusion de produits sanguins chez les enfants receveurs de greffe de cellules souches allogéniques. Une étude de cohorte prospective multicentrique Philip Spinella; Chantal Buteau; Michel Duval; Nancy Robitaille; Carolina Alfieri; Marisa Tucci; MD Jacques Lacroix

Madame,

Les membres du comité restreint du Comité d'éthique de la recherche du CHU Sainte-Justine ont examiné votre demande de renouvellement de l'approbation éthique de votre projet cité en rubrique à leur réunion du 14 juin 2017. L'approbation éthique de votre projet a été renouvelée par le Comité en date du 14 juin 2017 et le document suivant a été approuvé:

- Protocole de recherche daté du 20 octobre 2014

Les formulaires d'information et de consentement n'ont pas été réévalués puisque votre rapport annuel indique que le recrutement des participants est terminé.

Tous les projets de recherche impliquant des sujets humains doivent être réévalués annuellement. La durée de votre approbation sera effective jusqu'au 14 juin 2018. Il est de votre responsabilité de soumettre une demande au comité pour que l'approbation éthique soit renouvelée avant la date d'expiration. Il est également de votre responsabilité d'aviser le comité dans les plus brefs délais de toute modification au projet et/ou de tout événement grave et inattendu susceptible d'augmenter le niveau de risque ou d'influer sur le bien-être du participant.

En vous souhaitant une bonne poursuite de votre projet,

Carolina Martin
Conseillère en éthique,
Comité d'éthique de la recherche

Le 21 mai 2019

Madame Helen Trottier
CHU Sainte-Justine

Objet	Renouvellement de l'approbation éthique - CÉR
	2014-534, 3700 Risque d'infection par le virus Epstein-Barr (EBV) via la transfusion de produits sanguins chez les enfants receveurs de greffe de cellules souches allogéniques. Une étude de cohorte prospective multicentrique Co-chercheurs: Chantal Buteau; Philip Spinella; Michel Duval; Nancy Robitaille; Carolina Alfieri; Marisa Tucci; MD Jacques Lacroix

Madame,

Les membres du comité restreint du Comité d'éthique de la recherche du CHU Sainte-Justine ont examiné votre demande de renouvellement de l'approbation éthique de votre projet cité en rubrique à leur réunion du 16 mai 2019. L'approbation éthique de votre projet a été renouvelée par le Comité en date du 16 mai 2019 et le document suivant a été approuvé:

- Protocole de recherche modifié daté du 27 février 2018

Les formulaires d'information et de consentement n'ont pas été réévalués puisque votre rapport annuel indique que le recrutement des participants est terminé.

Tous les projets de recherche impliquant des sujets humains doivent être réévalués annuellement. La durée de votre approbation sera effective jusqu'au 16 mai 2020. Il est de votre responsabilité de soumettre une demande au comité pour que l'approbation éthique soit renouvelée avant la date d'expiration. Il est également de votre responsabilité d'aviser le comité dans les plus brefs délais de toute modification au projet et/ou de tout événement grave et inattendu susceptible d'augmenter le niveau de risque ou d'influer sur le bien-être du participant.

En vous souhaitant une bonne poursuite de votre projet,

Me Geneviève Cardinal
Présidente
Comité d'éthique de la recherche

Le 24 avril 2020

Madame Helen Trottier
CHU Sainte-Justine

Objet	Renouvellement de l'approbation éthique - CÉR
	2014-534, 3700 Risque d'infection par le virus Epstein-Barr (EBV) via la transfusion de produits sanguins chez les enfants receveurs de greffe de cellules souches allogéniques. Une étude de cohorte prospective multicentrique Co-chercheurs: Chantal Buteau; Philip Spinella; Michel Duval; Nancy Robitaille; Carolina Alfieri; Marisa Tucci; MD Jacques Lacroix F9-23355

Madame,

Les membres du comité restreint du Comité d'éthique de la recherche du CHU Sainte-Justine ont examiné votre demande de renouvellement de l'approbation éthique de votre projet cité en rubrique à leur réunion du 22 avril 2020. L'approbation éthique de votre projet a été renouvelée par le Comité en date du 22 avril 2020 et le document suivant a été approuvé:

- Protocole de recherche modifié daté du 27 février 2018

Les formulaires d'information et de consentement n'ont pas été réévalués puisque votre rapport annuel indique que le recrutement des participants est terminé.

Tous les projets de recherche impliquant des sujets humains doivent être réévalués annuellement. La durée de votre approbation sera effective jusqu'au 22 avril 2021. Il est de votre responsabilité de soumettre une demande au comité pour que l'approbation éthique soit renouvelée avant la date d'expiration. Il est également de votre responsabilité d'aviser le comité dans les plus brefs délais de toute modification au projet et/ou de tout événement grave et inattendu susceptible d'augmenter le niveau de risque ou d'influer sur le bien-être du participant.

En vous souhaitant une bonne poursuite de votre projet,

Carolina Martin
Conseillère en éthique
Comité d'éthique de la recherche