



HAL
open science

Comparaison de rendement d'aphérèse de deux séparateurs cellulaires en cas de faible leucocytose lors de la mobilisation de cellules souches hématopoïétiques pour le recueil de greffon autologue

Kushmee Ramasamy

► To cite this version:

Kushmee Ramasamy. Comparaison de rendement d'aphérèse de deux séparateurs cellulaires en cas de faible leucocytose lors de la mobilisation de cellules souches hématopoïétiques pour le recueil de greffon autologue . Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01381267

HAL Id: dumas-01381267

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01381267>

Submitted on 14 Oct 2016

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

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

UNIVERSITE DE BORDEAUX

U.F.R. DE MEDECINE

Année 2016

No 117

THESE

pour l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE
SPECIALITE MEDECINE GENERALE

Présentée et soutenue publiquement le 28 septembre 2016

Par

Mme RAMASAMY IFERKHASS Kushmee

Née le 17 janvier 1984

**COMPARAISON DE RENDEMENT D'APHERESE DE DEUX
SEPARATEURS CELLULAIRES EN CAS DE FAIBLE
LEUCOCYTOSE LORS DE LA MOBILISATION DE
CELLULES SOUCHES HEMATOPOIETIQUES POUR LE
RECUEIL DE GREFFON AUTOLOGUE**

JURY :

Monsieur le Professeur Noel MILPIED :	Président
Monsieur le Professeur Gérald MARIT :	Rapporteur
Monsieur le Professeur Gérard DUCOS :	Membre
Monsieur le Docteur Xavier LAFARGE :	Membre
Monsieur le Docteur Florian THEVENOT :	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Noel Milpied

Vous me faites un grand honneur de porter de l'intérêt à ce travail et de présider le jury de thèse. Veuillez accepter l'expression de ma sincère gratitude.

A Monsieur le Professeur Gérard Ducos

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de m'avoir fait découvrir et comprendre la médecine générale, veuillez trouver en retour l'expression de mon plus profond respect.

A Monsieur le Professeur Gérald Marit

Merci pour l'honneur que vous m'avez fait en accordant du temps à la lecture de ce travail et pour avoir accepté de l'évaluer.

A Monsieur le Docteur Xavier Lafarge

Merci pour vos conseils et pour avoir accepté de participer à ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude.

A Monsieur le Docteur Florian Thevenot

Merci de m'avoir fait l'honneur de me confier ce travail et de m'avoir aidé à le mener à bien. Merci pour ta gentillesse, ta patience, ton implication et tes conseils à la réalisation de cette thèse.

A Antonin

Merci pour tes conseils, ta disponibilité et ton aide à la réalisation des statistiques de cette thèse.

A ma famille et mes amis

A mes parents

Merci pour votre soutien pendant toutes ces années. Merci pour tous vos efforts qui m'ont permis d'arriver jusque là.

A maman, merci pour ton soutien sans faille, tes relectures et ta disponibilité.

A Preetvy

Merci pour ton aide et ta disponibilité.

A El Miloud

Merci pour ton soutien, ton aide et tes conseils.

A Adam

Merci pour le bonheur que tu nous apportes.

Merci à Rajen, Renu, Tishaan et Siddisha pour leur encouragement.

Merci à Janie et Valérie pour vos conseils. Merci pour le soutien et pour toutes les fois où vous m'avez aidé à prendre du recul.

Merci à tous ceux qui m'ont aidé et soutenu.

TABLE DES MATIERES

Abréviations	6
Liste des figures	7
Liste des tableaux	8
I. Introduction	9
II. Généralités	12
1) Mobilisation	12
1.1) Les cellules CD34+ et CD38	12
1.2) Le GCSF	13
1.3) Les autres facteurs de croissance	15
1.4) Le plérixafor	15
1.5) « Steady state », post-chimiothérapie et physiopathologie	15
1.6) Mobilisation et maladie résiduelle	16
2) Aphérèse	16
2.1) Historique de l'aphérèse	16
2.2) Technique de l'aphérèse	19
2.3) Paramètres de l'aphérèse	21
2.4) Effets indésirables	22
3) Biovigilance	23
4) Allogreffe de CSH	24
4.1) Historique	24
4.2) Indications	25
4.3) Epidémiologie	26
4.4) Bénéfices	26
4.5) Conditionnement du receveur	26
4.6) Iatrogénie chez le receveur	27
4.7) Le donneur	27
4.8) Le greffon	28
5) Autogreffe de CSH	29
5.1) Historique	30
5.2) Indications	31
5.3) Epidémiologie	31
5.4) Bénéfices	31
5.5) Conditionnement du receveur	31
5.6) Iatrogénie chez le receveur	31
III. Matériel et Méthode	33
1) Site de collecte	33

2) L'étude	33
3) Les patients	33
3.1) Les critères d'inclusion	34
3.2) Les critères d'exclusion	34
3.3) La création de deux focus groupes	35
4) Les appareils utilisés	36
4.1) L'appareil Optia Terumo BCT®	36
4.2) L'appareil Comtec Fresenius Kabi®	37
5) Les variables utilisées	38
6) La tolérance clinique	38
7) L'efficacité de collecte/le rendement	38
8) Calculs et statistiques	39
IV. Résultats	40
1) Les caractéristiques des patients	40
2) Les données en rapport avec la procédure d'aphérèse	48
3) Les données du greffon	50
V. Discussion	53
1) Représentativité des échantillons	53
2) Les différences de taux d'hémoglobine et de plaquettes pré et post cytaphérèse	53
3) Les données en rapport avec la procédure d'aphérèse	55
4) Les données du greffon	56
5) Les limites de l'étude	57
VI. Conclusion	58
VII. Bibliographie	59
Annexe 1 : Formulaire de qualification d'un automate séparateur de sang pour le recueil de cellules	63
Annexe 2 : Tableau de recueil de données	64
Annexe 3 : Consultation médicale du patient avant prélèvement de CSP	65
Annexe 4 : Fiche de prélèvement de CSP pour autogreffe	66
Annexe 5 : Fiche de liaison avec la thérapie cellulaire	67
Annexe 6 : Formules de calcul de « collection efficiency »	68
Serment médical	69

ABBREVIATIONS

ACD-A : Anticoagulant Citrate Dextrose solution A
ADN : Acide Désoxyribo-Nucléique
AIM® : Automated Interface Management
CD34 : Cluster of Differentiation 34
CHRU : Centre Hospitalier Régional Universitaire
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CMV : Cytomégalovirus
CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques
CSP : Cellules Souches Hématopoïétiques Périphériques
CXCR4 : C-X-C motif Chemokine Receptor 4
CXCL12 : C-X-C Chemokine Ligand 12
DMU : Dispositif Médical à usage Unique
EBV : Epstein Barr Virus
EFS : Etablissement Français du Sang
GB : Globules Blancs
GCSF : Granulocyte Colony-Stimulating Factor
GMCSF : Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
GR : Globules Rouges
GVL : Graft Versus Leukemia
GVT : Graft Versus Tumor
Hb : Hémoglobine
HHV6 : Human Herpes Virus 6
HLA : Human Leukocyte Antigen
HSV : Herpes Simplex Virus
Hte : Hématocrite
IDE : Infirmier(ère) Diplômé(e) d'Etat
Ig : Immunoglobuline
LDH : Lactate Déshydrogénase
LDL : Low Density Lipoprotein
LMC : Leucémie Myéloïde Chronique
MGDF : Megakaryocyte Growth and Development Factor
MST : Masses Sanguines Traitées
PCR : Polymerised Chain Reaction
PNN : Polynucléaires Neutrophiles
PQ : Plaquettes
SCF : Stem Cell Factor
SDF : Stromal cell-Derived Factor
SDRA : Syndrome de Détresse Respiratoire Aigu
SEM : Standard Error of the Mean
TCA : Temps de Céphaline Activée
TP : Temps de proThrombine
TRALI : Transfusion Related Lung Injury
VVC : Voie Veineuse Centrale
VVP : Voie Veineuse Périphérique
VZV : Varicelle Zona Virus

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Interactions existant via les molécules d'adhésion et qui s'établissent entre les cellules stromales et les cellules CD34+ au cours de leur domiciliation ou de leur migration.
- Figure 2 : Bol de centrifugation à flux discontinu ; Appareil Haemonetics TM®
- Figure 3 : Appareil Fresenius Kabi®
- Figure 4 : Appareil Terumo BCT®
- Figure 5 : Processus de sélection des patients
- Figure 6 : Kit de collecte Spectra Optia® utilisé pour les procédures de collecte de cellules mononucléées
- Figure 7 : Les 4 phases de l'appareil Comtec Fresenius Kabi®
- Figure 8 : Moyenne et SEM de l'âge des patients des deux groupes
- Figure 9 : Moyenne et SEM du poids des patients des deux groupes
- Figure 10 : Moyenne et SEM du taux d'Hb pré et post cytophérèse chez les patients des 2 groupes
- Figure 11 : Moyenne et SEM des deltas d'Hb des patients des 2 groupes
- Figure 12 : Moyenne et SEM du taux de PQ pré et post cytophérèse chez les patients des 2 groupes
- Figure 13 : Moyenne et SEM des deltas de PQ des patients des 2 groupes
- Figure 14 : Moyenne et SEM de l'âge des patients des focus groupes
- Figure 15 : Moyenne et SEM du poids des patients des focus groupes
- Figure 16 : Moyenne et SEM du taux d'Hb pré et post cytophérèse chez les patients des focus groupes
- Figure 17 : Moyenne et SEM des deltas d'Hb des patients des focus groupes
- Figure 18 : Moyenne et SEM du taux de PQ pré et post cytophérèse chez les patients des focus groupes
- Figure 19 : Moyenne et SEM des deltas de PQ des patients des focus groupes
- Figure 20 : Moyenne et SEM des rendements
- Figure 21 : Moyenne et SEM du pourcentage de PNN dans les greffons des groupes et focus groupes
- Figure 22 : Moyenne et SEM du taux de GR dans les greffons des groupes et focus groupes

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Caractéristiques des patients des deux groupes (âge et poids)

Tableau 1.2 : Caractéristiques des patients des deux groupes (sexes)

Tableau 2 : Répartition des pathologies des patients des deux groupes

Tableau 3 : Taux de cellules CD34+ pré-cytaphérèse, d'Hb et de PQ pré et post cytaphérèse, dans les 2 groupes

Tableau 4.1 : Caractéristiques des patients des deux focus groupes (âge et poids)

Tableau 4.2 : Caractéristiques des patients des deux focus groupes (sexes)

Tableau 5 : Répartition des pathologies des patients des deux focus groupes

Tableau 6 : Taux d'Hb et de PQ pré et post cytaphérèse dans les 2 focus groupes

Tableau 7: Comparaison des données d'aphérèse des 2 appareils

Tableau 8: Comparaison des données d'aphérèse des 2 focus groupes

Tableau 9: Taux de PNN et de GR dans les produits d'aphérèse des 2 groupes

Tableau 10: Taux de PNN et de GR dans les produits d'aphérèse des 2 focus groupes

I. INTRODUCTION

La greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) est devenue depuis la fin du vingtième siècle, une arme thérapeutique incontournable en hématologie clinique. Elle est utilisée principalement pour remplacer un tissu hématopoïétique déficient ou pour assurer la reconstitution du tissu hématopoïétique après un traitement par radiothérapie ou chimiothérapie. Elle peut ainsi être indiquée dans la prise en charge d'une hémopathie maligne ou une tumeur solide.

La greffe des CSH est introduite vers 1975 et doit son apparition aux avancées techniques dans le domaine du typage HLA, aux progrès pharmaceutiques dans le domaine des immunosuppresseurs et probablement au développement de la cryoconservation entre autres. En 1955, Barnes et Loutit démontrent que la moelle osseuse peut être cryoconservée. Leurs travaux font suite à ceux de Polge et al. relatifs à la conservation de sperme de taureaux. L'amélioration des techniques de cryoconservation se poursuivant jusqu'au début des années 1980 ; plusieurs modèles précliniques chez la souris, le lapin, le singe et le chien démontrent la capacité des CSH médullaires cryoconservées à se greffer et à reconstituer l'hématopoïèse. Dans le modèle canin, la richesse minimum en CSH cryoconservées permettant la prise de greffe est définie et il est démontré que la cinétique de la prise de greffe est corrélée à la dose de CSH infusée. Les indications médicales de l'autogreffe de CSH se développent ainsi à partir de 1975 (1,2).

Les CSH peuvent désormais être d'origine médullaire, provenir du sang périphérique, ou du sang placentaire. Leur choix est guidé par la pathologie du patient, ses comorbidités, et l'éventualité d'une autogreffe ou d'une allogreffe. Il convient de distinguer l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques lorsque le donneur et le receveur sont la même personne, de l'allogreffe de CSH lorsque le donneur et le receveur sont des personnes différentes.

En 1991, toutes les allogreffes et la majorité des autogreffes utilisent des CSH médullaires. L'origine médullaire des CSH perdure pendant plusieurs décennies malgré la connaissance de la présence des CSH dans le sang périphérique. Des études *in vitro* et *in vivo* chez l'animal montrent que les CSH de sang périphérique sont capables de reconstituer le système hématopoïétique mais elles ne sont pas utilisées en pratique pour deux raisons. En premier lieu, le nombre de CSH circulantes est considéré comme insuffisant pour être collecté par les méthodes habituelles de collecte pour les autogreffes et les allogreffes. En second lieu, le nombre de cellules immunocompétentes lymphocytaires T contaminant le greffon est considéré comme étant trop élevé pour une allogreffe (3).

L'observation de plusieurs phénomènes va cependant accentuer le recours aux CSH de sang périphérique. Il est en effet observé que certains patients atteints de leucémie myéloïde chronique présentent un grand nombre de CSH en

circulation périphérique pouvant être recueilli par une ou deux séances d'aphérèse de sang périphérique au moment du diagnostic ce qui permet de restaurer l'hématopoïèse à la phase chronique. En outre d'autres études in vitro montrent que les patients ayant un lymphome ou une tumeur solide présentent un nombre élevé de CSH en circulation périphérique après une chimiothérapie intensive. Ces CSH peuvent être recueillies pour une transplantation autologue à un moment défini. De même, des facteurs stimulant les colonies de CSH (le Granulocyte Colony-Stimulating Factor, GCSF, par exemple) peuvent être utilisés pour accentuer le taux périphérique de CSH. Cet outil est rapidement accepté. Enfin diverses études prospectives démontrent un avantage à utiliser les CSH d'origine périphérique par rapport à celles d'origine médullaire. En effet la collecte des CSH périphériques se fait par leucaphérèse (aphérèse des granulocytes), sans anesthésie générale et permet une durée d'aplasie plus courte après infusion des cellules souches (3,4).

De 1992 à 1996, les CSH d'origine périphérique tendent donc à s'imposer dans les autogreffes puis dans les allogreffes trois ans plus tard. Ainsi en 2003, 97 % des autogreffes et 65 % des allogreffes utilisent des CSH provenant du sang périphérique (3).

Une autre source de CSH est le sang issu du cordon ombilical, qui peut être recueilli par une méthode moins invasive que le prélèvement médullaire ou l'aphérèse, sans effets néfastes pour la mère ou l'enfant. Cependant il persiste encore une controverse sur le recueil des CSH issues de sang de cordon ombilical à terme car certaines équipes n'arrivent pas à isoler les CSH sur le sang de cordon ombilical à terme (5,6).

Le tissu adipeux est une autre source de CSH, qui peut être obtenu par une méthode moins invasive que le prélèvement de moelle osseuse et en plus grande quantité. Le tissu adipeux contient des CSH analogues à celles de la moelle osseuse, pouvant être isolées à partir de liposuccions cosmétiques, en grand nombre, et qui peuvent facilement être cultivées dans les conditions de cultures de tissus classiques (5).

Selon les régions administratives et le schéma sanitaire en France, le recueil de CSH périphériques par apherèse peut actuellement être réalisé dans un Centre Hospitalier Universitaire (CHU) ou à l'Etablissement Français du Sang (EFS). Du fait des faibles taux circulants de CSH, les patients, hospitalisés ou ambulatoires, reçoivent des facteurs de croissance hématopoïétiques. Il s'agit de molécules permettant de faire circuler dans le sang périphérique un plus grand nombre de cellules souches et progénitrices hématopoïétiques après les avoir mobilisées à partir de la moelle osseuse. Le 'granulocyte colony-stimulating factor' (GCSF) est un exemple de facteur de croissance hématopoïétique, permettant la stimulation de la granulopoïèse pour l'autogreffe ou l'allogreffe de moelle osseuse mais elle augmente également le nombre de cellules souches et progénitrices hématopoïétiques dans la circulation périphérique (7). L'antigène CD34 est actuellement le marqueur phénotypique de choix permettant d'identifier les CSH dotées de propriétés de reconstitution de l'hématopoïèse à

long terme. Sa fonction précise demeure inconnue mais sa structure et sa disposition sur les CSH suggèrent qu'il joue un rôle important dans l'hématopoïèse précoce. Sa présence sur les cellules mobilisées permet d'isoler des populations cellulaires riches en CSH et en cellules progénitrices hématopoïétiques, permettant ainsi d'optimiser la collecte (8,9).

Les prélèvements par technique d'aphérèse se font par voie veineuse périphérique ou par voie centrale si le débit de la voie périphérique est insuffisant. Chaque séance dure de trois à quatre heures et en général il faut compter de une à trois séances de prélèvement pour totaliser la collecte d'un ou deux greffons de CSH. Un greffon capable de générer une reconstitution hématologique autologue satisfaisante nécessite, après sa décongélation, un minimum de 2×10^6 cellules CD34+ /kg de poids du receveur. Un greffon constitué de 5×10^6 cellules CD34+ apparaît optimal (8). Il est donc requis de collecter un ou plusieurs greffons à la fin des recueils selon la prescription du médecin greffeur relative à la pathologie du patient. (Un greffon est recueilli par exemple dans le cadre du lymphome, tandis que pour la maladie de Hodgkin deux greffons sont recueillis).

Au-delà des enjeux pronostics en termes de thérapeutique, ces collectes de CSH représentent également des investissements importants en santé publique (transports, soins infirmiers à domicile, analyses biologiques). D'autre part, cette étape de recueil de cellules souches nécessite plusieurs heures chez des patients déjà affaiblis par la maladie ou d'autres comorbidités.

Actuellement les deux constructeurs de séparateurs par apherese qui sont utilisés sur le territoire français sont Terumo Bct® et Fresenius Kabi®. Les laboratoires Cobe®, fondés en 1964 au Colorado, aux Etats Unis, deviennent Terumo Bct® en 2012 (10). Ils utilisent le système d'aphérèse Spectra Optia®. L'autre appareil d'aphérèse est le Comtec®, de la compagnie allemande Fresenius Kabi®, fondée en 1912 par le docteur Eduard Fresenius (11).

L'aphérèse consistant à séparer les éléments du sang, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'un kit de récupération de CSH périphériques par apherese soit plus efficace qu'un autre, dans certaines situations identifiées (influence de la rhéologie en cas de faible ou forte leucocytose). Un meilleur rendement d'aphérèse permettrait non seulement de réduire le nombre de séances et la durée de chaque séance par patient, mais permettrait aussi de réduire les coûts de santé engagés. Notre étude compare le system d'aphérèse Spectra Optia® des laboratoires Cobe® et le système d'aphérèse Comtec® de la compagnie Fresenius Kabi®. Nous essaierons donc, à travers notre travail, de voir s'il existe une supériorité de rendement d'un kit par rapport à l'autre.

II. GENERALITES

1) MOBILISATION

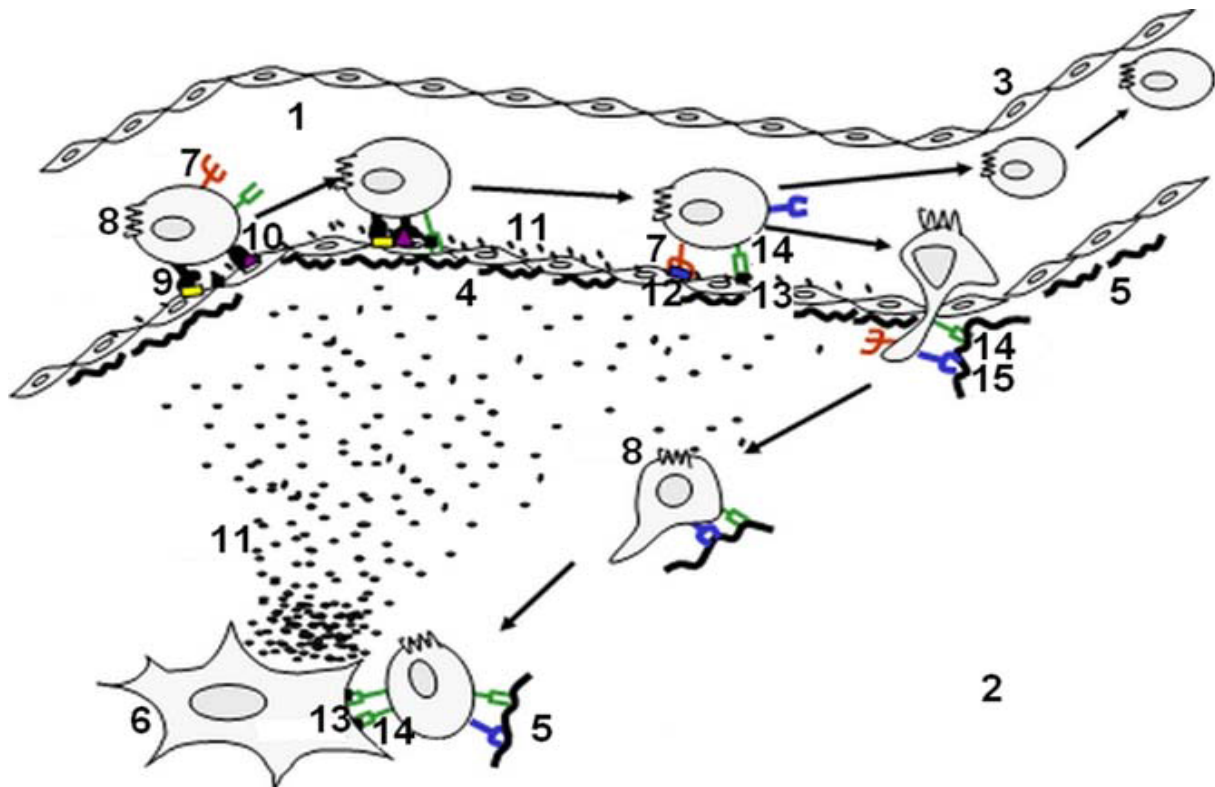
Depuis bientôt trois décennies, le développement des facteurs de croissance hématopoïétiques a permis l'optimisation de la mobilisation et de la collecte des CSH périphériques, aboutissant à une réduction significative de la durée d'hospitalisation et à une consommation moindre de produits sanguins. Il y a donc eu une réduction des coûts générés en matière de recueil de CSH autologues et une plus grande facilité de recueil des CSH allogéniques. Les trois principaux facteurs qui influencent la mobilisation des CSH sont la pathologie sous-jacente, les lignes de chimiothérapies antérieures et l'âge du patient. Il y a cependant un rôle possible des facteurs intrinsèques et des propriétés biologiques des cellules souches et progénitrices hématopoïétiques responsables d'une éventuelle mauvaise mobilisation, à la fois chez les patients et les donneurs sains, indépendamment de la pathologie ou des traitements antérieurs.

1.1) LES CELLULES CD34+ ET CD38

Les CSH ont une capacité d'auto-renouvellement et de différenciation remarquables, conduisant à la maturation des éléments figurés du sang et donc du système immunitaire. Certaines CSH appelées « CSH à-long-terme », exprimant CD34-/Lin-/ckit+/Sca-1+/CD150+/CD135-/CD48, ont une capacité d'auto-renouvellement très importante. Elles se différencient d'abord en « CSH à-court-terme » exprimant le CD34 et plus tard en cellules progénitrices multipotentes qui ont la capacité de donner la lignée complète mais avec une faible capacité d'auto-renouvellement (12).

Les cellules CD34+, marqueurs phénotypiques de choix à l'heure actuelle, permettent d'optimiser les recueils. Des seuils optimaux compatibles avec l'initiation du recueil par cytophérèse ont été déterminés. Un nombre au moins supérieur ou égal à $10 /\text{mm}^3$ de cellules CD34+ circulantes sur sang périphérique total conditionne le bon recueil d'un nombre jugé suffisant de CSH après stimulation par des facteurs de croissance. Un greffon capable de générer une reconstitution hématologique satisfaisante doit comporter au minimum 2×10^6 cellules CD34+ /kg de poids du receveur. Un greffon constitué de 5×10^6 cellules CD34+ paraît optimal. Cependant, il a été rapporté des reconstitutions hématologiques chez les patients recevant des greffons comportant des cellules CD34+ inférieures au seuil ($2 \times 10^6/\text{kg}$) et à l'inverse des reconstitutions médiocres avec des greffons optimaux. Ces différences peuvent être dues au fait que les greffons sont constitués de cellules avec des capacités prolifératives variables selon l'expression de l'antigène CD38, marqueur de différenciation myéloïde. L'état d'activation des gènes impliqués dans l'initiation du cycle cellulaire, dans la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et des phénomènes d'apoptose, peut également tenir compte de la capacité migratoire

des CSH. L'existence d'un polymorphisme du gène du Stromal cell-Derived Factor (SDF-1 α), établi comme facteur de domiciliation des cellules souches et progénitrices hématopoïétiques au sein du stroma médullaire et de la prise de greffe (après injection des cellules souches et progénitrices hématopoïétiques), a permis le développement de nouveaux agents destinés en priorité aux patients mauvais mobilisateurs et donc mauvais candidats à la greffe. Les molécules d'adhésion de la famille des intégrines et les enzymes dégradant la matrice extracellulaire semblent jouer un rôle important dans les processus de migration et de domiciliation cellulaire, donc de mobilisation et de prise de greffe (8,12).



1 : vaisseau sanguin ; 2 : moelle osseuse ; 3 : cellules endothéliales ; 4 : lame basale ;
 5 : fibronectine ; 6 : cellule stromale ; 7 : LFA-1 (leucocyte function antigen 1) ; 8 : CXCR4 ;
 9 : E-sélectine ; 10 : P-sélectine ; 11 : SDF-1 (stromal-cell-derived factor 1) ; 12 : ICAM-1 ;
 13 : VCAM-1 ; 14 : VLA-4 ; 15 : VLA-5 (courtoisie de Kaddour Chabane).

Figure 1 : Interactions existant via les molécules d'adhésion et qui s'établissent entre les cellules stromales et les cellules CD34⁺ au cours de leur domiciliation ou de leur migration. (8)

1.2) LE GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR (GCSF)

Il s'agit d'une glycoprotéine constituée d'une simple chaîne polypeptidique non glycosylée de 174 acides aminés, clonée dès les années 1985. Elle est utilisée dans la mobilisation de cellules souches et progénitrices hématopoïétiques, seule ou au décours d'une chimiothérapie aplasante. Elle fait partie des agents mobilisateurs standards, utilisés en autogreffe et en allogreffe (8,13).

Cette cytokine immunostimulante régule la production et la libération des polynucléaires neutrophiles fonctionnels à partir de la moelle osseuse. Elle est commercialisée sous le nom de Filgrastim® aux Etats-Unis, filgrastim ou Neupogen® en France et sous le nom de Lenograstim® au Japon. Le GCSF permet en théorie de recueillir au cours de la mobilisation, un greffon constitué d'une double population cellulaire. La première, composée de cellules progénitrices à un stade de maturité avancé CD34+/CD38+, permet la reconstitution hématopoïétique précoce. La deuxième, composée de cellules souches et progénitrices hématopoïétiques multipotentes plus primitives CD34+/CD38- ou C34+/HLA-DR-, capable d'initier l'hématopoïèse tardive et durable. Il s'agit donc d'un facteur de croissance qui stimule la prolifération et la différenciation des progéniteurs granulocytaires. Il exerce également un effet sur les CSH multipotentes débouchant sur leur mise en circulation et leur entrée dans les phases actives du cycle cellulaire. Des effets identiques sont perçus sur les cellules leucémiques quiescentes, les amenant à la phase S du cycle cellulaire (phase de réplication), les rendant ainsi plus sensible à l'action des chimiothérapies (8,12–15).

Le filgrastim est indiqué dans les neutropénies fébriles post chimiothérapie chez l'adulte et l'enfant atteint d'une pathologie maligne, dans les neutropénies sévères congénitales sans anomalie cytogénétique, dans les neutropénies post thérapie myélo-suppressive suivie de greffe de moelle, et dans la mobilisation de cellules souches progénitrices dans le sang circulant chez les donneurs sains en vue d'une greffe allogénique de cellules souches progénitrices. Dans ce dernier cas, la posologie recommandée est de 10 microgrammes/kg/jour par voie sous-cutanée pendant 4 à 5 jours (14).

La mobilisation par le GCSF seul ou au décours d'une chimiothérapie est universellement la plus utilisée dans le recueil de CSH. Une augmentation des doses de GCSF dans les mobilisations post chimiothérapie afin d'augmenter le nombre de CSH recueillies ne semble pas avoir d'intérêt mais a des effets secondaires polyalgiques. Cependant cette hypothèse est controversée car d'autres études montrent un bénéfice à utiliser des doses élevées de GCSF chez les patients ayant une faible mobilisation. Les effets indésirables fréquemment retrouvés sont des douleurs osseuses, des myalgies, des céphalées, une asthénie, et au niveau biologique, une hyperleucocytose, une thrombopénie, une élévation des phosphatases alcalines et du taux de LDH. Des splénomégalies et une rupture de rate ont aussi été signalées, bien que rare. Le GCSF est également soupçonné de provoquer des poussées dans les maladies auto-immunes. Quelques cas de syndrome de fuite capillaire ont également été rapportés chez des donneurs sains de CSH. Les greffons mobilisés par le GCSF ne présentent pas de contamination plus importante en cellules malignes. Le GCSF induit parfois des modifications génétiques et épigénétiques au sein des lymphocytes constituant les greffons prélevés chez des donneurs sains (8,13–15).

1.3) LES AUTRES FACTEURS DE CROISSANCE

Il existe d'autres facteurs de croissance tel que le Granulocyte colony stimulating factor pégylé, utilisé surtout aux Etats-Unis sous le nom de Pegfilgrastim®. Le Granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GMCSF), commercialisé sous le nom de Sargramostim® aux Etats-Unis, ayant les mêmes modalités d'administration, seul ou en association aux chimiothérapies, dans les mobilisations de CSH. Le GCSF a cependant un meilleur rapport tolérance/efficacité. Le Stem Cell Factor (SCF) ou Megakaryocyte Growth and Development Factor (MGDF), commercialisé sous le nom d'Ancestim® aux Etats-Unis, a reçu l'autorisation temporaire d'utilisation en France. Son utilisation dans le cadre de la mobilisation de CSH doit être associée avec d'autres facteurs de la famille des GCSF. Le plérixafor, chimiokine constituant une nouvelle classe de médicaments, a récemment obtenu l'autorisation de mise sur le marché en France chez les patients atteints de lymphome ou de myélome et dont les cellules mobilisent mal (8).

1.4) LE PLERIXAFOR

Le plérixafor, commercialisé sous le nom de Mozobil® en France, est un antagoniste réversible et sélectif du récepteur de la chimiokine CXCR4, bloquant la liaison de son ligand, facteur dérivé des cellules stromales-1 alpha, SDF-1 α ou CXCL12. La leucocytose résultant de l'administration du plérixafor et l'élévation du nombre de cellules souches hématopoïétiques circulantes semblent résulter d'une rupture de la liaison entre CXCR4 et son ligand analogue. Il empêche l'adhésion des CSH au stroma de la moelle osseuse, permettant ainsi leur migration dans le sang périphérique. Les cellules CD34+ mobilisées par le plérixafor sont fonctionnelles et permettent la reconstitution hématopoïétique et sont caractérisées par leur capacité d'auto-renouvellement à long terme. Le plérixafor est utilisé en combinaison avec le GCSF pour la mobilisation de CSH chez les patients en phase de récupération de l'aplasie (« steady state »). Peu de données sont disponibles sur son utilisation dans le cadre de la mobilisation en post chimiothérapie. Des études plus récentes ont montré son efficacité après l'échec d'une première mobilisation. Il pourrait donc être utilisé chez les patients ayant des facteurs de faible mobilisation (12,16,17).

1.5) « STEADY STATE », POST-CHIMIOThERAPIE ET PHYSIOPATHOLOGIE

Les CSH peuvent être mobilisées en phase de récupération de l'aplasie, induite par une chimiothérapie, en « steady state », ou par l'association d'une chimiothérapie et de facteurs de croissance comme le GCSF. La physiopathologie de la mobilisation semble faire appel à des modifications fugaces de l'expression de molécules d'adhérence, notamment les intégrines, présentes à la surface des cellules hématopoïétiques. Les cellules CD34+ recueillies après mobilisation ont

une réduction de l'expression de certaines molécules d'adhérence comme le VLA-4, VLA-5, LFA-3 et LFA-1, n'étant pas forcément liée à l'action du GCSF. Les cellules CD34+ ont une augmentation de leur capacité adhésive due aux intégrines VLA-4 et VLA-5 après traitement in-vitro par certaines cytokines comme IL-3, GM-CSF et G-CSF. Certains médicaments cytotoxiques comme le cyclophosphamide pourraient favoriser la mobilisation des CSH en modifiant la barrière moelle-sang, entraînant donc une migration anormale des cellules à travers l'endothélium sinusoidal. Plusieurs mécanismes semblent entrer simultanément en jeu dans le processus de mobilisation : la prolifération des CSH dans la moelle avant leur mobilisation vers le sang périphérique, un rôle des molécules d'adhérence, et les procédures de mobilisation sur les cellules hématopoïétiques malignes par rapport aux cellules hématopoïétiques normales qui a une importance capitale sur la qualité du greffon (18).

1.6) MOBILISATION ET MALADIE RESIDUELLE

Les greffons autologues prélevés après mobilisation sont souvent, selon la pathologie du patient, contaminés par des lymphocytes tumoraux. Une purge systématique des prélèvements médullaires ou sanguins par des techniques utilisant des anticorps monoclonaux et du complément est donc réalisée. La sélection positive ou négative des cellules CD34+ sur colonnes immunes est une technique plus récente. Cependant malgré la purge, une contamination des greffons persiste. La qualité de cette purge est en cours d'amélioration avec la combinaison de plusieurs techniques. Les anticorps monoclonaux tels que les anti-CD52 ou anti-CD20, permettent une purge in vivo, éliminant la maladie résiduelle sanguine avant la cytophérèse. Dans les protocoles d'autogreffe, le suivi de la maladie résiduelle est essentiel.

En post-greffe, grâce à la PCR ou à l'immunophénotypage des lymphocytes, la détection de la persistance ou de la réapparition de la maladie résiduelle est possible (19).

2) APHERESE

2.1) HISTORIQUE DE L'APHERESE

J.J. Abel et al. utilisent la plasmaphérèse dans les expérimentations animales chez le chien dès 1914. Quant au premier appareil séparateur de cellules, il est présenté par le Dr Edwin Cohn en 1956 (20). Une première ligne de développement commence à Boston dans le début des années 1950 lorsque le Dr Edwin Cohn, un biochimiste d'Harvard, met au point une méthode à grande échelle pour la purification de l'albumine issue de plasma humain. L'albumine tolère la pasteurisation et doit être un agent plus sûr pour la réanimation des

soldats blessés par rapport au pool de plasma lyophilisé. Ce dernier ayant prouvé être un agent de transmission d'hépatite durant la Seconde Guerre mondiale.

Le Dr Cohn imagine donc un dispositif qui sépare le plasma du donneur - le composant souhaité - immédiatement au cours du don de sang. La résultante "centrifugeuse de Cohn", un dispositif avec un élément "réutilisable" métallique centrifuge, n'est jamais vraiment utilisée pour son but initial, même si elle s'avère utile pour le lavage ou la déglycérolisation de globules rouges congelés.

Un jeune ingénieur nommé Alan Latham est mandaté pour l'améliorer lorsque l'enthousiasme des autres pour l'instrument faiblit. Il obtient le contrôle des brevets pertinents, améliore la conception de l'élément centrifuge, et trouve un moyen de fabriquer une version à usage unique en matière plastique à un coût modeste.

Le "bol de Latham" résultant, est commercialisé dans un premier dispositif, pour le lavage ou la déglycérolisation des globules rouges. Il est ensuite adapté pour les dons de plaquettes à flux intermittent et dans les procédures d'aphérèse thérapeutique pour le modèle Haemonetics 30®, qui est le premier instrument d'aphérèse à être largement disponible sur une base commerciale.

Une seconde "lignée" de la technologie pour l'aphérèse thérapeutique voit sa création à l'Institut National du Cancer dans le milieu des années 1960. George Judson, un ingénieur d'IBM® dont le fils est traité pour une leucémie myéloïde chronique demande au Dr Emil Freireich s'il peut utiliser ses compétences en ingénierie pour améliorer le traitement de son fils.

Le Dr Freireich imagine un dispositif qui supprime une partie de l'excès de globules blancs du sang (déplétion leucocytaire) des patients atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC) avant la transfusion aux patients neutropéniques. La coopération conjointe de l'employeur de M. Judson et de l'institut national du cancer résulte en un séparateur de sang centrifuge à flux continu, avec un bol "réutilisable" en métal et capable non seulement de collecter et de réduire les globules blancs mais aussi d'échanger le plasma ou les globules rouges. La première application thérapeutique des échanges plasmatiques voit le jour. Son efficacité est reconnue pour les échanges de petits volumes dans le traitement du syndrome d'hyperviscosité de la maladie de Waldenström.

Les années suivantes, d'autres indications sont posées, notamment les dysglobulinémies malignes, l'immunisation antirhésus et les anticoagulants circulants. En 1976 Lockwood publie la première série d'échanges plasmatiques dans le syndrome de Goodpasture, montrant la diminution significative des anticorps lors d'échanges de grand volume.

Des améliorations sont portées par IBM® et par les laboratoires Cobe®, fabricant d'équipement de dialyse, qui achète finalement la division de traitement de sang d'IBM®. Cela conduit à la fabrication de l'appareil polyvalent et plus automatisé, Cobe Spectra®, qui devient l'un des piliers de l'aphérèse thérapeutique aux

Etats-Unis dès son introduction dans les années 1980. Dans ces mêmes années, les premières indications dans le traitement des patients en réanimation atteints de polyradiculonévrites aiguës et de myasthénie grave sont posées.

Une troisième famille d'instruments d'aphérèse naît chez la firme Fenwal® dans les années 1970. Ces dispositifs, conçus indépendamment par Herbert Cullis au Fenwal et Yoichiro Ito à l'institut national de la Santé, sont les premiers à utiliser une centrifugeuse sans mécanisme de jointure. Ce système est ensuite adopté par tous les fabricants de séparateurs centrifuges à flux continu.

D'autres centrifugeuses, telles que celles fabriquées par Fresenius®, sont développées plus tard en Europe et bénéficient d'une certaine reconnaissance aux États-Unis.

Des progrès notables dans la conception des instruments pour l'aphérèse thérapeutique voient le jour dans les années qui suivent. Il y a la réduction du volume extracorporel traité afin de limiter le volume et la déplétion des globules rouges ; des capteurs et des alarmes pour détecter les incidents per-procédures de coagulation, d'accumulation de l'air, et/ou de pression insatisfaisante dans une ligne de retrait ou de retour et qui permettent l'arrêt automatiquement les pompes de sang ; un fonctionnement automatisé et programmable, pouvant inclure l'interprétation automatisée de signaux lumineux ou des images de la centrifugeuse ; la diminution de la taille et du poids pour faciliter le transport ; une vitesse d'écoulement d'anticoagulant variable permettant une personnalisation en fonction des besoins des patients ; et pour les centrifugeuses, la capacité d'effectuer plusieurs procédures différentes (déplétion cellulaire, cytophérèse, thrombocytophérèse, plasmaphérèse, les échanges de composants sanguins, la modification des composants du sang et l'extraction sélective d'un constituant du plasma). Ces améliorations conduisent à une aphérèse thérapeutique plus rapide, plus sûre, plus pratique pour les opérateurs de l'instrument, et plus confortable pour les patients. Les effets secondaires cliniquement significatifs sont rares.

L'aphérèse thérapeutique profite également du développement des cathéters à double lumière conçus pour les voies veineuses centrales pour l'hémodialyse. Ces cathéters permettent un écoulement du sang suffisant pour l'aphérèse thérapeutique et facilitent le traitement des patients ayant une insuffisance de veines périphériques. Cependant, ils ont des risques supplémentaires graves inhérents à leur pose et au dépendants du site de pose.

Enfin, quelques dispositifs sont conçus pour effectuer un traitement secondaire d'un composant sanguin séparé par aphérèse. Ils incluent des dispositifs d'irradiation d'ultraviolet A de cellules mononucléées circulantes en présence d'un composé du psoralène (photophérèse), des dispositifs de déplétion de l'immunoglobuline G (Ig G), et dans certains cas, d'autres protéines de poids moléculaire élevé à partir de plasma du patient (colonnes d'affinité, filtration en cascade), et des dispositifs de déplétion des lipoprotéines de basse densité (LDL) à partir de plasma du patient (21).

2.2) TECHNIQUE DE L'APHERESE

L'aphérèse, du grec 'apharein', signifiant séparer, consiste à prélever le sang d'une personne, puis à séparer les différents constituants. Un constituant en particulier est alors extrait, avant que le reste du sang ne soit restitué au sujet.

L'aphérèse thérapeutique se divise selon le composant épuré, en plasmaphérèse et cytophérèse. Elle autorise différentes applications telles que l'échange plasmatique ou la cytophérèse, laquelle englobe la thrombaphérèse (aphérèse plaquettaire), l'érythrocytophérèse (aphérèse des globules rouges) et la leucaphérèse (aphérèse des globules blancs).

Un des objectifs de l'aphérèse est de soustraire un élément pathologique. C'est le cas de l'échange plasmatique avec extraction des auto-anticorps, de la déplétion leucocytaire en cas d'hyperleucocytose avec leucostase, et du LDL aphérèse entre autre. Le deuxième objectif est de collecter un élément souhaité, par exemple, le don du sang par aphérèse et le recueil de CSH.

Les deux principales techniques utilisées pour la séparation des constituants sanguins sont la centrifugation (à flux intermittent ou continu) et la filtration sur membrane.

La **filtration sur membrane** est un dispositif permettant de prélever des protéines de haut poids moléculaire de façon sélective en modifiant le diamètre des pores des membranes. Elle est utilisée essentiellement en réanimation. Ce procédé exige une anticoagulation par héparine et requiert un débit sanguin nettement plus élevé que la centrifugation, d'où la nécessité d'utiliser un cathéter veineux central.

Le système DALI (Direct Adsorption of Lipoproteins) est une technique plus récente, décrite par Bosch® en 1993, qui permet l'extraction des lipoprotéines athérogènes sur le sang total sans séparation plasmatique préalable. Elle comprend des colonnes à usage unique de gel de polyacrylate de différentes configurations. Le mécanisme de fixation des LDL est fondé sur l'interaction entre les charges positives des lipoprotéines Apo B et les charges négatives du dextran-sulfate ou des ligands polyacrylates. La vitesse moyenne de la pompe sang est comprise entre 50 et 60 ml/min. Chaque séance traite environ 1,6 masses sanguines.

La **centrifugation** quant à elle, utilise la force centripète pour séparer les divers éléments en fonction de leur densité. Elle permet donc d'obtenir différentes strates avec le plasma au plan proximal, puis la couche leucocytaire contenant de haut en bas les plaquettes, les lymphocytes, les monocytes et les granulocytes et enfin la couche distale, plus dense, contenant les globules rouges (22). Cette méthode peut être utilisée pour éliminer des éléments cellulaires du sang. Comme elle exige un débit sanguin moindre, l'intervention peut être réalisée autant par accès veineux périphérique que central. Le citrate constitue l'anticoagulant de référence.

La **centrifugation à flux intermittent ou discontinu**, est la plus ancienne technique utilisée, traitant de faibles volumes de sang de façon cyclique. Un cycle consistant à prélever le sang total, à le traiter et à le restituer au sujet. Le débit de pompe de la circulation extracorporelle, idéalement de 100ml/min, dirige le sang total vers un bol de centrifugation tournant entre 1400 et 1800 tours/min. La force de gravité peut atteindre 1300 G à la rotation maximale. Le cycle de centrifugation s'interrompt lorsque le bol contient un culot d'environ 350 ml d'éléments figurés à 65 % d'hématocrite, correspondant à un volume de plasma séparé de 400 à 700 ml selon l'hématocrite de départ. Le culot de centrifugation est alors restitué au patient et un nouveau cycle démarre. L'un des avantages de cette méthode est qu'elle ne requiert qu'un seul accès veineux. Cependant le procédé est plus long, nécessitant 20 % de temps supplémentaire aux autres techniques, et donne lieu à des fluctuations du volume sanguin extracorporel plus importantes, de l'ordre de 400 à 800 ml, parfois mal tolérées sur le plan hémodynamique (20).

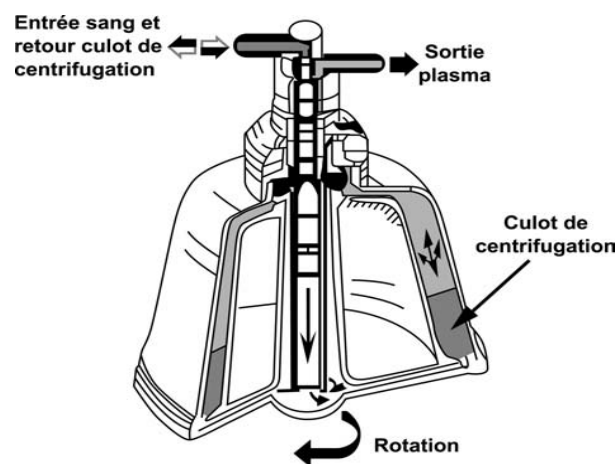


Figure 2 : Bol de centrifugation à flux discontinu ; Appareil Haemonetics TM® (20)

La **centrifugation à flux continu** consiste quant à elle à extraire, traiter et restituer le sang au sujet de façon simultanée. Elle est plus rapide mais nécessite deux voies d'accès veineux. Le volume extracorporel est faible, de l'ordre de 170 à 350 ml, assurant une bonne tolérance hémodynamique. Le débit sanguin doit être au minimum de 40 ml/min. La vitesse de centrifugation est réglable de 400 à 5000 tours/min selon les modèles d'appareil, entraînant une force de gravité maximale dans l'anneau de centrifugation voisine de 1000 G pour une vitesse de 5000 tours/min. Habituellement, les 2500 tours/min ne sont pas dépassés, produisant un culot de centrifugation à 70 % d'hématocrite. Les séparateurs actuels sont totalement automatisés (20).

Les deux tiers des séances en Europe utilisent la centrifugation et sont effectuées sur des appareils spécifiques dans des établissements de transfusion.



Figure 3 : Appareil Fresenius Kabi®



Figure 4 : Appareil Terumo BCT®

L'aphérèse étant une intervention invasive, pouvant avoir des effets physiologiques non négligeables, les patients traités par aphérèse doivent être supervisés par un médecin qualifié dans ce domaine. Avant de bénéficier de ce traitement, le patient doit se soumettre à une anamnèse, à un examen médical et à des analyses de laboratoire. Le bilan comprend une numération formule sanguine, un ionogramme sanguin, une calcémie, un bilan de coagulation avec TP, TCA et fibrine ainsi qu'une radiographie pulmonaire. Ces patients sont souvent exposés à d'importantes quantités de composants sanguins, il est donc recommandé de vérifier leur vaccination contre l'hépatite B. Les procédures de collection, de transformation, de distribution et d'administration des produits de thérapies cellulaires s'appuient sur les recommandations de l'arrêté du 16 décembre 1998 concernant les bonnes pratiques relatives aux thérapeutiques utilisant les cellules mononucléées et les cellules hématopoïétiques, et sur le référentiel JACIE (Joint Accreditation Committee of ISCT Europe and EBMT) pour l'obtention de l'accréditation des activités de greffe de cellules hématopoïétiques (20,23).

2.3) PARAMETRES DE L'APHERESE

2.3.1) ABORD VEINEUX

L'accès vasculaire doit permettre un débit constant et de bonne qualité, surtout pour l'aphérèse par méthode de filtration. La voie veineuse périphérique est privilégiée en utilisant des aiguilles de prélèvement 16 gauge et des mini-cathéters de retour veineux (22-24 gauge) permettant un débit régulier supérieur ou égal à 40 ml/min et présentant le minimum de risques de complications septiques. Les autres voies sont utilisées en cas d'échec de la voie périphérique. Le matériel utilisé dans la voie centrale est le même que celui utilisé pour l'hémodialyse aigue. Les voies utilisables sont les veines sous-clavières,

fémorales, jugulaires internes et axillaires. Les shunts et fistules artérioveineuses sont peu utilisés. Ces dernières indications concernent uniquement les échanges répétitifs au long cours, chez des patients ayant un capital veineux périphérique médiocre (20).

2.3.2) HEMODYNAMIQUE

Avant chaque don d'aphérèse, la tension artérielle et le pouls sont mesurés. La tension artérielle doit être inférieure à 180/100 mm de mercure et supérieure à 90/60 mm de mercure et le pouls doit être compris entre 50 et 110 pulsations par minute (24).

2.3.3) ANTICOAGULATION

L'anticoagulation repose sur l'héparine seule ou associée à l'ACD-A (citrate agissant par chélation calcique) dans la technique de filtration, et sur l'ACD-A seul en cas de centrifugation. La dose d'ACD-A doit être limitée chez l'insuffisant hépatocellulaire en raison du métabolisme hépatique du citrate. L'héparine de bas poids moléculaire utilisée en bolus intraveineux ne semble pas donner plus de complications de thrombose des circuits, mais aucune étude comparative ne l'a démontré. En méthode de filtration, les doses d'anticoagulants ne sont pas parfaitement définies mais l'héparinisation est indispensable. Les techniciens d'hémodiafiltration doivent savoir moduler les doses en fonction de l'aspect des lignes de circulation extracorporelle. Les machines actuelles de centrifugation totalement paramétrables corrigent automatiquement le débit du citrate en fonction du débit de sang. Ces doses doivent être modulées en fonction des situations cliniques et biologiques (20). La fréquence et la durée de l'aphérèse dépendent de la maladie à traiter et de la réponse du patient.

2.4) EFFETS INDESIRABLES

Les effets indésirables sont légèrement plus importants lors de la première intervention. Ils peuvent être liés à l'accès veineux, au liquide de substitution en cas de plasmaphérèse ou à la procédure d'aphérèse. Les décès sont généralement attribuables à la maladie du patient et non à l'intervention en elle-même. Les statistiques nationales chiffrent les effets indésirables à moins de 5 % des séances (20).

Les effets indésirables liés à l'accès veineux sont les saignements, le pneumothorax, les infections (la transmission d'un agent infectieux lors de la phlébotomie) ou les thromboses. Les réactions transfusionnelles comme de la fièvre et les réactions allergiques sont possibles. Une coagulopathie ou une immunosuppression peuvent également survenir. L'intoxication au citrate responsable d'une hypocalcémie par chélation, se manifeste par des paresthésies, des nausées, des vomissements, des frissons, des contractions musculaires pouvant évoluer vers une tétanie, une syncope et/ou une arythmie cardiaque en l'absence de prise en charge.

Les autres effets indésirables sont une alcalose métabolique chez les patients ayant une insuffisance rénale, une hypotension due à une hypovolémie ou à des réactions vasovagales. D'autres complications telles qu'une surcharge volémique, une diminution du nombre de cellules sanguines (anémie, thrombopénie), un déséquilibre électrolytique (hypocalcémie et hypomagnésémie) sont aussi possibles.

La prise en charge dépend de la réaction en cause. Une réaction allergique légère pouvant être traitée par antihistaminiques ou corticostéroïdes. Une hypotension artérielle sera traitée par l'injection d'une solution physiologique en bolus mais idéalement il faudra en prévenir l'apparition par l'arrêt des traitements antihypertenseurs, par la correction d'une anémie ou d'une hypovolémie avant le début de l'aphérèse, puis en visant l'atteinte d'un équilibre hydrique après l'intervention. On peut aussi prévenir l'intoxication au citrate en assurant un rapport plus grand entre l'anticoagulant et le liquide de substitution et en optant, dans la mesure du possible, pour un liquide de substitution sans citrate tel que l'albumine. Une perfusion de calcium peut être utilisée à des fins prophylactiques ou pour le traitement actif d'une intoxication au citrate. Une approche pluridisciplinaire ainsi qu'une certaine prudence au cours de l'aphérèse, permettent de réduire au minimum les effets indésirables (20,25).

3) BIOVIGILANCE

Durant l'année 2013 en France, selon le rapport annuel de biovigilance de l'Agence de Biomédecine, les signalements suivants concernant les CSH provenant du sang placentaire ont été faits. Il y a eu cinq ruptures du système clos de kit de collecte, une fuite de la poche de congélation du greffon, deux contaminations du greffon, deux échecs de greffes, une décongélation du produit, un cas de mauvaise congélation du greffon et le décès d'un patient suite à des complications infectieuses secondaires à l'aplasie.

Concernant les CSH de sang périphérique allogénique en situation non apparentée, deux cas ont été signalés avec des greffons de volume inférieur à celui attendu. Il y a eu une rupture de la poche du greffon. Une mauvaise température de conservation du greffon a été recensée. Un greffon avec une forte concentration cellulaire CD34 a eu un faible rendement à la décongélation. Le diagnostic de lymphome a été porté chez un donneur, de borréliose chez un autre, un donneur a eu des céphalées importantes et un donneur a été interné en psychiatrie pour dépression sévère. Une suspicion de SDRA (syndrome de détresse respiratoire aigu) secondaire à une pneumopathie virale et fongique ainsi qu'une suspicion de TRALI ont été diagnostiquées en post allogreffe chez deux receveurs. Il y a aussi eu une erreur d'étiquetage d'un greffon.

Parmi les CSH médullaires allogéniques en situation non apparentée, vingt contaminations des greffons ont été signalées. Une infection du site de prélèvement chez un donneur, un rejet de greffe, un échec de greffe attribué à un greffon pauvre en CSH et une non prise de greffe de cause inconnue ont été recensés (26).

4) ALLOGREFFE DE CSH

L'allogreffe utilise les cellules souches d'un donneur compatible. Le plus souvent il s'agit d'un donneur apparenté. Ce type de greffe peut être envisagé en France jusqu'à l'âge de 50 ans environ chez le donneur non apparenté et au-delà chez un donneur intra-familial, dans le respect des contre-indications énoncées par l'Agence de Biomédecine.

Le donneur reçoit des facteurs de croissance, le GCSF ou le GMCSF par exemple, pendant cinq jours en général, afin de mobiliser ses CSH dans le sang périphérique. Le GCSF est donné à la dose de 7,5 à 10 microgrammes/kg/jour. La couche de cellules mononucléées contenant les cellules CD34+ est ensuite recueillie par aphérèse. L'acmé du taux circulant en cellules CD34+ est observé au cinquième jour, après quatre injections de facteur de croissance (27).

L'allogreffe est beaucoup plus toxique que l'autogreffe. Le rôle thérapeutique de l'allogreffe repose sur le remplacement d'une hématopoïèse malade par un greffon de CSH sain, sur l'efficacité de conditionnement de la pathologie du patient mais également et surtout sur l'activité immunologique du greffon contre la pathologie maligne, appelée Graft versus Tumor (GVT) ou Graft versus Leukemia (GVL) (28).

4.1) HISTORIQUE

Les premiers travaux sur la transplantation des CSH voient le jour peu après la seconde guerre mondiale et l'utilisation d'armes radioactives. Les personnes exposées aux radiations nucléaires décèdent suite à l'irradiation de leur moelle osseuse. En 1949, Jacobson démontre que les souris exposées à une irradiation létale survivent si leur rate est protégée par une feuille de plomb. Deux années plus tard, en 1951, Lorenz démontre la réversibilité des effets radioactifs chez l'animal par transfusion de cellules spléniques saines. Mais c'est en 1956, que Barnes et al. décrivent l'utilisation d'une irradiation supra létale suivie d'une transplantation de moelle osseuse allogénique afin de traiter une leucémie chez la souris (29).

Les essais chez l'homme sont conduits par Thomas et al. en 1957, lorsque deux patients atteints de leucémie à un stade avancé, reçoivent une irradiation supra létale suivie d'une transplantation de moelle de leur vrai jumeau. La greffe est réussie mais ils rechutent de la leucémie. Les travaux continuent les dix années suivantes avec l'utilisation de donneurs autres que les vrais jumeaux. En 1965, Mathe décrit le premier patient recevant une allogreffe de moelle, mais ce dernier décède probablement du syndrome du greffon contre l'hôte. Les transplantations allogéniques de moelle continuent mais la survie est courte. Ce n'est qu'après la description des antigènes HLA par Dausset et Van Rood et al. dans les années 1950 à 1960 que les donneurs sont choisis dans la fratrie selon leur compatibilité HLA. Cette avancée marque la réussite de la première greffe de moelle allogénique chez l'homme. Des essais chez le chien par Thomas et al.

vont permettre de définir la concentration de radiation nécessaire pour la réussite de la greffe, les critères histocompatibilité prévenant le rejet ou le syndrome du greffon contre l'hôte fatal, et la possibilité d'utiliser le méthotrexate en post-greffe afin de supprimer la réaction aigüe du greffon contre l'hôte et augmenter la survie des greffés.

Les premières transplantations allogéniques de moelle à visée thérapeutique sont réalisées en 1968 avec des donneurs HLA-identique apparentés. Trente ans plus tard ces patients sont toujours vivants. En 1972, une équipe de Seattle décrit un conditionnement en utilisant des doses élevées de cyclophosphamide suivi du méthotrexate en post-greffe. Vers la fin des années 1970, Thomas et al. décrivent une allogreffe de moelle osseuse issu d'un donneur avec un HLA identique, dans la fratrie d'un patient après l'utilisation conjointe d'une irradiation du corps entier et de cyclophosphamide. Ce n'est que dans les années 1980 que les premiers travaux décrivant les réussites de transplantation de moelle avec des donneurs HLA-compatibles mais non apparentés voient le jour (29,30).

Vers la fin des années 1980, Kessinger et al. introduisent l'utilisation de CSH périphériques dans les allogreffes, ayant l'avantage d'une récupération plus rapide des taux de neutrophiles et de plaquettes, et diminuant le besoin en antibiotiques intraveineuses et en transfusion sanguine. En 1986, le registre national de donneurs de moelle osseuse voit le jour aux Etats Unis. Son objectif est de rechercher et d'identifier des donneurs (hors fratrie) avec des HLA compatibles et de coordonner la collecte de CSH périphériques ou de moelle osseuse. Des registres similaires existent désormais dans la majorité des pays développés.

Les années 1990 connaissent un essor dans l'utilisation de CSH provenant du cordon ombilical, dans les allogreffes adultes et pédiatriques, se traduisant par la création en France de banques de sang placentaire. Ces CSH pouvant être utilisées frais ou après conservation. Les dernières recherches scientifiques du vingt-et-unième siècle, sont elles axées sur la prévention et le traitement du syndrome du greffon contre l'hôte, sur l'utilisation des transplantations de CSH dans les pathologies hématopoïétiques malignes ou non, ainsi que dans les pathologies auto-immunes (30).

4.2) INDICATIONS

L'allogreffe est le traitement des aplasies médullaires graves, permettant une survie à long terme de 60 à 80 % des malades greffés, et des hémopathies malignes, regroupant la leucémie myéloïde chronique, la leucémie lymphoïde chronique, la leucémie aigüe lymphoblastique et myéloblastique, les myélodysplasies, le lymphome non Hodgkinien et la maladie de Hodgkin. Elle est aussi un traitement des formes sévères des maladies héréditaires telles que les déficits immunitaires, la thalassémie majeure, la drépanocytose (en cas d'impasse transfusionnelle), et l'ostéopétrose (31).

4.3) EPIDEMIOLOGIE

Au 31 décembre 2014, l'ensemble des registres internationaux de greffe de moelle osseuse comptait 25 millions de donneurs volontaires, dont 235 486 inscrits sur le registre national France Greffe de moelle. Au cours de l'année 2014, 13 975 nouveaux donneurs ont été inscrits dans le monde.

Concernant les patients nationaux, on comptait 3 442 inscrits dont 1 899 inscrits au cours de l'année 2014. 927 patients nationaux ont été greffés avec des donneurs non apparentés, dont 144 avec des donneurs nationaux et 783 avec des donneurs internationaux. 267 patients internationaux ont bénéficié de greffons nationaux de CSH. 188 patients nationaux ont bénéficié de greffons de sang placentaire.

Le nombre de prélèvements a diminué de 0,5 % en 2014 par rapport à 2013. Sur 1 209 prélèvements, 207 étaient d'origine médullaire, 720 d'origine périphérique et 282 de sang placentaire. Cette diminution était principalement due à une baisse des cessions d'unités de sang placentaire (32).

4.4) BENEFCES

Les cellules du donneur sont capables d'éliminer les cellules cancéreuses encore présentes dans l'organisme du receveur. Il s'agit de l'effet greffon contre cancer (GVL ou GVT). Le greffon diminue donc le risque de récurrence de la maladie.

4.5) CONDITIONNEMENT DU RECEVEUR

Il s'agit de la préparation du patient à la greffe. L'objectif est d'éradiquer les cellules malignes résiduelles avec une toxicité minimale, sans mortalité, et avec un effet immunosuppresseur suffisant pour assurer la prise de greffe en évitant le rejet.

Le choix du conditionnement dépend de la pathologie du patient, de son âge, de ses antécédents, du type de greffon et de la disparité HLA. Il y a en général une molécule immunosuppressive afin de favoriser la prise de greffe. L'alourdissement du conditionnement avec des molécules multiples tend à diminuer au profit des conditionnements favorisant l'effet GVT/GVL.

Il y a des conditionnements myélo-ablatifs, classiques, réservés aux patients jeunes. Ce sont des chimiothérapies à très fortes doses provoquant des aplasies profondes prolongées, le plus souvent irréversibles, et exposant à des toxicités. L'irradiation corporelle totale est un exemple.

Les conditionnements non myélo-ablatifs, atténués, sont apparus depuis quelques années permettant d'allogreffer des patients plus âgés, de 50 à 70 ans, ou en mauvais état général, atteints de comorbidités, ne pouvant supporter une

chimiothérapie intense ou une aplasie profonde et prolongée. Il s'agit essentiellement d'un traitement immunosuppresseur permettant d'assurer une prise lymphoïde. Les lymphocytes du donneur ayant pour rôle de favoriser la prise myéloïde par éradication progressive de l'hématopoïèse du receveur (28).

4.6) IATROGENIE CHEZ LE RECEVEUR

La morbi-mortalité liée à cette thérapeutique reste encore élevée.

4.6.1) LA MALADIE DU GREFFON CONTRE L'HOTE (GRAFT VERSUS HOST, GVH)

Il s'agit de la principale complication de l'allogreffe, qui est responsable, directement ou indirectement, de près de 30 % des décès. Elle est liée à la reconnaissance d'antigènes mineurs d'histocompatibilité du receveur par les cellules immunocompétentes du donneur. Elle peut survenir dans les trois premiers mois de la greffe, donc être aiguë, ou être chronique, c'est à dire, survenir plus tard dans les suites d'un syndrome aigu ou survenir de novo (28,31).

4.6.2) LE REJET OU LA NON-PRISE DE GREFFE

Il y a le rejet de greffe mais aussi la non prise de la greffe avec des polynucléaires neutrophiles ne dépassant pas les 500 /mm³ à 28 jours post greffe ou 45 jours pour le sang placentaire.

4.6.3) LES COMPLICATIONS INFECTIEUSES

Les complications infectieuses liées au déficit immunitaire persistant comprennent les infections bactériennes dues à l'aplasie ou les infections virales favorisées par le GVH et le traitement immunosuppresseur. Les virus les plus fréquemment retrouvés sont le CMV, HSV, VZV, adénovirus, HHV6 et EBV. Il y a également les infections fongiques à candida ou aspergillus ou les infections parasitaires à *Toxoplasma gondii* (31,33).

4.7) LE DONNEUR

Un donneur intrafamilial avec un HLA compatible est choisi en priorité. Cependant, en l'absence d'un membre compatible dans la fratrie, un donneur non apparenté, dit alternatif, est choisi. Le recours au fichier de donneurs volontaires est utile et rapide pour les patients caucasiens avec un typage fréquent mais peut être beaucoup plus compliqué en cas de typage rare où un donneur avec une incompatibilité sur un antigène est parfois accepté. Ce type de greffe avec un HLA partiellement identique, appelée « mismatch », est plus à risque. Il n'est pas recommandé de réaliser des greffes avec plus d'une incompatibilité car il y a un risque élevé de non prise de la greffe et de GVH sévère (23,34).

Lorsque plusieurs donneurs sont disponibles pour un patient donné, le choix se fait en privilégiant le même sexe entre donneur et receveur. Le donneur le plus jeune est choisi de préférence. S'il s'agit d'une femme, celle avec le minimum de grossesses est privilégiée. On tient également en compte les statuts virologiques, notamment contre le cytomégalovirus et la toxoplasmose, la concordance des groupes sanguins ABO et les éventuelles contre-indications (23).

Les principales contre-indications au don incluent la présence d'une pathologie inflammatoire, auto-immune ou rhumatismale mais également les maladies cérébrovasculaires et d'athérosclérose (34).

Pendant la phase de mobilisation, une surveillance de la numération formule sanguine est réalisée, au moins la veille du prélèvement, c'est-à-dire, le quatrième jour d'administration du GCSF, afin de rechercher une hyperleucocytose excessive ($> 70 \times 10^9 /L$). Cette dernière justifie la suspension, au moins provisoire, des injections de GCSF.

En post-don, des cytopénies transitoires asymptomatiques des granulocytes, des lymphocytes et des plaquettes sont parfois retrouvées chez des donneurs sains, partiellement liées à la leucaphérèse. Une évaluation clinique du donneur ainsi qu'une numération formule sanguine et une numération plaquettaire doivent donc être réalisées après le don (23,34).

4. 8) LE GREFFON

Le greffon allogénique permet non seulement une reconstitution hématologique après un traitement myéloablatif mais constitue également un apport en cellules immunocompétentes à potentiel anti tumoral, réduisant le risque de rechute de l'hémopathie. Le choix entre un greffon de moelle osseuse ou de CSH périphériques dépend du praticien, du donneur, de l'indication et des risques de la greffe. Les greffons de cellules souches périphériques sont plus riches en cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques. Cependant ils sont aussi beaucoup plus riches en lymphocytes T, ce qui augmente le GVH, donc la morbi-mortalité (23).

4.8.1) INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN GLOBULES ROUGES DU GREFFON

La présence de globules rouges dans le greffon entraîne une hémolyse pouvant aller jusqu'à l'insuffisance rénale. Durant la leucaphérèse, il y a donc un appauvrissement systématique en globules rouges.

4.8.2) INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN POLYNUCLEAIRES NEUTROPHILES

La concentration du greffon en polynucléaires neutrophiles doit être dans l'idéal inférieure à 20 %. Une concentration trop élevée entraîne une toxicité du greffon et altère ses capacités de reconstitution de l'hématopoïèse.

4.8.3) INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN CELLULES CD34+

La concentration de cellules CD34+ ($> 5 \times 10^6$ /kg) dans la greffe de moelle osseuse augmente la survie globale, en conduisant à une récupération immunologique rapide et à une diminution de la mortalité liée à l'infection et à la greffe. Cependant, elle ne diminue pas les effets indésirables pouvant survenir chez les patients à risques. Il n'y a pas de lien établi entre la concentration en cellules CD34+ et la survenue du syndrome du greffon contre l'hôte, qu'il soit aigu ou chronique. Il n'y a pas de lien établi non plus entre la concentration en cellules CD34+ et la greffe de neutrophiles ou de plaquettes.

Concernant la greffe de CSH provenant du sang périphérique, il n'y a pas eu de lien établi entre la concentration en cellules CD34+ et la vitesse de récupération hématologique. La plupart des études montrent une augmentation du syndrome du greffon contre l'hôte, liée au taux élevé de lymphocytes T dans le greffon mais aussi à la capacité des cellules hématoprogénitrices CD34+ à présenter certains antigènes aux lymphocytes T autologues. Cependant lorsque de faibles doses de chimiothérapies sont utilisées il y a une diminution de la lyse cellulaire ainsi que de la libération de cytokines et de médiateurs inflammatoires. Il n'y a donc pas d'augmentation du syndrome du greffon contre l'hôte, qu'il soit aigu ou chronique, avec des concentrations élevées de cellules hématoprogénitrices CD34+. Des données similaires ont été observées en pédiatrie. La greffe de cellules CD34+ à une concentration supérieure ou égale à 5×10^6 /kg, associée à de la chimiothérapie à faible dose, est significativement reliée à une augmentation de la survie globale en allogreffe de CSH périphériques (35).

5) AUTOGREFFE DE CSH

L'autogreffe de CSH est introduite dans l'arsenal thérapeutique des hémopathies malignes dans les années 1980 et ses indications ne font qu'augmenter jusqu'aux années 2000 (8).

L'autogreffe de CSH est une intensification du traitement de chimiothérapie classique. La greffe de moelle n'a pas en elle-même d'intérêt pour le traitement de la maladie prise en charge (par opposition à l'allogreffe). C'est la chimiothérapie à fortes doses réalisée avant la greffe qui traite la maladie. La greffe est là pour limiter les risques de la chimiothérapie intensive par rapport à une chimiothérapie conventionnelle. La chimiothérapie intensive provoque une aplasie de longue durée, c'est-à-dire un arrêt de production des globules rouges, des globules blancs et des plaquettes. La greffe, après la chimiothérapie à fortes doses, diminue la durée pendant laquelle le patient présente des risques liés à l'aplasie. Elle ne les annule cependant pas (23,36).

L'autogreffe utilise les cellules souches du patient, prélevées au moment où le patient est en rémission ou lorsque sa maladie est minime. Ce type de greffe peut être envisagé jusqu'à l'âge de 65 ans environ. La mortalité post-greffe est faible, inférieure à 5 % (28).

La mobilisation peut se faire en utilisant des facteurs de croissance comme le GCSF ou le GMCSF par exemple, similaire à l'allogreffe, ou par l'association d'une chimiothérapie et des facteurs de croissance. L'avantage de cette association est la réduction des cellules tumorales en parallèle à la mobilisation. Les inconvénients sont les effets secondaires de la chimiothérapie. Le plérixafor peut aussi être utilisé en association avec le GCSF, dans la mobilisation de CSH chez les patients atteints de myélome multiple ou de lymphome non Hodgkinien (27).

L'objectif dans la majorité des cas est de recueillir 2×10^6 cellules CD34+ /kg de poids du patient. Cependant l'objectif de chaque patient sera déterminé en fonction du nombre de greffes planifiées, de la pathologie sous-jacente et de la présence de facteurs prédictifs de faible mobilisation (27).

5.1) HISTORIQUE

Dans les années 1960, malgré la découverte des antigènes HLA, les transplantations autologues ne sont pas une réussite due à la contamination par les cellules tumorales. Les travaux continuent sur l'utilisation des autogreffes dans les tumeurs lympho-hématopoïétiques mais sur environ 200 transplantations décrites, plus de la moitié des prises de greffes échouent. Ces résultats conduisent à un déclin des autogreffes (30).

Dans les années 1970, il y a plusieurs tentatives d'utilisation de moelle autologue afin de permettre une chimiothérapie à forte dose. Cependant, malgré la prise de la greffe, le manque de marqueur génétique et de groupe témoin, ne permet pas de conclure et le bénéfice clinique n'est pas évident. En 1977, l'institut national de la santé publie une étude contrôlée montrant que la moelle autologue cryoconservée peut restituer la fonction hématopoïétique chez l'homme (29).

L'emphase est mise sur les critères de la transplantation vers la fin des années 1980, incluant les facteurs de risque du patient, sa pathologie, la présence d'infection et de toxicité. Le conditionnement avec la chimiothérapie par le busulfan et la cyclophosphamide remplace l'irradiation du corps entier. La connaissance sur les méthodes de cryoconservation et de stockage de CSH autologues augmente, conduisant à une utilisation croissante d'autogreffe dans le traitement des pathologies hématologiques et des tumeurs solides.

Les années 1990 voient un intérêt croissant dans l'utilisation de CSH provenant du cordon ombilical, pouvant être utilisées frais ou après conservation, aussi bien chez l'adulte qu'en pédiatrie. Le registre d'autogreffe de moelle osseuse, créé à cette époque, a pour but d'encourager la collecte de données sur les autogreffes, de promouvoir l'avancé dans ce domaine et d'établir des règles de bonnes pratiques pour les transplantations (30).

5.2) INDICATIONS

L'autogreffe est réservée aux maladies chimiosensibles, essentiellement le lymphome non Hodgkinien, la maladie de Hodgkin, le myélome et parfois la leucémie aigue. Elle est également indiquée dans certaines tumeurs solides comme les tumeurs du sein, et plus rarement dans la leucémie lymphoïde chronique ou la leucémie aigue lymphoblastique. La mortalité est plus faible (inférieur à 5 %) (28).

5.3) EPIDEMIOLOGIE

Le nombre de patient prélevé ainsi que le nombre de prélèvement par cytophérèse augmentent légèrement en 2014. 3 123 greffes autologues sont réalisées pour 3 007 patients qui reçoivent une ou plusieurs greffes. On observe une moyenne de 1,7 cytophérèses par patient. L'activité d'autogreffes est stable, autour de 2 500 à 3 000 patients autogreffés par an sur les dix dernières années. Dans 99,6 % des cas, le greffon est constitué de CSH issues du sang périphérique. L'âge moyen des patients recevant une autogreffe est de 52 ans tandis que l'âge médian est de 57 ans. 14,8 % d'entre eux ont plus de 65 ans (32).

5.4) BENEFCES

Les effets secondaires et les complications sont plus faibles étant donné que les cellules souches proviennent du patient lui-même. Il n'y a pas de risque de rejet, ce qui évite au patient la prise d'immunosuppresseurs et d'autres traitements antirejet. Le rétablissement est plus rapide et la mortalité basse.

5.5) CONDITIONNEMENT DU RECEVEUR

Il peut être myéloablatif comme dans l'allogreffe lorsqu'il vise à traiter les patients atteints de leucémies aigues ou de myélomes. En revanche, en cas de lymphome non hodgkinien, de maladie de Hodgkin ou de tumeurs solides, le conditionnement est non-myéloablatif, afin de permettre une reprise de l'hématopoïèse vers le 40^e jour, en absence de greffon autologue. La greffe de CSH autologues permet de réduire la durée d'aplasie à 15 jours en général et donc de réduire les risques (28).

5.6) IATROGENIE CHEZ LE RECEVEUR

L'inconvénient majeur est la présence éventuelle de cellules cancéreuses résiduelles parmi les cellules souches du greffon malgré les traitements préalables. Le risque de récurrence est donc plus élevé par rapport à une allogreffe (37).

Il y a aussi un risque de complications infectieuses lié à l'intensité et à la durée de la neutropénie. Le risque maximal étant lorsqu'il y a une agranulocytose inférieure à 100 /microlitre pendant plus d'une semaine (37).

Il existe également des complications liées à la toxicité de la chimiothérapie et/ou de la radiothérapie pré-greffe. Il s'agit de traitements de forte intensité qui visent à éliminer les cellules tumorales résistantes aux doses standards. Mais ces fortes doses détruisent aussi le système de défense et le système immunitaire (38). Selon les produits et les doses de chimiothérapie, une toxicité cardiaque, rénale, pulmonaire ou cutanée pourra être constatée. Il peut également y avoir une cystite hémorragique, une mucite ou une stérilité définitive (28).

III. MATERIEL ET METHODE

1) SITE DE COLLECTE

Cette étude mono-centrique est réalisée au Centre de Santé de l'Établissement Français du Sang Aquitaine-Limousin, au site de Bordeaux Pellegrin.

2) L'ETUDE

Il s'agit d'une étude rétrospective mono-centrique réalisée sur les données clinico-biologiques, disponibles au décours des aphérèses cellulaires, réalisées sur des séparateurs, du 20 janvier 2014 au 15 janvier 2016.

Les données relatives aux prélèvements par aphérèse de cellules souches hématopoïétiques autologues (patients, séparateurs, paramètres biologiques, valeurs des greffons) sont colligées par une infirmière diplômée d'état (IDE) formée à l'aphérèse régulièrement sur l'un et l'autre des séparateurs étudiés. Il y en a sept au Centre de Santé de l'EFS de Bordeaux Pellegrin. Dans un second temps ces données sont enregistrées informatiquement par une secrétaire. Il y en a deux sur le site, ayant reçu la même formation.

L'accès vasculaire utilisé est majoritairement une voie veineuse périphérique.

L'anticoagulant utilisé est le citrate. Le ratio est de 1/12^{ème}, c'est-à-dire qu'un millilitre de citrate est ajouté pour 12 millilitres de sang prélevé. Ce ratio est automatiquement calculé par les appareils d'aphérèse.

Le nombre de greffons prescrit varie selon la pathologie du patient et la chimiothérapie de conditionnement envisagée.

Pour comparer les rendements des deux appareils, la procédure de collecte est réalisée de façon identique chez les patients. Les mêmes accès vasculaires sont utilisés et le citrate est l'anticoagulant utilisé chez tous les patients. Les patients ont été répartis indifféremment vers l'un des deux séparateurs cellulaires.

3) LES PATIENTS

Il s'agit de patients atteints essentiellement de leucémies, de lymphomes et de myélomes, pour lesquels l'indication d'une intensification thérapeutique suivie d'une autogreffe de CSH autologues a été retenue par un médecin clinicien. Ils sont adressés, suite à une décision collégiale, par le comité de greffe du CHRU Haut-Lévêque.

3.1) LES CRITERES D'INCLUSION

Tous les patients adressés au Centre de Santé de l'EFS de Bordeaux, durant cette période, pour un recueil de CSH, ont été inclus. La base de données comportait 454 patients.

Seuls les patients ayant bénéficié d'un recueil de CSH avec les appareils Comtec Fresenius Kabi® et Optia Terumo BCT® ont été inclus.

Les patients dont le nombre de volumes de masses sanguines traitées (MST) était compris entre 2,7 et 3 ont été inclus.

3.2) LES CRITERES D'EXCLUSION

Les patients ayant eu un recueil de CSH avec un autre appareil que ceux que nous souhaitons comparer, c'est-à-dire la Comtec Fresenius Kabi® et l'Optia Terumo BCT® ont été exclus. Parmi les patients exclus, deux ont eu une aphérèse avec un appareil Spectra Terumo BCT® et pour neuf autres patients les appareils utilisés n'ont pas été identifiés au moment de la collecte.

Le sexe, la date de naissance et le poids de deux patients traités avec l'appareil Optia Terumo BCT® n'ont pas été enregistrés et les patients concernés ont donc été exclus.

Les 42 patients ayant été mobilisés par l'association GCSF-plérixafor ont été exclus. Ce dernier augmente en effet le nombre de cellules souches CD34+ circulantes avec une cinétique rapide rendant l'efficacité de collecte incalculable. De ce fait, les rendements des aphéreses mobilisées à l'aide du plérixafor ne peuvent être comparés avec celles ayant reçu des facteurs de croissance seuls.

Les patients ayant un nombre de volume de MST inférieur à 2,7 et supérieur à 3 ont été exclus. 182 patients avaient un nombre de volume de MST inférieur à 2,7 tandis que deux patients avaient un nombre de volume de MST supérieur à 3. Il y a 4 patients supplémentaires qui ont été exclus car les volumes sanguins traités n'ont pas été notés au décours de la collecte, rendant le nombre de volumes de MST incalculable.

Le taux de citrate consommé n'a pas été renseigné pour 1 patient, traité avec l'appareil Comtec Fresenius Kabi®. Le rendement étant incalculable il a été exclu.

Les rendements calculés ont été très élevés (65 %, 100 % et 140 %) pour 3 patients. Ces valeurs n'ont pas été constatées en pratique. Ces patients ont aussi été exclus.

Le groupe Comtec Fresenius Kabi® comportait 68 patients à l'issue de la sélection tandis que le groupe Optia Terumo BCT® comportait 139 patients. Le processus de sélection est illustré par la figure 5.

3.3) CREATION DE DEUX FOCUS GROUPES

Un focus groupe a été créé dans chacun des groupes Comtec Fresenius Kabi® et Optia Terumo BCT®, ne comportant que les patients ayant une faible leucocytose. Cette faible leucocytose a été définie arbitrairement par un seuil de globules blancs inférieur à 10 G/L.

Le sous-groupe Comtec Fresenius Kabi® est constitué de 21 patients ayant une leucocytose comprise entre 6,6 et 9,5 G/L de globules blancs totaux avant l'aphérèse tandis que le sous-groupe Optia Terumo BCT® est constitué de 19 patients ayant une leucocytose comprise entre 3,2 et 9,5 G/L de globules blancs totaux avant l'aphérèse (figure 5).

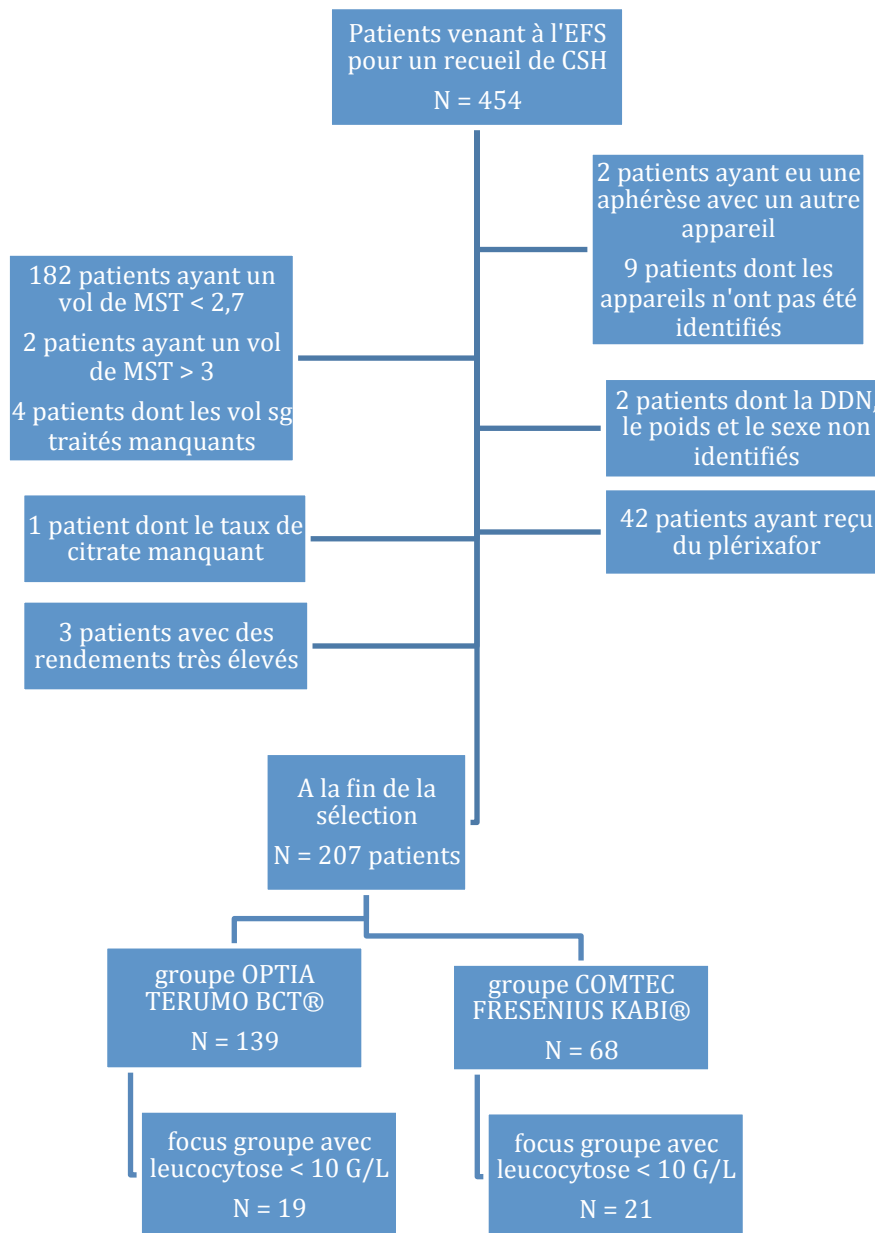


Figure 5 : Processus de sélection des patients

4) LES APPAREILS UTILISES

4.1) L'APPAREIL OPTIA TERUMO BCT®

Il s'agit d'un séparateur de cellules sanguines à flux continu qui peut être utilisé pour l'aphérèse cellulaire (plaquettes, granulocytes et cellules mononucléées), pour l'échange et le traitement plasmatique, pour l'érythraphérèse (déplétion ou échange) et pour la concentration cellulaire (moelle).

Ce séparateur de cellules sanguines utilise le dispositif médical à usage unique (DMU) ou des kits de collecte de CSH par aphérèse type 10110 à usage unique, pour la réalisation de déplétions leucocytaires, plaquettaires et pour la collecte de granulocytes.

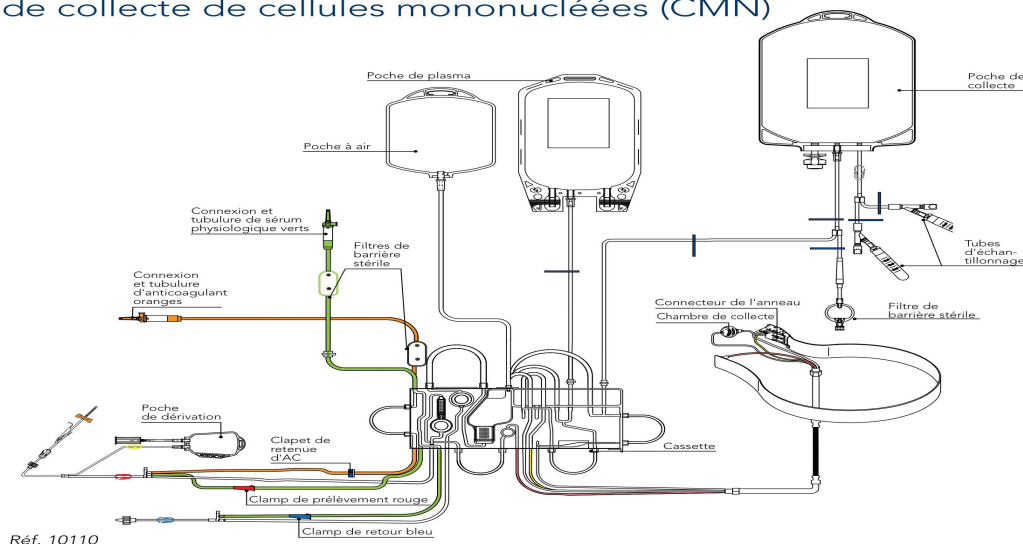
Le système de gestion automatisée de l'interface AIM® (Automated Interface Management), assure une surveillance, une interprétation et un réglage de l'interface en temps réel pour la collecte des cellules mononucléées.

Le système AIM® établit une couche d'interface sanguine au niveau du port de collecte. Une couche de leucocytes s'accumule. Le système AIM® détecte la présence de cellules, contrôle la concentration de cellules dans le port de collecte, en ajustant le débit de la pompe à plasma. La profondeur à laquelle les cellules sont collectées dans la couche leuco-plaquettaire est contrôlée (39). Les pompes se règlent automatiquement pour garantir que les hématies, les granulocytes, les plaquettes et le plasma soient continuellement retournés au patient. Les cellules nécessaires s'accumulent dans la chambre de la centrifugeuse, qui est conçue pour réduire le nombre de cellules non souhaitées dans le produit final.

Les pompes et les valves rincent automatiquement la chambre avec du plasma et les cellules ciblées sont alors recueillies dans la poche de collecte. Les pompes et les valves restaurent l'interface automatiquement et l'ensemble du processus recommence (figure 6) (40).

Figure 6 :

Kit de collecte Spectra Optia utilisé pour les procédures de collecte de cellules mononucléées (CMN)



4.2) L'APPAREIL COMTEC FRESENIUS KABI®

Il s'agit également d'un séparateur de cellules sanguines à flux continu qui peut être utilisé pour l'aphérèse cellulaire (plaquettes, granulocytes et cellules mononucléées), pour l'échange et le traitement plasmatique, pour l'érythraphérèse (déplétion ou échange) et pour la concentration cellulaire (moelle).

Il se divise en 4 parties : une chambre de centrifugation, le panneau avant qui comprend les organes de commandes et de sécurité, sur lequel s'adapte le dispositif médical à usage unique (DMU) ou kit de collecte de CSH par aphérèse type PIYA, le tableau de commande et l'écran d'affichage numérique.

Le DMU est composé d'un ensemble d'éléments avec d'une part une chambre de séparation positionnée dans la centrifugeuse et d'autre part des tubulures assurant les collectes et l'alimentation, en sang et en liquides de remplacement, du système.

La pompe à sang total ainsi que la pompe anticoagulant et la pompe à extraction cellulaire sont des pompes péristaltiques à occlusivité fixe. L'anticoagulant est l'ACD-A et la pompe anticoagulant mesure par tachymétrie. La mesure de la vitesse de centrifugation utilise un stroboscope.

Ce séparateur cellulaire n'est pas totalement automatisé. Un protocole est donc remis afin d'obtenir des résultats reproductibles et de qualité.

Le protocole de prélèvement comporte 4 phases (figure 7):

1. La phase de prélèvement pendant laquelle les cellules s'accumulent dans l'anneau
2. La phase de concentration pendant laquelle les cellules accumulées sont « tassées » vers la sortie plasma de l'anneau
3. La phase de spillover pendant laquelle les cellules accumulées sont extraites de l'anneau par la tubulure plasma du DMU. Elles sont poussées par les GR. Leur montée est stoppée par l'action de l'opérateur. Cette action détermine la qualité de l'extraction.
4. La phase de buffy coat pendant laquelle les cellules extraites sont collectées dans la poche de recueil, poussées par du plasma.

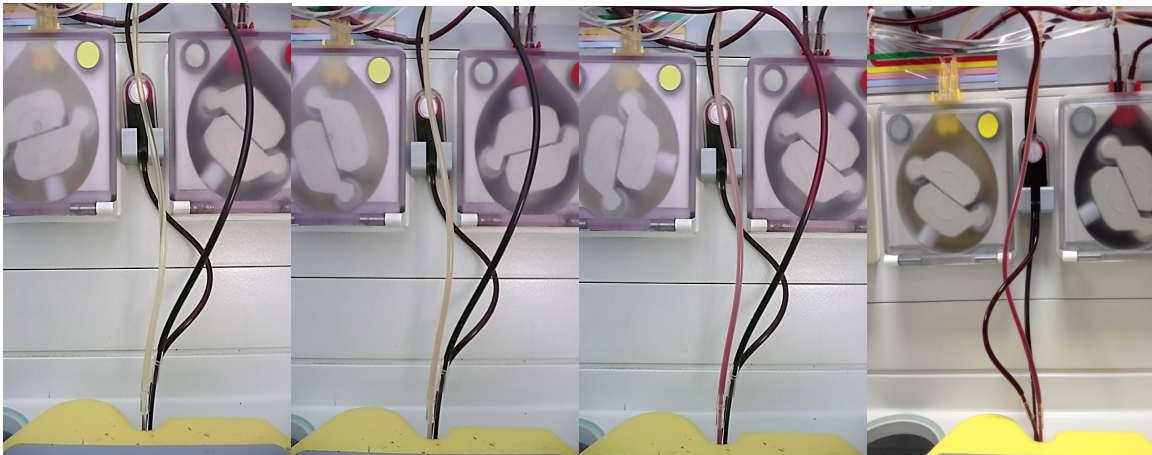


Figure 7 : Les 4 phases de l'appareil Comtec Fresenius Kabi®

Le formulaire de qualification des appareils, utilisé au centre de santé de l'EFS de Bordeaux, est joint en annexe 1.

5) LES VARIABLES ETUDIEES

Les données recueillies relatives aux patients sont le sexe, l'âge, le poids et la pathologie.

Les données en rapport avec la procédure d'aphérèse ont aussi été notées. Il s'agit de l'accès veineux, des modalités de mobilisation (post-chimiothérapie ou en état stable) et du type de facteur de croissance (GCSF) utilisé pour la mobilisation. Le volume sanguin total et traité, le volume de citrate consommé, le débit de collecte et la durée de la procédure sont des données fournies par les appareils d'aphérèse à la fin de la procédure.

Les taux d'hématocrite, d'hémoglobine, de plaquettes et de globules blancs totaux avant et après la cytophérèse ont été recueillis, ainsi que le taux de cellules CD34+ circulantes dans le sang périphérique du patient avant la cytophérèse. Ces données sont obtenues par des bilans biologiques pré et post cytophérèse.

Concernant le greffon, les taux d'hématocrite, de plaquettes, de polynucléaires neutrophiles et le taux de cellules CD34+ ont été recueillis. Ces données sont obtenues par une analyse biologique d'un échantillon de la poche recueillie post cytophérèse.

6) LA TOLERANCE CLINIQUE

Une infirmière était présente aux cotés des patients durant toute la procédure d'aphérèse. Les paramètres hémodynamiques (la température, la tension artérielle et la fréquence cardiaque) ont été contrôlés au début, pendant, et à la fin de chaque procédure. Les effets indésirables éventuels ont été notés sur une fiche destinée à chaque patient (annexes 3, 4 et 5).

7) L'EFFICACITE DE COLLECTE/ LE RENDEMENT

L'objectif primaire de l'étude est le calcul du rendement de collecte de cellules CD34+ de chaque appareil d'aphérèse, afin de mettre en évidence une éventuelle meilleure efficacité de l'un des séparateurs, chez les patients ayant une faible leucocytose.

Formule (41) :

$$\text{Efficacité de collecte} = \frac{\text{CD34 collectés} \times \text{vol poche}}{\text{CD34 pré-cytophérèse} \times (\text{vol sanguin traité} - \text{vol anticoagulant})} \times 100$$

Les objectifs secondaires de l'étude sont :

1. Les variations des taux d'hémoglobine et de plaquettes des patients pré et post-aphérèse
2. Les taux de polynucléaires neutrophiles et d'hématocrite des produits/greffons

8) CALCULS ET STATISTIQUES

Les informations collectées par une infirmière sur des feuilles de procédure spécifiques (Logiciel Qualité Gedéon®) ont par la suite été informatisées par une secrétaire et compilées sur le logiciel Excel®. L'annexe 2 illustre une partie du tableau de recueil des données qui a servi à l'analyse statistique. La moyenne et l'erreur type à la moyenne (SEM : Standard Error of the Mean) ont été calculées pour les variables continues. Le sexe ratio ainsi que le pourcentage d'hommes et de femmes ont été calculé dans chaque groupe. Les pourcentages des différentes pathologies de chaque groupe ont aussi été calculés.

Le test de Shapiro-Wilk, réalisé grâce au logiciel informatique de traitement statistique Prism®, a été utilisé pour analyser la répartition des valeurs d'efficacité de collecte (rendement) des deux appareils d'aphérèse. Ce test de normalité est négatif, c'est-à-dire, que la répartition des valeurs de rendement n'étant pas gaussienne, le recours à certains tests statistiques (à l'instar du « test de Student ») n'est pas valide.

Le test de Mann et Whitney a donc été utilisé pour notre analyse de rendement des appareils d'aphérèse. Le même test a été utilisé pour les autres variables quantitatives. Le seuil de significativité est un p-value $\leq 0,05$.

Concernant les pourcentages de chaque sexe et des différentes pathologies, le test du Chi2 a été utilisé pour la comparaison des données. Le seuil de significativité est un p-value $\leq 0,05$.

IV. RESULTATS

1) LES CARACTERISTIQUES DES PATIENTS

1.1) LE GROUPE OPTIA TERUMO BCT®

Ce groupe était constitué de 139 patients avec une moyenne d'âge de 51 ans (1 à 67 ans), un âge médian de 56 ans, un sexe ratio de 1,57 (85 hommes (61,1 %) et 54 femmes (38,9 %)) et un poids moyen de 68 kg (8 à 110 kg). Les caractéristiques des patients sont illustrées dans les tableaux 1.1 et 1.2 et sur les figures 8 et 9.

La répartition des pathologies est illustrée dans le tableau 2.

Les accès vasculaires comportaient 135 voies veineuses périphériques (VVP), 3 voies veineuses centrales (VVC) et 1 patient avait une voie veineuse périphérique ainsi qu'une voie centrale.

Le taux moyen de cellules CD34+ pré-cytaphérèse était de $45,4 \times 10^6/L$ de sang du patient. Les taux moyens pré-cytaphérèse chez les patients étaient les suivants : 34,2 % d'hématocrite (Hte), 11,7 g/dl d'hémoglobine (Hb), 179,4 G/L de plaquettes (PQ) et 31,9 G/L de globules blancs (GB) totaux.

En post cytaphérèse, les taux moyens étaient les suivants : Hte 30 %, Hb 10,4 g/dl, PQ 118,5 G/L et GB totaux 25,6 G/L.

Les variations de taux d'Hb et de PQ pré et post cytaphérèse, ainsi que les deltas d'Hb et de PQ (différence entre les taux pré et post cytaphérèse), sont illustrés dans le tableau 3 et sur les figures 10, 11, 12 et 13.

1.2) LE GROUPE COMTEC FRESENIUS KABI®

Ce groupe était constitué de 68 patients avec une moyenne d'âge de 54 ans (16 à 67 ans), un âge médian de 59 ans, un sexe ratio de 1,72 (43 hommes (63,2 %) et 25 femmes (36,8 %)) et un poids moyen de 72 kg (45 à 107 kg). Les caractéristiques des patients sont illustrées dans les tableaux 1.1 et 1.2 et sur les figures 8 et 9.

La répartition des pathologies est illustrée dans le tableau 2.

Les accès vasculaires comportaient 66 VVP et 2 VVC.

Le taux moyen de cellules CD34+ pré-cytaphérèse était de $53,5 \times 10^6/L$ de sang du patient. Les taux moyens pré-cytaphérèse chez les patients étaient les suivants : Hte 33,1 %, Hb 14,8 g/dl, PQ 150,5 G/L et GB totaux 31,4 G/L.

En post cytophérèse, les taux moyens étaient les suivants : Hte 27,8 %, Hb 9,6 g/dL, PQ 84,6 G/L et GB totaux 23,4 G/L.

Les variations de taux d'Hb et de PQ pré et post cytophérèse, ainsi que les deltas d'Hb et de PQ, sont illustrés dans le tableau 3 et sur les figures 10, 11, 12 et 13.

	OPTIA TERUMO BCT®	COMTEC FRESENIUS KABI®	Test de Mann et Whitney p-value
	Moyenne +/- SEM		
Age (années)	51 +/- 1,3	54 +/- 1,5	0,09
Poids (kg)	68 +/- 1,6	72 +/- 2,0	0,23

Tableau 1.1 : Caractéristiques des patients des deux groupes ( ge et poids)

	OPTIA TERUMO BCT®	COMTEC FRESENIUS KABI®	Test du Chi2 p-value
	N (%)		
N	139	68	0,77
Femmes	54 (38,9)	25 (36,8)	
Hommes	85 (61,1)	43 (63,2)	

Tableau 1.2 : Caractéristiques des patients des deux groupes (sexes)

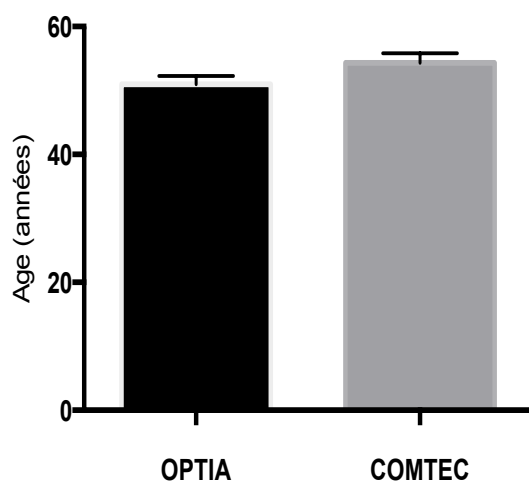


Figure 8 : Moyenne et SEM de l'âge des patients des deux groupes

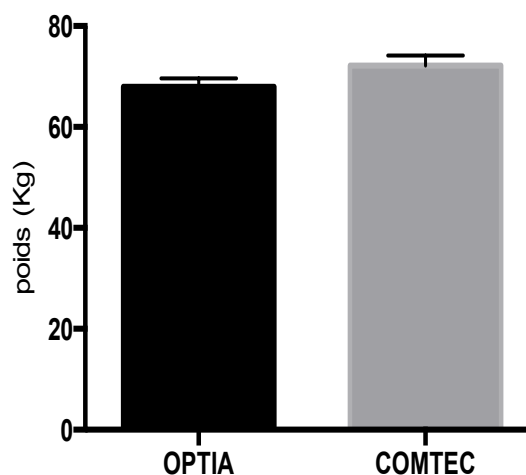


Figure 9 : Moyenne et SEM du poids des patients des deux groupes

	OPTIA TERUMO BCT®	COMTEC FRESENIUS KABI®	Test du Chi2 p-value
	N (%)		
N	139	68	
GNMP	3 (2,16)	0 (0,0)	0,55
Maladie de Hodgkin	10 (7,19)	6 (8,82)	0,68
Leucémie	10 (7,19)	3 (4,41)	0,55
Lymphome	34 (24,5)	32 (47,1)	0,001
Myélome	70 (50,4)	26 (38,2)	0,10
Neuroblastome	4 (2,88)	1 (1,47)	1,00
Tumeur neuro-ectodermique	2 (1,44)	0 (0,0)	1,00
Sarcome d'Ewing	1 (0,72)	0 (0,0)	1,00
Tumeur germinale	4 (2,88)	0 (0,0)	0,31
Diagnostic non identifié	1 (0,72)	0 (0,0)	1,00

Tableau 2 : Répartition des pathologies des patients des deux groupes

	OPTIA TERUMO BCT®	COMTEC FRESENIUS KABI®	Test de Mann et Whitney p-value
	Moyenne +/- SEM		
CD34+ (10 ⁶ /L) pré-cytaphérèse	45,4 +/- 3,61	53,5 +/- 8,32	0,85
Hb (g/dl) avant	11,7 +/- 0,15	14,8 +/- 3,50	0,30
Hb (g/dl) après	10,4 +/- 0,15	9,6 +/- 0,19	0,001
Delta Hb (g/dl)	1,3 +/- 0,07	5,2 +/- 3,47	< 0,0001
PQ (G/L) avant	179,4 +/- 10	150,5 +/- 18	0,03
PQ (G/L) après	118,5 +/- 6,10	84,6 +/- 7,30	0,0007
Delta PQ (G/L)	60,9 +/- 4,95	65,9 +/- 11,42	0,93

Tableau 3 : Taux de cellules CD34+ pré-cytaphérèse, d'Hb et de PQ pré et post cytapphérèse dans les 2 groupes

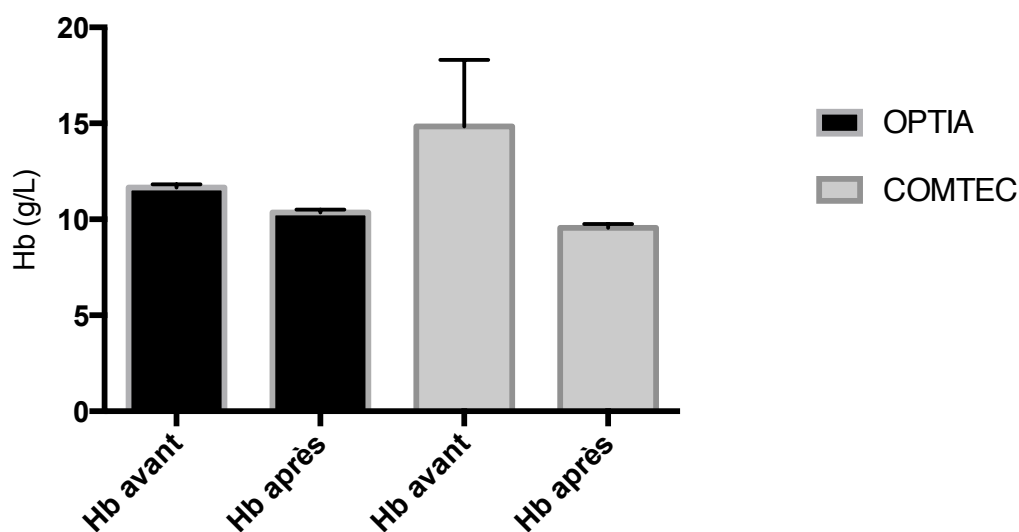


Figure 10 : Moyenne et SEM du taux d'Hb pré et post cytapphérèse chez les patients des 2 groupes

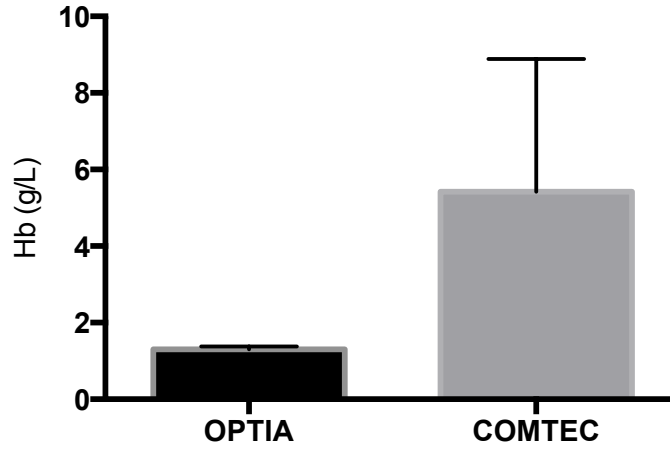


Figure 11 : Moyenne et SEM des deltas d'Hb des patients des 2 groupes

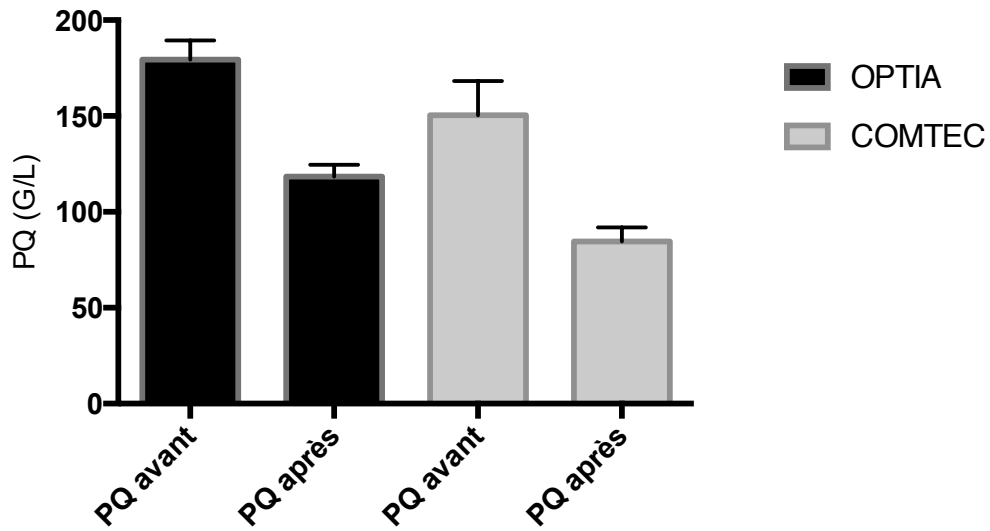


Figure 12 : Moyenne et SEM du taux de PQ pré et post cytophèrese chez les patients des 2 groupes

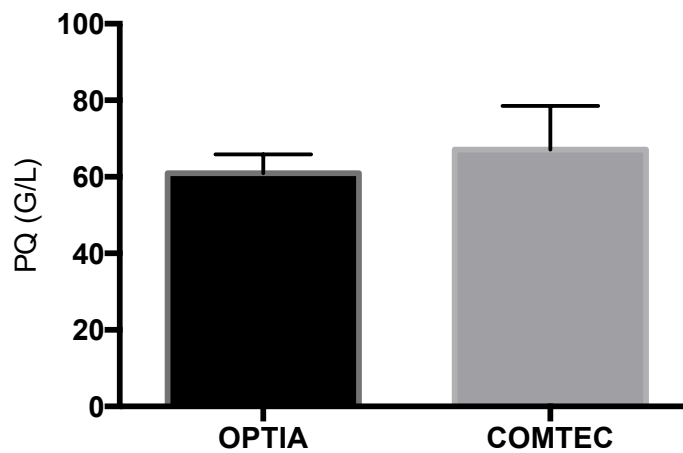


Figure 13 : Moyenne et SEM des deltas de PQ des patients des 2 groupes

1.3) LE FOCUS GROUPE OPTIA TERUMO BCT® (PATIENTS AYANT MOINS DE 10 G/L DE GLOBULES BLANCS TOTAUX)

Il y avait 19 patients dans ce groupe, avec une moyenne d'âge de 48 ans (1 à 67 ans), un âge médian de 55 ans, un sexe ratio de 1,71 (12 hommes (63,2 %) et 7 femmes (36,8 %)) et un poids moyen de 60 kg (8 à 91 kg). Les caractéristiques des patients sont illustrées dans les tableaux 4.1 et 4.2 et sur les figures 14 et 15.

La répartition des pathologies est illustrée dans le tableau 5.

Les accès vasculaires étaient des VVP.

Le taux moyen de cellules CD34+ pré-cytaphérèse était de $47,5 \times 10^6/L$ de sang du patient. Les taux moyens pré-cytaphérèse chez les patients étaient les suivants : Hte 29,5 %, Hb 10,4 g/dl, PQ 77,6 G/L et GB totaux 6,1 G/L.

Après cytaphérèse, les taux moyens étaient les suivants : Hte 25,9 %, Hb 9,2 g/dL, PQ 69,7 G/L et GB totaux 5,5 G/L.

Les variations de taux d'Hb et de PQ pré et post cytaphérèse, ainsi que les deltas d'Hb et de PQ sont illustrés dans le tableau 6 et sur les figures 16, 17, 18 et 19.

1.4) LE FOCUS GROUPE COMTEC FRESENIUS KABI® (PATIENTS AYANT MOINS DE 10 G/L DE GLOBULES BLANCS TOTAUX)

Il y avait 21 patients dans ce groupe avec une moyenne d'âge de 54 ans (16 à 65 ans), un âge médian de 59 ans, un sexe ratio de 0,9 (10 hommes (47,6 %) et 11 femmes (52,4 %)) et un poids moyen de 65 kg (45 à 104 kg). Les caractéristiques des patients sont illustrées dans les tableaux 4.1 et 4.2 et sur les figures 14 et 15.

La répartition des pathologies est illustrée dans le tableau 5.

Les accès vasculaires étaient des VVP.

Le taux moyen de cellules CD34+ pré-cytaphérèse était de $28,9 \times 10^6/L$ de sang du patient. Les taux moyens pré-cytaphérèse chez les patients étaient les suivants : Hte 31,9 %, Hb 11,1 g/dl, PQ 89,8 G/L et GB totaux 5,7 G/L.

En post cytaphérèse, les taux moyens étaient les suivants : Hte 26,3 %, Hb 9,1 g/dl, PQ 63,7 G/L et GB totaux 4,8 G/L.

Les variations de taux d'Hb et de PQ pré et post cytaphérèse ainsi que les deltas d'Hb et de PQ sont illustrés dans le tableau 6 et sur les figures 16, 17, 18 et 19.

	Focus groupe OPTIA TERUMO BCT®	Focus groupe COMTEC FRESENIUS KABI®	Test de Mann et Whitney p-value
	Moyenne +/- SEM		
Age (années)	48 +/- 4,8	54 +/- 2,9	0,92
Poids (kg)	60 +/- 5,2	65 +/- 3,9	0,85

Tableau 4.1 : Caractéristiques des patients des deux focus groupes (âge et poids)

	Focus groupe OPTIA TERUMO BCT®	Focus groupe COMTEC FRESENIUS KABI®	Test du Chi2 p-value
	N (%)		
N	19	21	
Femmes	7 (36,8)	11 (52,4)	0,32
Hommes	12 (63,2)	10 (47,6)	

Tableau 4.2 : Caractéristiques des patients des deux focus groupes (sexes)

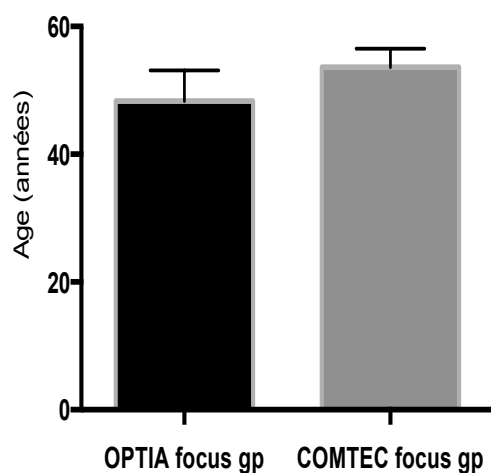


Figure 14 : Moyenne et SEM de l'âge des patients des focus groupes

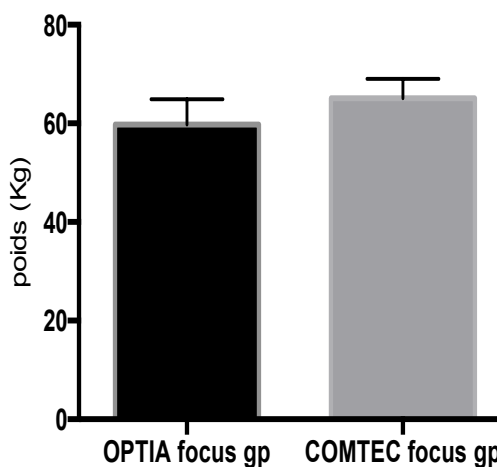


Figure 15 : Moyenne et SEM du poids des patients des focus groupes

	Focus groupe OPTIA TERUMO BCT®	Focus groupe COMTEC FRESENIUS KABI®	Test du Chi2 p-value
	N (%)		
N	19	21	
Maladie de Hodgkin	2 (10,5)	1 (4,76)	0,60
Leucémie	1 (5,26)	2 (9,52)	1,00
Lymphome	11 (57,9)	13 (61,9)	0,80
Myélome	3 (15,8)	4 (19,0)	1,00
Neuroblastome	0 (0,0)	1 (4,76)	1,00
Tumeur neuro-ectodermique	2 (10,5)	0 (0,0)	0,22

Tableau 5 : Répartition des pathologies des patients des deux focus groupes

	Focus groupe OPTIA TERUMO BCT®	Focus groupe COMTEC FRESENIUS KABI®	Test de Mann et Whitney p-value
	Moyenne +/- SEM		
CD34+ (10 ⁶ /L) pré-cytaphérèse	47,5 +/- 12,50	28,9 +/- 5,12	0,40
Hb (g/dl) avant	10,4 +/- 0,37	11,1 +/- 0,24	0,07
Hb (g/dl) après	9,2 +/- 0,43	9,1 +/- 0,22	0,69
Delta Hb (g/dl)	1,2 +/- 0,24	2,0 +/- 0,10	0,0002
PQ (G/L) avant	77,6 +/- 16	89,8 +/- 13	0,34
PQ (G/L) après	69,7 +/- 17	63,7 +/- 8,10	0,56
Delta PQ (G/L)	7,9 +/- 4,22	26,1 +/- 7,26	0,04

Tableau 6 : Taux d'Hb et de PQ pré et post cytapphérèse dans les 2 focus groupes

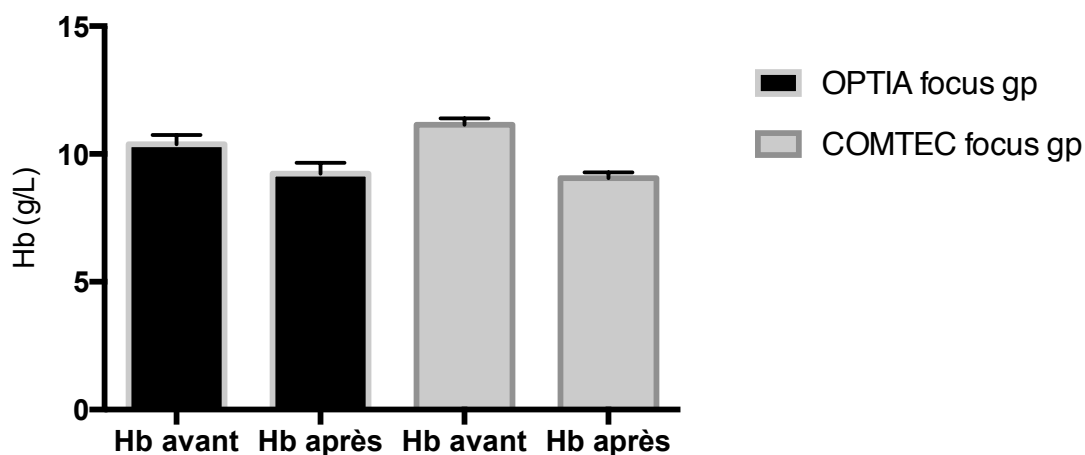


Figure 16 : Moyenne et SEM du taux d'Hb pré et post cytapphérèse chez les patients des focus groupes

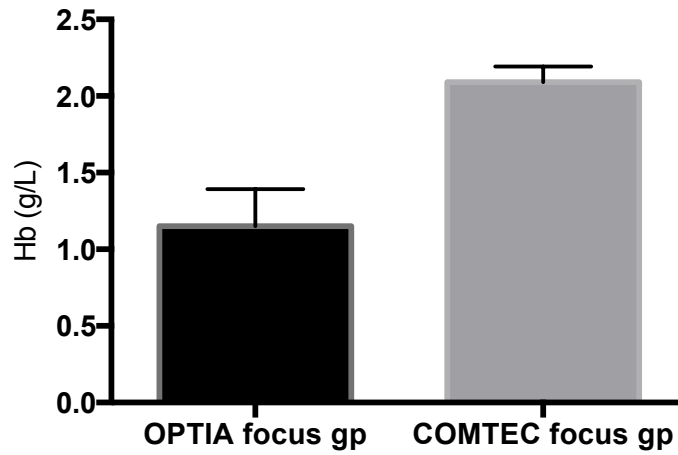


Figure 17 : Moyenne et SEM des deltas d'Hb des patients des focus groupes

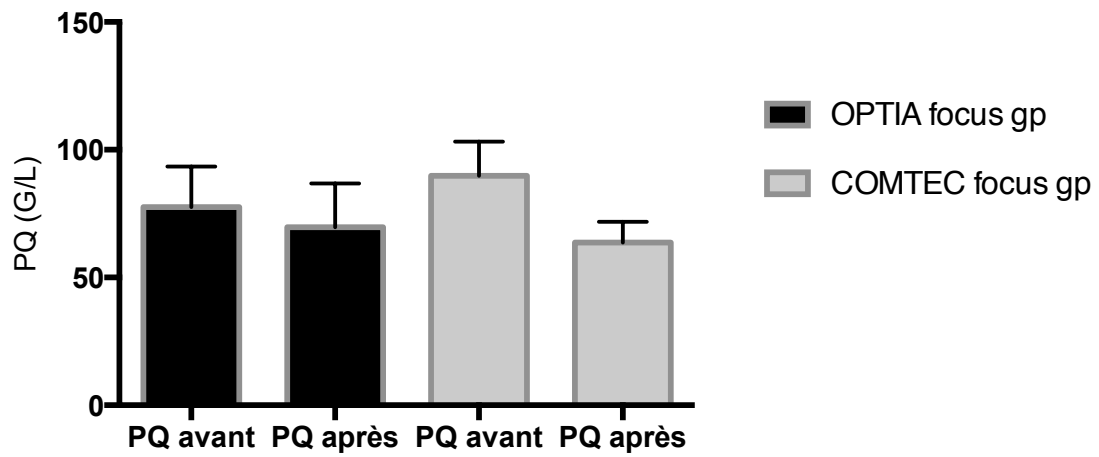


Figure 18 : Moyenne et SEM du taux de PQ pré et post cytophèrese chez les patients des focus groupes

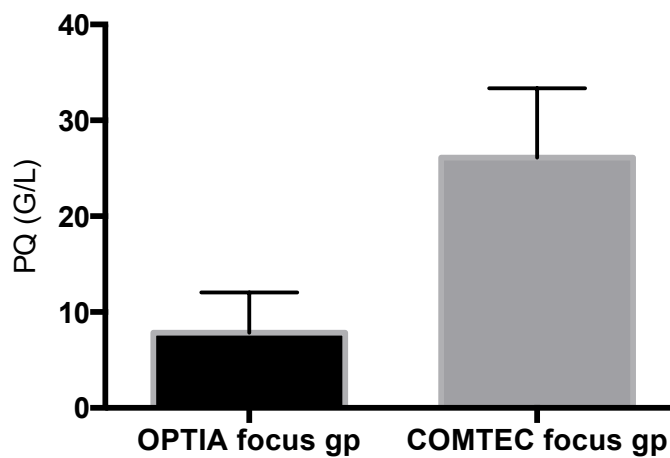


Figure 19 : Moyenne et SEM des deltas de PQ des patients des focus groupes

2) LES DONNEES EN RAPPORT AVEC LA PROCEDURE D'APHERESE

2.1) LE GROUPE OPTIA TERUMO BCT®

Dans ce groupe le volume sanguin total moyen était de 4 370 ml, le volume sanguin traité moyen de 11 470 ml avec un débit de collecte moyen de 54 ml/min et une durée de la procédure moyenne de 261 minutes.

Le volume moyen de citrate consommé était de 955 ml.

L'efficacité de collecte (le rendement) était de 12,6 % en moyenne avec cet appareil d'aphérèse. Ces données sont illustrées dans le tableau 7 et sur la figure 20.

2.2) LE GROUPE COMTEC FRESENIUS KABI®

Dans ce groupe le volume sanguin total moyen était de 4 620 ml, le volume sanguin traité moyen de 12 370 ml avec un débit de collecte moyen de 57 ml/min et une durée de la procédure moyenne de 245 minutes.

Le volume moyen de citrate consommé était de 1 027 ml.

L'efficacité de collecte (le rendement) était de 13,9 % en moyenne avec cet appareil d'aphérèse. Ces données sont illustrées dans le tableau 7 et sur la figure 20.

	OPTIA TERUMO BCT®	COMTEC FRESENIUS KABI®	Test de Mann et Whitney p-value
	Moyenne +/- SEM		
Vol sanguin total (ml)	4 370 +/- 95	4 620 +/- 114	0,18
Vol sanguin traité (ml)	11 470 +/- 245	12 370 +/- 304	0,09
Débit de collecte (ml/min)	54 +/- 1	57 +/- 1	0,16
Durée de procédure (min)	261 +/- 2,7	245 +/- 4,5	0,0003
Vol de citrate consommé (ml)	955 +/- 31	1 027 +/- 26	1,00
Rendement (%)	12,6 +/- 0,5	13,9 +/- 0,7	0,07

Tableau 7: Comparaison des données d'aphérèse des 2 appareils

2.3) LE FOCUS GROUPE OPTIA TERUMO BCT® (PATIENTS AYANT MOINS DE 10 G/L DE GLOBULES BLANCS TOTAUX)

Dans ce groupe le volume sanguin total moyen était de 4 020 ml, le volume sanguin traité moyen de 11 260 ml avec un débit de collecte moyen de 50,8 ml/min et une durée de la procédure moyenne de 261 minutes.

Le volume moyen de citrate consommé était de 682 ml.

L'efficacité de collecte (le rendement) était de 9,7 % en moyenne avec cet appareil d'aphérèse. Ces données sont illustrées dans le tableau 8 et sur la figure 20.

2.4) LE FOCUS GROUPE COMTEC FRESENIUS KABI® (PATIENTS AYANT MOINS DE 10 G/L DE GLOBULES BLANCS TOTAUX)

Dans ce groupe le volume sanguin total moyen était de 4 150 ml, le volume sanguin traité moyen de 11 940 ml avec un débit de collecte moyen de 55,6 ml/min et une durée de la procédure moyenne de 227 minutes.

Le volume moyen de citrate consommé était de 978 ml.

L'efficacité de collecte (le rendement) était de 14,1 % en moyenne avec cet appareil d'aphérèse. Ces données sont illustrées dans le tableau 8 et sur la figure 20.

	Focus groupe OPTIA TERUMO BCT®	Focus groupe COMTEC FRESENIUS KABI®	Test de Mann et Whitney p-value
	Moyenne +/- SEM		
Vol sanguin total (ml)	4 020 +/- 329	4 150 +/- 219	0,84
Vol sanguin traité (ml)	11 260 +/- 877	11 940 +/- 653	0,94
Débit de collecte (ml/min)	50,8 +/- 3,8	55,6 +/- 2,1	0,61
Durée de procédure (min)	261 +/- 6,3	227 +/- 8,3	0,004
Vol de citrate consommé (ml)	682 +/- 123	978 +/- 54	0,19
Rendement (%)	9,7 +/- 1,1	14,1 +/- 1,4	0,01

Tableau 8: Comparaison des données d'aphérèse des 2 focus groupes

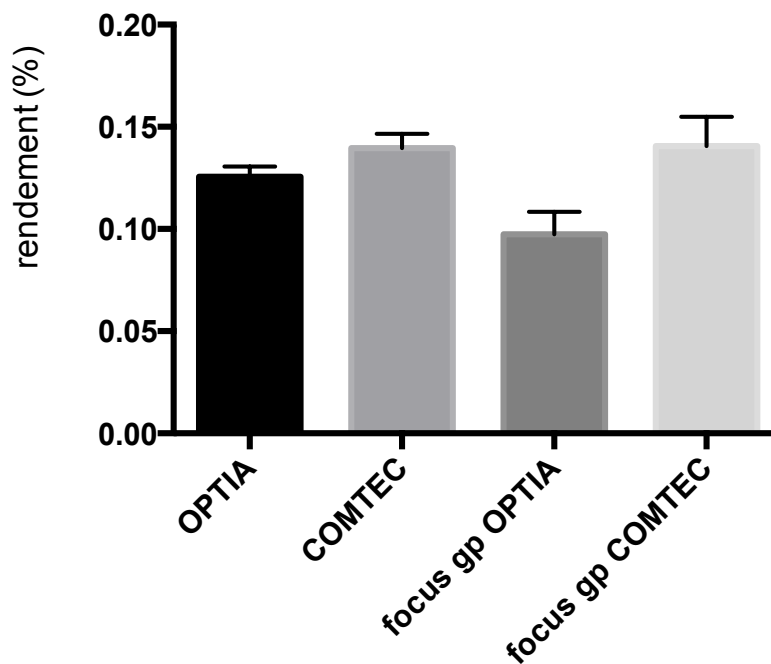


Figure 20 : Moyenne et SEM des rendements

3) LES DONNEES DU GREFFON

3.1) LE GROUPE OPTIA TERUMO BCT®

Le volume moyen de cellules souches hématopoïétiques périphériques (CSP) collectées était de 0,23 litres avec un taux moyen de cellules CD34+ de $243,4 \times 10^6$ /L dans le produit. Le produit contenait une moyenne de 1,17 % d'hématocrite, 21,3 % de polynucléaires neutrophiles, 80,1 % de cellules mononucléées, 1078,2 G/L de plaquettes et 0,22 T/L de globules rouges (tableau 9, figures 21 et 22).

Dans ce groupe, le greffon moyen collecté était constitué de cellules CD34+ à un taux moyen de $3,54 \times 10^6$ /kg de poids du receveur.

3.2) LE GROUPE COMTEC FRESENIUS KABI®

Le volume moyen de CSP collectées était de 0,24 litres avec un taux moyen de cellules CD34+ de $344,6 \times 10^6$ /L dans le produit. Le produit contenait une moyenne de 3,69 % d'hématocrite, 22,3 % de polynucléaires neutrophiles, 68,3 % de cellules mononucléées, 1510 G/L de plaquettes et 0,47 T/L de globules rouges (tableau 9, figures 21 et 22).

Dans ce groupe le greffon moyen collecté était constitué de cellules CD34+ à un taux moyen de $4,73 \times 10^6$ /kg de poids du receveur.

	OPTIA TERUMO BCT®	COMTEC FRESENIUS KABI®	Test de Mann et Whitney p-value
	Moyenne +/- SEM		
PNN (%)	21,3 +/- 1,68	22,3 +/- 2,04	0,29
GR (T/L)	0,22 +/- 0,01	0,47 +/- 0,04	< 0,0001

Tableau 9: Taux de PNN et de GR dans les produits d'aphérèse des 2 groupes

3.3) LE FOCUS GROUPE OPTIA TERUMO BCT® (PATIENTS AYANT MOINS DE 10 G/L DE GLOBULES BLANCS TOTAUX)

Le volume moyen de CSP collectées était de 0,17 litres avec un taux moyen de cellules CD34+ de 298,6 x 10⁶ /L dans le produit. Le produit contenait une moyenne de 1,79 % d'Hte, 37,2 % de PNN, 114,7 % de cellules mononucléées, 413,7 G/L de PQ et 0,27 T/L de GR. Le tableau 10 et les figures 21 et 22 illustrent les moyennes et SEM des PNN et GR dans les greffons.

Dans ce groupe le greffon moyen collecté était constitué de cellules CD34+ à un taux moyen de 5,03 x 10⁶ /kg de poids du receveur.

3.4) LE FOCUS GROUPE COMTEC FRESENIUS KABI® (PATIENTS AYANT MOINS DE 10 G/L DE GLOBULES BLANCS TOTAUX)

Le volume moyen de CSP collectées était de 0,19 litres avec un taux moyen de cellules CD34+ de 258,6 x 10⁶ /L dans le produit. Le produit contenait une moyenne de 3,74 % d'Hte, 25,5 % de PNN, 66,4 % de cellules mononucléées, 952,5 G/L de PQ et 0,45 T/L de GR. Le tableau 10 et les figures 21 et 22 illustrent les moyennes et SEM des PNN et GR dans les greffons.

Dans ce groupe le greffon moyen collecté était constitué de cellules CD34+ à un taux moyen de 3,47 x 10⁶ /kg de poids du receveur.

	Focus groupe OPTIA TERUMO BCT®	Focus groupe COMTEC FRESENIUS KABI®	Test de Mann et Whitney p-value
	Moyenne +/- SEM		
PNN (%)	37,2 +/- 5,69	25,5 +/- 4,19	0,14
GR (T/L)	0,27 +/- 0,05	0,45 +/- 0,06	0,002

Tableau 10: Taux de PNN et de GR dans les produits d'aphérèse des 2 focus groupes

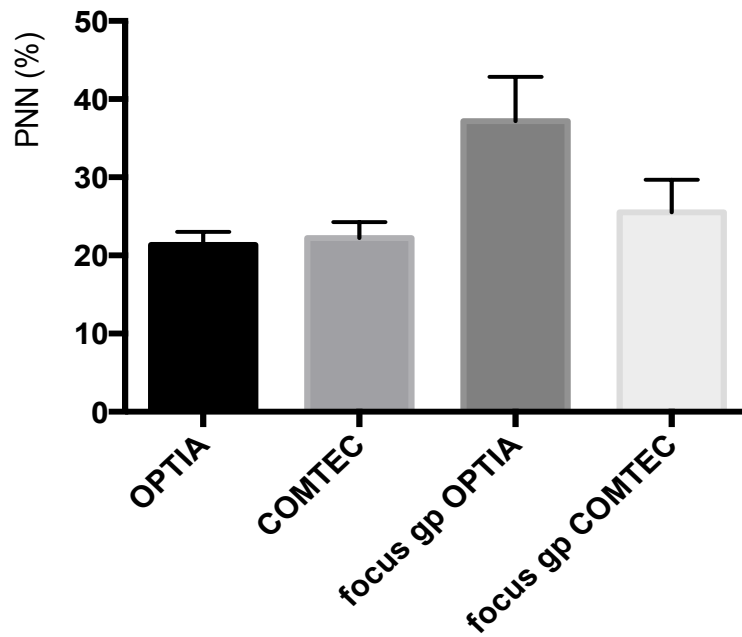


Figure 21 : Moyenne et SEM du pourcentage de PNN dans les greffons des groupes et focus groupes

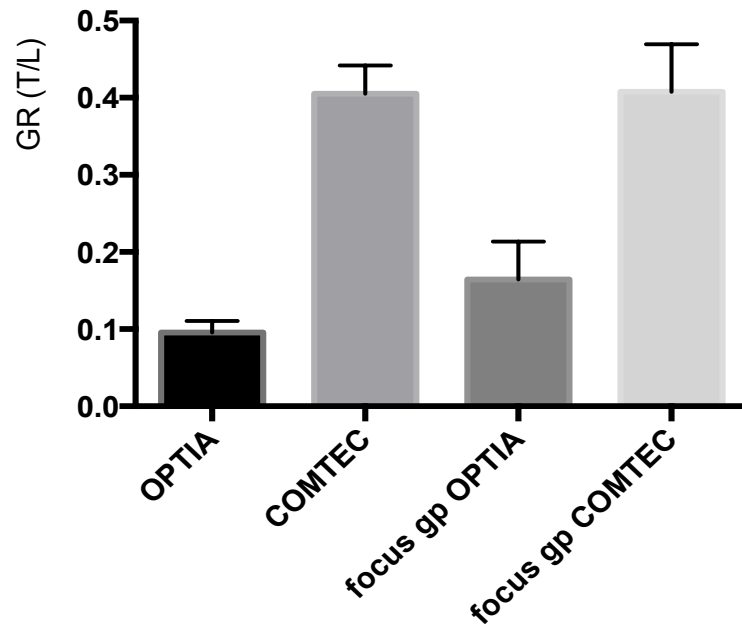


Figure 22 : Moyenne et SEM du taux de GR dans les greffons des groupes et focus groupes

V. DISCUSSION

Les collectes de cellules souches hématopoïétiques ont une importance capitale en terme de thérapeutique. Cette étape de recueil dure plusieurs heures. Il est donc nécessaire de savoir si un kit de récupération est plus efficace qu'un autre dans certaines situations telle que la variation de la leucocytose du patient. Un kit avec un meilleur rendement permettrait non seulement de réduire le nombre de séances et la durée de chaque séance pour les patients, mais permettrait aussi de réduire les coûts de santé engendrés (transport, hospitalisation, support transfusionnel et administration de GCSF). Nous avons donc comparé les deux constructeurs d'aphérèse que se partagent les différents services d'aphérèse en France, c'est-à-dire, Optia Terumo BCT® et Comtec Fresenius Kabi®.

1). REPRESENTATIVITE DES ECHANTILLONS

Les deux groupes étaient comparables en termes d'âge, de poids et de sexe, p-values supérieurs à 0,05. Il n'y avait pas de différence significative entre les pathologies des patients des deux groupes, à l'exception du lymphome. En effet il y avait moins de cas de lymphome dans le groupe Optia Terumo BCT®, 24,5 % contre 47,1 % dans le groupe Comtec Fresenius Kabi®. Une différence statistiquement significative pour cette pathologie, avec un p-value à 0,001.

Les voies veineuses étaient comparables et majoritairement des VVP. Les taux de cellules CD34+ pré-cytaphérèse n'étaient pas significativement différents.

Concernant **les focus groupes**, il n'y avait pas de différence significative en terme d'âge, de poids, de sexe, de pathologies, de voies veineuses ou de taux de cellules CD34+ avant la cytaphérèse.

L'étude de Kai Gutensohn et al. a démontré que le taux de cellules CD34+ circulantes était corrélé à l'efficacité de collecte, c'est-à-dire au rendement. Il n'y avait pas de différence significative entre le taux de cellules CD34+ circulantes dans nos deux groupes, p-value à 0,85 ni dans nos deux focus groupes, p-value à 0,40. Ce facteur n'a donc pas eu d'influence sur nos résultats de rendement (42).

2). LES DIFFERENCES DE TAUX D'HEMOGLOBINE ET DE PLAQUETTES PRE ET POST CYTAPHERESE.

Afin d'être efficace, l'appareil d'aphérèse doit récupérer le maximum de CSH avec un minimum de perte d'hématocrite, d'hémoglobine et de plaquettes car les patients ont souvent une anémie ou une thrombopénie sous-jacente au moment de la collecte. Une perte importante en hémoglobine ou en plaquettes nécessite parfois des transfusions de ces éléments figurés du sang en post-aphérèse. Nous avons donc comparé les différences (les deltas) entre les taux de ces éléments avant et après la collecte de CSH dans nos différents groupes.

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre **les taux d'hémoglobine** pré-cytaphérèse dans les deux groupes ainsi que dans les focus groupes. Après la cytaphérèse, les taux d'hémoglobine diminuaient dans les deux groupes et deux focus groupes. Le delta d'Hb était supérieur dans le groupe Comtec Fresenius Kabi®, 5,2 g/dl contre 1,3 g/dl dans le groupe Optia Terumo BCT®, avec un p-value < 0,0001 donc statistiquement significatif (tableau 3, figures 10 et 11). Les deltas étaient également statistiquement différents dans les focus groupes, 2,0 g/dl dans le focus groupe Comtec Fresenius Kabi® contre 1,2 g/dl dans le focus groupe Optia Terumo BCT®, avec un p-value à 0,0002 (tableau 6, figures 16 et 17). *Cela signifie qu'il y a une perte importante en Hb durant l'aphérèse avec l'appareil Comtec Fresenius Kabi® par rapport à l'aphérèse avec l'appareil Optia Terumo BCT®. Ces résultats signifient qu'en pratique, les patients ayant un faible taux d'Hb en pré-aphérèse seront plus susceptibles d'être transfusés pour anémie en franchissant le seuil transfusionnel, s'ils sont traités avec l'appareil Comtec Fresenius Kabi®.*

Concernant **les plaquettes**, les deux groupes étaient significativement différents au départ avec un p-value à 0,03. Les deltas des PQ n'étaient pas significativement différents dans les deux groupes, p-value à 0,93, signifiant que la perte en PQ pendant la cytaphérèse n'était pas plus importante avec l'un ou l'autre des deux appareils (tableau 3, figures 12 et 13). Cependant, dans les focus groupes, les deltas des PQ étaient significativement différents, p-value à 0,04, alors que les taux de PQ pré-cytaphérèse n'étaient pas significativement différents, p-value à 0,34 (tableau 6, figures 18 et 19). *Ces résultats signifient qu'en pratique les patients ayant une faible leucocytose (GB inférieurs à 10 G/L) ont un risque supplémentaire d'avoir une transfusion plaquettaire s'ils sont traités avec l'appareil Comtec Fresenius Kabi®. Quant aux patients avec une leucocytose supérieure à 10 G/L, ils n'ont pas plus de risque de transfusion plaquettaire qu'ils soient traités avec l'un ou l'autre des appareils d'aphérèse.*

L'étude de Nida Pornprasertsud et al. publiée dans le « Journal of Clinical Apheresis » en 2015, a démontré que le taux d'hématocrite était un facteur prédictif de l'efficacité de collecte des cellules CD34+ périphériques chez des donneurs sains (allogreffe) après mobilisation par le GCSF. Ils ont aussi démontré que les taux d'hématocrite et de plaquettes diminuaient après la mobilisation par le GCSF par rapport aux taux avant la mobilisation (43).

Les taux d'Hte et d'Hb suivant la même progression, il est légitime de chercher à savoir si le taux d'Hb d'un de nos groupes a influencé l'efficacité de collecte des cellules CD34+ périphériques. Les résultats ne retrouvaient pas de différence significative entre les taux d'Hb pré cytaphérèse des deux groupes ni des focus groupes, p-values supérieurs à 0,05. De ce fait, le taux d'Hb n'a pas eu d'influence sur le rendement de nos appareils. D'autre part, nos deux groupes de patients ont été mobilisés par du GCSF. Ce facteur n'a donc pas eu plus d'influence sur la diminution de l'Hte, donc de l'Hb par extension, ou des PQ, de l'un des deux groupes par rapport à l'autre.

Les résultats sont donc en faveur d'une perte plus importante en hémoglobine chez les patients traités avec l'appareil Comtec Fresenius Kabi® par rapport à ceux traités avec l'appareil Optia Terumo BCT® (figures 11 et 17). D'autre part, il y a une perte plus importante en plaquettes chez les patients traités avec l'appareil Comtec Fresenius Kabi®, uniquement en cas de faible leucocytose (GB < 10 G/L) (figures 13 et 19).

3). LES DONNEES EN RAPPORT AVEC LA PROCEDURE D'APHERESE

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les volumes sanguin totaux et traités, les volumes de citrate utilisés et les débits de collectes des deux appareils d'aphérèse, les p-values étant tous supérieurs à 0,05. Cependant, la **durée de la procédure d'aphérèse** était inférieure dans le groupe Comtec Fresenius Kabi®, 245 minutes en moyenne, contre 261 minutes en moyenne dans le groupe Optia Terumo BCT®. Cette différence était statistiquement significative avec un p-value à 0,0003 (tableau 7).

Concernant les focus groupes, les données étaient statistiquement semblables. Il n'y avait pas de différence significative entre les volumes sanguin totaux et traités, les volumes de citrate utilisés et les débits de collectes, les p-values étant tous supérieurs à 0,05. La durée de la procédure d'aphérèse était inférieure dans le focus groupe Comtec Fresenius Kabi®, 227 minutes en moyenne, contre 261 minutes en moyenne dans le focus groupe Optia Terumo BCT®, avec un p-value à 0,004 (tableau 8).

L'efficacité de collecte, c'est-à-dire, le **rendement**, des deux appareils d'aphérèse dans nos deux groupes de patients n'était pas significativement différente. L'appareil Optia Terumo BCT® avait un rendement moyen de 12,6 +/- 0,5 % versus 13,9 +/- 0,7 % pour l'appareil Comtec Fresenius Kabi®, avec un p-value à 0,07 (tableau 7 et figure 20).

Cependant dans les focus groupes, le rendement moyen de l'appareil Optia Terumo BCT® diminuait à 9,7 +/- 1,1 % tandis que celui de l'appareil Comtec Fresenius Kabi® se maintenait à 14,1 +/- 1,4 %. Cette différence était statistiquement significative avec un p-value à 0,01 (tableau 8 et figure 20). *En cas de faible leucocytose (GB < 10 G/L), il y a donc une différence significative qui apparaît entre les rendements des deux appareils d'aphérèse. Cette efficacité de collecte de l'appareil Comtec Fresenius Kabi®, permettra en pratique, de diminuer le nombre de séances d'aphérèse chez les patients ayant une leucocytose inférieure à 10 G/L et allègera par la même occasion les coûts de santé. La durée de chaque séance sera aussi inférieure avec l'appareil Comtec Fresenius Kabi®.*

L'étude de Jeanne et al. publiée dans Transfusion® en 2003, comparant deux appareils d'aphérèse, a aussi démontré une variation de l'efficacité de collecte des cellules CD34+ circulantes avec le taux périphérique de GB totaux. Cependant leur étude était en faveur d'une diminution de l'efficacité de collecte (le rendement) des cellules CD34+ d'un des appareils, lorsque le taux de GB totaux périphériques des patients augmentait (44).

Au total, l'appareil Comtec Fresenius Kabi® a une durée moyenne d'aphérèse inférieure à l'appareil Optia Terumo BCT®. Ces résultats sont constatés aussi bien dans les deux groupes que dans les focus groupes. D'autre part, le rendement de l'appareil Comtec Fresenius Kabi® se maintient en cas de faible leucocytose (GB < 10 G/L) des patients en pré-aphérèse, tandis que le rendement de l'appareil Optia Terumo BCT® chute en cas de faible leucocytose.

4). LES DONNEES DU GREFFON

Nous avons voulu analyser le **taux de polynucléaires neutrophiles (PNN)** dans les greffons car ces cellules sont à l'origine de phénomènes de « sludge » à la décongélation des poches de CSH. Un taux trop élevé de PNN dans les greffons détériore donc la qualité des greffes.

Les pourcentages de PNN n'étaient pas significativement différents dans les greffons des deux groupes de patients. Le groupe Optia Terumo BCT® avait une moyenne de 21,3 +/- 1,68 % de PNN versus 22,3 +/- 2,04 % de PNN dans le groupe Comtec Fresenius Kabi®, avec un p-value à 0.29 (tableau 9 et figure 21).

Dans les focus groupes, le pourcentage de PNN augmente. Le focus groupe Optia Terumo BCT® avait une moyenne de 37,2 +/- 5,69 % de PNN versus 25,5 +/- 4,19 % de PNN dans le focus groupe Comtec Fresenius Kabi®. Cependant cette différence n'était pas statistiquement significative avec un p-value à 0,14 (tableau 10 et figure 21).

Il n'y a donc pas de différence statistiquement significative entre les pourcentages de PNN dans les greffons des groupes et des focus groupes.

Les **taux des globules rouges (GR)** dans les greffons ont aussi été analysés car ces cellules contribuent au phénomène de rejet et d'hémolyse dans l'allogreffe. Dans l'autogreffe cependant il n'y a pas de conséquence d'avoir des greffons riches en GR.

Le taux de GR dans les greffons était supérieur dans le groupe Comtec Fresenius Kabi®, 0,47 +/- 0,04 T/L versus 0,22 +/- 0,01 T/L dans le groupe Optia Terumo BCT®. Cette différence était statistiquement significative, avec un p-value < 0,0001 (tableau 9 et figure 22).

Concernant le taux de GR dans les greffons des focus groupes, des résultats similaires aux groupes précédents sont retrouvés. Le focus groupe Comtec Fresenius Kabi® a un taux supérieur, significativement différent, en GR, 0,45 +/- 0,06 T/L versus 0,27 +/- 0,05 T/L dans le focus groupe Optia Terumo BCT®, avec un p-value à 0,002 (tableau 10, figures 22).

Les résultats des greffons montrent donc un taux supérieur en GR lorsque l'appareil Comtec Fresenius Kabi® est utilisé. Dans les autogreffes il n'y a pas de conséquence mais si cet appareil est utilisé pour les allogreffes, le risque de rejet en cas d'incompatibilité ABO donneur-receveur sera plus important.

5). LES LIMITES DE L'ETUDE

Il s'agissait d'une étude rétrospective sur les données disponibles de janvier 2014 à janvier 2016. De ce fait, certaines données manquantes, non collectées, n'ont pu être récupérées, nous conduisant à devoir exclure certains patients.

Les deux groupes étaient constitués de patients différents et en nombre différent. Afin d'augmenter la comparabilité des deux groupes, les mêmes patients auraient dû être traités avec les deux appareils d'aphérèse et/ou les deux groupes devraient comporter le même nombre de patients.

Le nombre de volumes de masses sanguines traitées était des valeurs calculées par les appareils d'aphérèse. Cependant cette valeur était calculée de façon différente sur les deux appareils. L'appareil Comtec Fresenius Kabi® ne soustrayait pas le volume de l'anticoagulant du résultat tandis que cette soustraction était faite par l'appareil Optia Terumo BCT®.

D'autre part le seuil définissant une faible leucocytose a été défini arbitrairement à 10 G/L, selon les observations des médecins du Centre de Santé de l'EFS. Afin d'avoir un résultat plus précis, ce seuil aurait dû être défini statistiquement.

Concernant le calcul de l'efficacité de collecte ou rendement, selon les données disponibles, nous avons utilisé la formule CE2 (annexe 6). Afin d'augmenter la précision du calcul de rendement, la formule comprenant le taux de cellules CD34+ avant et après la procédure d'aphérèse (CE1 - annexe 6), aurait dû être utilisée. Cependant d'autres études telles que celle de Tiwari et al. (45) et celle de Jeanne et al. (44) utilisent la formule de calcul de rendement que nous avons utilisée (CE2 - annexe 6).

VI. CONCLUSION

Notre étude comparant les deux systèmes d'aphérèse Optia Terumo BCT® et Comtec Fresenius Kabi® nous permet donc d'affirmer notre hypothèse de départ selon laquelle le rendement des deux appareils diffère dans certaines situations. Le rendement du kit de l'appareil Optia Terumo BCT® diminue en cas de faible leucocytose ($GB < 10 \text{ G/L}$) tandis que celui du kit de l'appareil Comtec Fresenius Kabi® se maintient. L'appareil Comtec Fresenius Kabi® a aussi une durée de procédure d'aphérèse qui est inférieure à celui de l'appareil Optia Terumo BCT®.

En cas de faible leucocytose l'appareil Comtec Fresenius Kabi® permet donc de récupérer des CSH en moins de séances d'aphérèse et avec des séances plus courtes.

Cependant la déplétion en hémoglobine des patients est plus importante pendant la procédure d'aphérèse de l'appareil Comtec Fresenius Kabi® et en cas de faible leucocytose il y a aussi une déplétion plaquettaire plus importante avec cet appareil. D'autre part il y a un taux plus important en GR dans les greffons obtenus avec l'appareil Comtec Fresenius Kabi®.

La décision de l'utilisation de l'appareil Comtec Fresenius Kabi® dépendra donc des taux d'Hb, de GB et de PQ pré-cytaphérèse des patients au moment de la collecte de CSH, malgré le fait d'un meilleur rendement et d'une durée inférieure de la procédure d'aphérèse.

Actuellement les deux appareils d'aphérèse sont utilisés en mode automatique, ce qui serait probablement responsable de la différence de rendement dans certaines situations. Dans l'idéal, il conviendrait de modifier les paramètres de centrifugation de chaque appareil et de les adapter à chaque procédure d'aphérèse, en fonction des données rhéologiques de chaque patient. Cela nécessiterait de former régulièrement les médecins et infirmières au fonctionnement de chaque appareil. Ce mode d'exercice serait opérateur-dépendant. Une utilisation en mode automatisé de ces appareils étant plus reproductible et facile à mettre en œuvre, il semble selon les résultats de notre étude, que le facteur influençant le rendement des appareils soit la diminution de la leucocytose. Cependant d'autres paramètres que le seul rendement d'aphérèse doivent être pris en considération dans le choix de l'appareil d'aphérèse au moment de la collecte de CSH.

VII. BIBLIOGRAPHIE

1. Tereza Coman, Lionel Karlin. Hématologie. Oncohématologie. 2ème ed. Elsevier Masson; 2011. 368 p.
2. Gorin NC. Autologous Stem Cell Transplantation in Acute Myelocytic Leukemia. *Blood*. 1998 Aug 15;92(4):1073–90.
3. Gratwohl A, Baldomero H, Schmid O, Horisberger B, Bargetzi M, Urbano-Ispizua A. Change in stem cell source for hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in Europe: a report of the EBMT activity survey 2003. *Bone Marrow Transplant*. 2005 Aug 8;36(7):575–90.
4. Therapeutic apheresis. A physician's handbook. 2nd ed.
5. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative Analysis of Mesenchymal Stem Cells from Bone Marrow, Umbilical Cord Blood, or Adipose Tissue. *Stem Cells*. 2006 May;24(5):1294–301.
6. Lee OK, Kuo TK, Chen W-M, Lee K-D, Hsieh S-L, Chen T-H. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood*. 2004 Mar 1;103(5):1669–75.
7. Sheridan WP, Fox RM, Begley CG, Maher D, McGrath KM, Begley CG, et al. Effect of peripheral-blood progenitor cells mobilised by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *The Lancet*. 1992 Mar 14;339(8794):640–4.
8. Bijou F, Ivanovic Z, Boiron J-M, Nicolini F. Mobilisation des cellules souches hématopoïétiques : état de l'art en 2011 et perspectives. *Transfus Clin Biol*. 2011 Dec;18(5-6):503–15.
9. Sutherland DR, Keating A. The CD34 Antigen: Structure, Biology, and Potential Clinical Applications. *J Hematother*. 1992 Jan 1;1(2):115–29.
10. Terumo bct [Internet]. Disponible sur: <https://www.terumobct.com/location/emea/Documents/306620639H-AboutUsCorporate070715.pdf>
11. fresenius kabi [Internet]. Disponible sur: <http://www.fresenius-kabi.fr/qui-sommes-nous/historique/>
12. Civriz Bozdog S, Tekgunduz E, Altuntas F. The current status in hematopoietic stem cell mobilization: Hematopoietic Stem Cell Mobilization. *J Clin Apheresis*. 2015 Oct;30(5):273–80.
13. Sorensen BS, Thomsen A-M, Moller BK. Collection of peripheral blood progenitor cells for autologous use: Performance enhancements of COBE spectra, auto-PBSC. *J Clin Apheresis*. 2011 Dec 1;26(6):307–14.

14. Haute Autorité de Santé. Neupogen [Internet]. Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2008-08/neupogen_srh.pdf
15. Cooper DL, Proytcheva M, Medoff E, Seropian SE, Snyder EL, Krause DS, et al. Successful collection and engraftment of autologous peripheral blood progenitor cells in poorly mobilized patients receiving high-dose granulocyte colony-stimulating factor. *J Clin Apheresis*. 2012 Nov 1;27(5):235–41.
16. Abstracts From the American Society for Apheresis 33rd Annual Meeting, April 11–14, 2012 Atlanta, Georgia. *J Clin Apheresis*. 2012 Jan 1;27(1):1–40.
17. Gopal AK, Karami M, Mayor J, Macebeo M, Linenberger M, Bensinger WI, et al. The effective use of plerixafor as a real-time rescue strategy for patients poorly mobilizing autologous CD34+ cells. *J Clin Apheresis*. 2012 Jan 1;27(2):81–7.
18. Turhan A. Mobilisation sélective de cellules souches hématopoïétiques dans les homéopathies malignes : modèle de la leucémie myéloïde chronique. *médecine/sciences*. 1998;14(2):198.
19. Sutton L. Place de l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques périphériques dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique. *Hématologie*. 2006 Dec 1;12(6):39–42.
20. J-M. Korach, G. Loron, F. Fadel, S. Ould-Zein, D. Petitpas, P. Chillet, P. Berger, Groupe coopératif de l'association française d'hémaphérèse. Hémaphérèse thérapeutique adulte et pédiatrique. *Réanimation*. 2005 Nov;14(7):641–50.
21. McLeod BC. Therapeutic apheresis: history, clinical application, and lingering uncertainties. *Transfusion (Paris)*. 2010 Jul 1;50(7):1413–26.
22. Wehrli G. Therapeutic apheresis instrumentation. *J Clin Apheresis*. 2011 Jan 1;26(5):286–90.
23. Lefrère F. La transfusion des produits de thérapies cellulaires en hématologie. *Hématologie*. 2012 Jan 1;18(1):59–66.
24. Journal officiel. Arrêté du 29 avril 2002 modifiant l'arrêté du 22 septembre 1993 portant homologation du règlement de l'Agence française du sang relatif aux bonnes pratiques de prélèvement [Internet]. 2002. Disponible sur: <http://www.sante.gouv.fr/fichiers/bo/2002/02-18/a0181839.htm>
25. guide de la pratique transfusionnelle. In société canadienne du sang - Gwen Clarke et Sophie Chargé; 2013. p. 1–7.
26. Agence de la biomédecine. Rapport annuel de synthèse de biovigilance 2013.
27. Kindwall-Keller T. Peripheral stem cell collection: From leukocyte growth factor to removal of catheter. *J Clin Apheresis*. 2014 Aug 1;29(4):199–205.

28. Buzyn.A. Greffes de cellules souches hématopoiétiques. In: Le livre de l'interne Hématologie. 3e ed. Lavoisier; p. 506–27.
29. Appelbaum F.R. Hematopoietic Stem Cell Transplantation A historical Perspective. In: Current Clinical Oncology - Allogeneic Stem Cell Transplantation. Humana Press. Totowa, New Jersey: Mary J. Laughlin, Hillard M. Lazarus; p. 3–6. (clinical research and practice).
30. Ezzone SA. History of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Semin Oncol Nurs. 2009 May;25(2):95–9.
31. allogreffe de moelle osseuse [Internet]. Disponible sur: http://biotechnologie.ac-montpellier.fr/IMG/pdf/fiche_allogreffe_mo.pdf
32. Agence de la biomédecine. le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France [Internet]. 2014. Disponible sur: http://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/dp_mo_2004.pdf
33. greffe de cellules souches du sang [Internet]. fondation contre le cancer; Disponible sur: <http://www.cancer.be/les-cancers/traitements/greffe-de-cellules-souches-du-sang>
34. Anderlini P, Körbling M, Dale D, Gratwohl A, Schmitz N, Stroncek D, et al. Allogeneic Blood Stem Cell Transplantation: Considerations for Donors. Blood. 1997 Aug 1;90(3):903–8.
35. Gómez-Almaguer D, Gómez-Peña Á, Jaime-Pérez JC, Gómez-Guijosa MÁ, Cantú-Rodríguez O, Gutiérrez-Aguirre H, et al. Higher doses of CD34+ progenitors are associated with improved overall survival without increasing GVHD in reduced intensity conditioning allogeneic transplant recipients with clinically advanced disease. J Clin Apheresis. 2013 Oct 1;28(5):349–55.
36. Le Pr Philippe Moreau chef du service d'hématologie clinique. Site web du CHU de Nantes - autogreffe - quel est le principe? [Internet]. [cited 2015 Dec 11]. Disponible sur: <http://www.chu-nantes.fr/autogreffe-quel-est-le-principe--29001.kjsp>
37. Saba N, Abraham R, Keating A. Overview of autologous stem cell transplantation. Crit Rev Oncol Hematol. 2000 Oct 1;36(1):27–48.
38. greffe de cellules souches-IDE [Internet]. Disponible sur: <http://hematolim.fr/Portals/0/Enseignement/DUISP/Initial/LA%20GREFFE%20DE%20CELLULES%20SOUCHES%20HEMATOPOIETIQUES.Laure.2012.pdf?ver=2012-12-17-140734-077>
39. terumoBCT- sales presentation 2012.
40. CarIdlanBCT(R). systeme d'aphérèse spectra optia [Internet]. Disponible sur: www.caridianbct.com

41. Pierelli L Vox Sanguinis 2006.
42. Gutensohn K, Magens MM, Kuehnl P, Zeller W. TRANSPLANTATION AND CELLULAR ENGINEERING: Increasing the economic efficacy of peripheral blood progenitor cell collections by monitoring peripheral blood CD34+ concentrations: CD34 MONITORING: ECONOMIC CONSIDERATIONS. Transfusion (Paris). 2009 Nov 20;50(3):656–62.
43. Pornprasertsud N, Niparuck P, Kidkarn R, Puavilai T, Sirachainan N, Pakakasama S, et al. The use of hematocrit level for predicting the efficiency of peripheral blood CD34+ cell collection after G-CSF Mobilization in Healthy Donors. J Clin Apheresis. 2015 Dec 1;30(6):329–34.
44. Jeanne M, Bouzgarrou R, Lafarge X, Fizet D, Dazey B, Vezon G, et al. Comparison of CD34+ cell collection on the CS-3000+ and Amicus blood cell separators. Transfusion (Paris). 2003 Oct;43(10):1423–7.
45. Tiwari A, Pandey P, Subbaraman H, Bhargava R, Rawat G, Madiraju S, et al. Autologous peripheral blood stem cell harvest: Collection efficiency and factors affecting it. Asian J Transfus Sci. 2015;0(0):0.

ANNEXE 1

FORMULAIRE DE QUALIFICATION D'UN AUTOMATE SEPARATEUR DE SANG POUR RECUEIL DE CELLULES (CSP, CMN)

Type de Machine :

N° de série :

N° inventaire :

JOINDRE UNE COPIE DE LA FICHE TECHNIQUE DE PRELEVEMENT

DONNEES GENERALES

Le séparateur :

- Montage correct du kit oui non *si non = renseigner la zone "commentaires"*
- Programmation correcte des paramètres oui non
- Fonctionnement des alarmes oui non

La procédure de prélèvement

- Déroulement normal du prélèvement oui non
- Confort du patient oui non

CONTROLES

- Le patient ou le donneur: NFS avant et après le prélèvement
- Le produit CSP : Efficacité de la collecte * (%):
$$(C34poche \times Volume\ poche / (C34sang \times VST)) * 100$$
- le produit CSP / CMN : Hte de la poche < à 5% et PNN < 30%

DONNEES FINALES

Résultat attendu		oui	non
Patient : NFS avant / après conformes			
Rendement >50%			
Hte de la poche <5%			
PNN dans la poche <30%			

CONCLUSION

Procédure conforme : oui non

Commentaires (messages, alarmes..) :

Date :

Nom :

Signature :

ANNEXE 2

Tableau de recueil de données

Diagnostic	machine (SP/OP/CT) et n°	sexe	Date naissance	Age	poids (kg)	modalités mobilisation (Stable/pos + Chimio)	drogue(s) mobilisation/dosage	G-CSF	volume sangulin total (L)	volume sangulin traité (L)	Volume citrate consommé (L)	débit collecte (mL/mn)	Durée de procédure (min)	volume CSP collecté (L) (volume du LABO TEL)	CD34+ du produit (x10e6/L)	Hématocrite du produit (%)	Tx de plaquettes du produit (G/L)
LYMPHOME T	CT 7619	F	15/03/52	62	61	post-chimio	R-DHAC	supogen 30	3,8	10,969	0,952	60	213	0,16	120,01	0,7	407
LBDOCC	CXX4	M	20/05/66	49	64	post-chimio	R-CHOP	Zarzio 48 + 30	4,2	16,16	1,293	50	303	0,218	324,98	10,1	2163
LMNH	CT 7619	F	11/09/67	47	48	post-chimio	R-CHOP 14	Granocyte 34	3,23	9,727	0,797	55	196	0,22	96,55	3,21	1281
MYELOME	CT 7619	M	17/08/55	60	104	post-chimio	ENDOXAN	agrasstim 48 +	5,83	17,525	1,42	65	297	0,278	815,4	4,57	808
LA cellules dend	CT 7618	F	03/11/55	59	56	post-chimio	HCVAD	Zarzio 48	3,9	7,42	0,589	50	163	0,16	16,55	3,83	838
LNH	CT 7618	M	28/07/49	65	91	post-chimio	MEDI DHAP	agrasstim 48+	5,57	14,028	1,161	70	220	0,2	183,72	6,6	473
LYMPHOME	CT 7619	F	14/02/54	61	48	post-chimio	CHOEP	Neulasta 6 mg	3	9,126	0,741	50	196	0,166	117,88	2,637	621
MYELOME	CT 7619	M	27/09/50	64	87	post-chimio	ENDOXAN	Zarzio 48+30	5	12,653	1,013	60	228	0,168	372,26	2,46	801
LYMPHOME B	CT 7618	M	01/01/65	50	66	post-chimio	R-DHAC	Neulasta 6 mg	4,83	11,826	0,968	55	231	0,174	151,59	2,463	322
LYMPHOME	CXX5	F	01/07/55	60	45	post-chimio	+ METHOTI	Neulasta	2,95	8,427	0,674	60	154	0,16	67,64	2,91	1288
MYELOME	CT 7619	F	30/01/60	54	54	post-chimio	ENDOXAN	Zarzio 48	3,63	11,223	0,899	60	202	0,152	219,79	0,993	1617
LYMPHOME	CXX4	M	06/12/63	52	86	post-chimio	CHOEP	Neulasta	5,73	16,829	1,395	70	264	0,276	676,92		
LYMPHOME	CT 7619	F	01/07/55	60	45	post-chimio	+ METHOTI	Neulasta	2,95	9,123	0,756	40	221	0,184	34,51	6,28	409
LYMPHOME B	CT 7618	M	27/10/59	55	63	post-chimio	RCHOP	supogen 30+	4,28	12,627	1,007	60	228	0,156	186,8	4,08	3260
LYMPHOME	CXX5	M	13/01/61	55	84	post-chimio	RITUXIMAL	Neupogen 48	4,7	15,475	1,259	65	265	0,258	855,46		
LYMPHOME	CT 7618	F	01/07/55	60	45	post-chimio	+ METHOTI	Neulasta	2,95	9,127	0,747	35	229	0,15	58,38	5,16	847
NEUROBLASTO	CT 7619	F	05/02/99	16	48	post-chimio		Neupogen 30	2,9	10,422	0,856	42	246	0,143	149,79	2,79	449
LA cellules dend	CT 7619	F	03/11/55	59	56	post-chimio	HCVAD	Zarzio 48	3,9	9,126	0,736	50	199	0,176	92,96	4,41	521
MYELOME	CT 7619	M	03/07/54	60	74	post-chimio	ENDOXAN	Zarzio 30+30	4,664	12,866	1,158	50	247	0,189	387,54	2,73	434
LMNH FOLLICL	CT 7619	F	27/10/53	61	55	post-chimio	R-CHOP	Zarzio 48	3,508	10,524	0,863	55	206	0,158	49,12	1,557	458
HODGKIN en re	CT 7618	M	09/04/98	17	87	post-chimio	IGEIV	Zarzio 48	5,58	15,452	1,234	65	263	0,237	452,49	3,66	1100
			MOYENNE	53,62	65,10			moyenne	4,15	11,94	0,98	55,57	227,19	0,19	258,59	3,74	952,47
			mediane	59													

% PNN du produit	ix 00 Globules rouges du produit (G/L)	volum sanguin processé(Volume testé)	nb de volumes sanguins traités	PATIENT CD 34+ sanguines pré cya (10e6/L)	Efficacité de collecte (Rendement)	PATIENT Hematocrite (%) AV	PATIENT Hemoglobine (Gr/L) AV	PATIENT Plaquettes (G/L) AV	PATIENT Globules Blancs totaux (G/L) AV	PATIENT Hematocrite (%) AP	PATIENT Hemoglobine (Gr/L) AP	PATIENT Plaquettes (G/L) AP	PATIENT Globules Blancs totaux (G/L) AP	delta Hte (%) AV-AP	delta Hb (g/L) AV-AP	delta Plq (G/L) AV-AP	delta GB (G/L) AV-AP
59,00	<0,1	10,017	2,80	19	0,10	32	11	10	6,6	24,8	8,86	26,6	6,49	7,2	2,14	-16,6	0,11
3	1,16	14,867	3,00	19,95	0,24	35,7	12,4	169	0,994	27,2	9,31	76	1,16	8,5	3,09	93	-0,166
20,00	0,356	8,93	3,00	13	0,18	28,2	10,2	165	1,08	21,9	8,09	115	0,88	6,3	2,11	50	0,2
17	0,508	16,105	3,00	78	0,18	29,4	10,2	77,4	2,63	23,6	8,37	49,9	2,43	5,8	1,83	27,5	0,2
12	0,557	6,821	3,00	3,93	0,10	32,1	11,2	90,6	2,7	28,3	9,39	51,4	1,71	3,8	1,81	39,2	0,99
31,00	0,78	12,867	3,00	22	0,13	35,2	12,3	28,1	3,03	28,5	10,1	32,4	2,3	6,7	2,2	-4,3	0,73
8	0,293	8,385	3,00	23,98	0,10	30,3	13,1	51,4	3,72	23,4	8,14	42	2,25	6,9	1,96	9,4	1,47
17,00	0,27	11,64	3,00	40	0,13	38,5	13,1	51,4	4	29,7	10,2	25,1	4,04	8,8	2,9	26,3	-0,04
33	0,273	10,858	3,00	24,41	0,10	30,3	10,6	19,3	5,05	24,7	8,46	32,5	4,22	5,6	2,14	-13,2	0,83
14	0,323	7,753	3,00	11,98	0,12	33,1	11,8	186	5,38	27	9,61	142	6,64	6,1	2,19	44	-1,26
68,00	0,11	10,324	3,00	25	0,13	35,9	12,4	118	6,09	29,4	10,4	63,6	5,46	6,5	2	54,4	0,63
		15,434	3,00	85	0,14	35,8	12,8	140	6,26	29,5	10,3	91,3	4,28	6,3	2,5	48,7	1,98
47	0,622	8,367	3,00	6,96	0,11	31	10,6	121	6,41	25,2	8,58	114	5,45	5,8	2,02	7	0,96
14,00	0,45	11,62	3,00	19	0,13	34,2	12,1	214	6,57	41,6	9,75	117	4,31	-7,4	2,35	97	2,26
		14,216	3,00	68	0,23	26,4	9,59	16,9	7,58	22,8	8,27	40,6	8,54	3,6	1,32	-23,7	-0,96
40	0,573	8,38	3,00	11,23	0,09	32	10,9	145	7,76	26,9	9,21	121	5,1	5,1	1,69	24	2,66
28	<0,1	9,566	3,00	31	0,07	27,7	10	59,5	8,03	19,6	7,13	44,8	5,25	8,1	2,87	14,7	2,78
16	0,49	8,392	3,00	14,5	0,13	28,6	10,2	64,4	8,64	23,7	8,41	39,3	4,56	4,9	1,79	25,1	4,08
14	0,3	11,708	3,00	58,49	0,11	31,1	10,8	43,8	8,8	24,8	8,91	26,1	5,57	6,3	1,89	17,7	3,23
39	0,173	9,661	3,00	10,53	0,08	26,6	9,45	29	8,84	20,3	7,54	49,2	6,14	6,3	1,91	-20,2	2,7
4	0,41	14,218	3,00	21,54	0,35	36,5	12,3	86,4	9,52	30,3	11,1	38,3	13,5	6,2	1,2	48,1	-3,98
25,47	0,45	10,96	2,99	28,93	0,141	31,93	11,14	89,82	5,70	26,34	9,05	63,72	4,78	5,59	2,09	26,10	0,92

ANNEXE 3

EFS Aquitaine Limousin - FORM/R3/0076
Date de diffusion : 04/12/2013 - Version 3 - Page 1/1

Consultation médicale du patient avant prélèvement de CSP

<p style="text-align: center;">ETIQUETTE D'IDENTITE</p> <p>NJF (famille) P N (usuel) S NIP (CB) DN</p>	<p style="text-align: center;">Nom du médecin responsable du prélèvement</p> <p style="text-align: center;">_____</p>	<p style="text-align: right;">Date :</p> <p style="text-align: right;">...../...../.....</p>
<p>N° de CSP N° CB.CSH</p>		
<p>Nom du médecin greffeur _____ Nom du médecin clinicien _____</p>		
<p>Prescription complète reçue <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON Volume sanguin total :</p>		
<p>Poids (kg) : </p>	<p>Taille (cm) : </p>	<p>T.A. : </p>
<p>Pouls : </p>	<p>T° : </p>	
<p>Diagnostic du receveur : _____ Type de mobilisation : _____</p>		
<p>Interrogatoire : _____</p> <p>_____</p>		
<p>Examen médical : _____</p> <p>_____</p>		
<p>Patient hospitalisé : <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> N si non, nom du médecin traitant :</p>		
<p>N° de séance : _____ si 1, notice et consentement éclairé signé <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> N</p>		
<p>Séropositivité : <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NSP <input type="checkbox"/> O si oui, dérogation <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> N</p>		
<p>Femme en âge de procréer : <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> N si oui, test de grossesse <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> N</p>		
<p>ATCD transfusionnels :</p>		
<p>Vaccinations dans le mois précédent <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> N</p>		
<p>Décision de prélèvement : <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> N Si non, motif :</p>		
<p>Choix de la machine :</p>		
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> <p>NOM :</p> <p>Signature :</p> </div>		

Rédacteur(s) : GODEAUX Maryline	Vérificateur(s) : BOUZGARROU Ridha	Approbateur : JEANNE Michel
---------------------------------	------------------------------------	-----------------------------

MOP/R3/019

ANNEXE 4

Fiche de prélèvement de CSP pour autogreffe

ETIQUETTE D'IDENTITE	
N P NJF S NIP (CB)	DN

N° de CSP
Séance n° dans le protocole n°

Date de
prélèvement :
...../...../.....

N° CB.CSH

Appareil de prélèvement	TERUMO CARIDIAN	FRESENIUS
N° de machine		
Programme de séparation		
Accès veineux (V. Périphériques : Aller/retour) (Cathéter central)		
Volume du cycle (ml)		
Débit de prélèvement (ml/min)		
Volume de plasma collecté (ml)		
Volume d'ACDA utilisé (ml)		
Volume de sang traité (ml)		
Volume de poche CSP (ml)		
Volume d'ACDA dans la poche (ml)		
Durée de la séance (min)		
VISA / Vérification soluté :		

<u>Quantité de Gluconate de Calcium injecté</u>	
---	--

Incidents survenus lors du prélèvement	
Personne prélevée	Matériel de prélèvement

Nom de l'IDE effectuant l'étiquetage	
Nom de l'IDE effectuant le prélèvement :	

ANNEXE 5

EFS Aquitaine Limousin - FORM/R3/0071
Date de diffusion : 03/12/2013 - Version 3 - Page 1/1

Fiche de liaison avec la Thérapie Cellulaire (Prélèvement de CSP pour autogreffe)

ETIQUETTE D'IDENTITE
Nom de Famille (naissance) :
Nom usuel (marital) :
Prénom :
Sexe : Date de Naissance:
Numéro d'identifiant patient :

Date de prélèvement :
...../...../.....

Poids (kg) :

Diagnostic :

Séparateur utilisé (*rayer*) : COBE / ASTEC

Service prescripteur :
UF :

N° de prélèvement CSP :

CB.CSH

N° lot du kit :

Volume de la poche

Sérologie positive : N NSP O

Observations :

Nom et signature	Prélèvement	Thérapie Cellulaire
	Date et heure de transmission à la technicienne ou de dépôt en chambre froide :	Date et heure de réception :

Rédacteur(s) : GODEAUX Maryline	Vérificateur(s) : BOUZGARROU Ridha	Approbateur : JEANNE Michel
---------------------------------	------------------------------------	-----------------------------

MOP/R3/019

ANNEXE 6

Formules de calcul de « COLLECTION EFFICIENCY »

CE 1 : collection efficiency « pré/post »

$$= \frac{\text{Nombre absolu CD34 collectés} \times 100}{[(\text{CD34 avant} + \text{CD34 après})/2] \times [\text{vol sanguin traité (ml)} - \text{vol anticoagulant(ml)}] \times 1000}$$

Ref in : Heuft HG, transfusion 20L1 (CE 1)

CE 2 : collection efficiency « pré »

$$= \frac{\text{CD34 collectés (10}^6\text{/ml)} \times \text{vol poche (ml)} \times 100}{\text{CD34 avant (10}^6\text{/ml)} \times [\text{vol sanguin traité (ml)} - \text{vol anticoagulant (ml)}]}$$

Ref in : Pierelli L Vox Sanguinis 2006

SERMENT MEDICAL

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

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

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

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer leurs consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera.

Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

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

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

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

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

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