



HAL
open science

Étude leucotek : optimisation et évaluation du marquage des leucocytes au ^{99m}Tc -HMPAO au centre Jean Perrin

Cédric Brentot

► **To cite this version:**

Cédric Brentot. Étude leucotek : optimisation et évaluation du marquage des leucocytes au ^{99m}Tc -HMPAO au centre Jean Perrin. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-04050176

HAL Id: dumas-04050176

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04050176v1>

Submitted on 29 Mar 2023

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

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

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE PHARMACIE

Année : 2022

N°

MEMOIRE POUR LE DIPLÔME D'ETUDES SPECIALISEES DE PHARMACIE
OPTION : PHARMACIE HOSPITALIERE : PRATIQUE ET RECHERCHE

TENANT LIEU DE THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
le : 13 octobre 2022
par
Cédric BRENTOT

ETUDE LEUCOTEK : OPTIMISATION ET EVALUATION DU MARQUAGE DES LEUCOCYTES AU ^{99m}TC -HMPAO AU CENTRE JEAN PERRIN

Directeur de thèse : Monsieur Alban REVY, Docteur, Centre Jean Perrin (Radiopharmacie)

Jury

Président : **M. Valérie SAUTOU**
Ferrand

Professeur, UFR Pharmacie de Clermont-

Membres : **M. Elise LEVIGOUREUX**

Maître de Conférence Universitaire,
UFR Pharmacie de Lyon Est

M. Charles MERLIN

Médecin nucléaire
Centre Jean Perrin (Médecine nucléaire)

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE PHARMACIE

Année : 2022

N°

MEMOIRE POUR LE DIPLÔME D'ETUDES SPECIALISEES DE PHARMACIE
OPTION : PHARMACIE HOSPITALIERE : PRATIQUE ET RECHERCHE

TENANT LIEU DE THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
le : 13 octobre 2022
par
Cédric BRENTOT

ETUDE LEUCOTEK : OPTIMISATION ET EVALUATION DU MARQUAGE DES LEUCOCYTES AU ^{99m}Tc -HMPAO AU CENTRE JEAN PERRIN

Directeur de thèse : Monsieur Alban REVY, Docteur, Centre Jean Perrin (Radiopharmacie)

Jury

Président : **M. Valérie SAUTOU**
Ferrand

Professeur, UFR Pharmacie de Clermont-

Membres : **M. Elise LEVIGOUREUX**

Maître de Conférence Universitaire,
UFR Pharmacie de Lyon Est

M. Charles MERLIN

Médecin nucléaire
Centre Jean Perrin (Médecine nucléaire)

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR DE PHARMACIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr BALAYSSAC David	Toxicologie
Mme SAUTOU Valérie	Pharmacie clinique et Biotechniques
Mr WALRAND Stéphane	Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mme ALRIC Monique	ERT Cidam
Mme BARTHOMEUF Chantal	Pharmacognosie et Biotechnologie
Mr BEYSSAC Eric	Biopharmacie et Technologie
	Pharmaceutique
Mme CALDEFIE-CHEZET Florence	Sciences Végétales et Fongiques
	Pharmaceutiques
Mr CHAVIGNON Olivier	Chimie Organique
Mr CHEZAL Jean-Michel	Chimie Organique
Mr COUDERT Pascal	Chimie Thérapeutique
Mme COURTEIX-RAUSCH Christine	Physiologie
Mme FORESTIER Christiane	Bactériologie et Virologie
Mr GAUMET Vincent	Chimie Physique et Minérale
Mme GUEIRARD Pascale	Biologie Cellulaire
Mme LIVRELLI Valérie	Parasitologie Mycologie
Mr MAUNIT Benoit	Chimie Analytique et Spectrométrie de Masse
	Biophysique, Biomathématiques
Mme RANCHON-COLE Isabelle	Pharmaceutiques
Mme SAUVANT-ROCHAT Marie-Pierre	Santé Publique et Environnement
Mme TERRAIL Laurence	Pharmacologie

PROFESSEUR ASSOCIE

Mme BEDHOMME Sabrina	OFFISIM
----------------------	---------

MAITRES DE CONFERENCE DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme ARCHIMBAUD Christine	Bactériologie et Virologie
Mme BERNARD Lise	Pharmacie clinique et Biotechniques
Mme BOYER Anne	Pharmacie clinique et Biotechniques
Mr CHENNELL Philip	Pharmacie clinique et Biotechniques
Mme HENNEQUIN-ROBIN Claire	Bactériologie et Virologie
Mr ROUZAIRE Paul	Immunologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme ALBA DELGADO Cristina	Biophysique, Biomathématiques
	Pharmaceutiques
Mr AUZELOUX Philippe	Chimie Physique et Minérale

Mr BALESTRINO Damien	Biologie Cellulaire
Mme BEGOU Mélina	Pharmacologie
Mme BLANQUET/DIOT Stéphanie	ERT Cidam
Mr BONNET Jean-Louis	Biologie Cellulaire
Mr CIA David	Biophysique, Biomathématiques
	Pharmaceutiques
Mme CIVIALE Marie-Ange	Physiologie
Mr CLUZEL Jacques	Biophysique, Biomathématiques
	Pharmaceutiques
Mme COLLIN Aurore	Toxicologie
Mme COUDERT Catherine	Pharmacologie
Mr DEBITON Eric	Pharmacognosie et Biotechnologie
Mme DECOMBAT Caroline	Chimie Thérapeutique
Mme DELORT Laetitia	Sciences Végétales et Fongiques
	Pharmaceutiques
Mr DOLY Stéphane	Physiologie
Mme FARGES Marie-Chantal	Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition
Mme FELGINES Catherine	Pharmacognosie et Phytothérapie
Mme GALMIER Marie-Josèphe	Chimie Analytique et Spectrométrie de Masse
Mr GARRAIT Ghislain	Biopharmacie et Technologie
	Pharmaceutique
Mr GONCALVES-MENDES Nicolas	Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition
Mme LAINÉ Emmanuelle	Biopharmacie et Technologie
	Pharmaceutique
Mme MAISONIAL-BESSET Aurélie	Chimie Organique
Mr MALLET Christophe	Pharmacologie
Mme MIQUEL Sylvie	Bactériologie et Virologie
Mr MOREAU Emmanuel	Chimie Organique
Mme PEYRODE Caroline	Pharmacognosie et Phytothérapie
Mme QUINTANA DA INES Mercedes	Chimie Analytique et Spectrométrie de Masse
Mr ROMOND Pierre-Charles	Biomathématiques
Mr ROSSARY Adrien	Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition
	Hématologie
Mme SAPIN Anne-Françoise	OFFISIM - Santé Publique
Mme SAVANOVITCH Chantal	Pharmacognosie et Phytothérapie
Mr SENEJOUX François	Physiologie
Mr SION Benoît	Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition
Mr TALVAS Jérémie	
	Chimie Thérapeutique
Mme TY Nancy	Immunologie
Mme VAREILLE-DELARBRE Marjolaine	Chimie Physique et Minérale
Mme VIVIER Magali	Chimie Thérapeutique
Mme WEBER Valérie	Biophysique, Biomathématiques
Mr WERSINGER Eric	Pharmaceutiques

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

Mme LAFARGE Elodie

Mme PERETON Bénédicte

Mme VAN LANDER Axelle

OFFISIM

OFFISIM

OFFISIM

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mr LE BASLE Yoann

Pharmacie clinique et biotechnologies

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme JOYON Françoise

Anglais

A.T.E.R. (ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE)

Mr YOUSEF Mohammad

Biochimie, Biologie Moléculaire et
Nutrition

Mr BOUATTOUR Imen

Biopharmacie et Technologie
Pharmaceutique

DOCTORANTS CONTRACTUELS

Mr MOKHTAR Nazarine

Physiologie

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury

A Madame le Professeur Valérie SAUTOU,

Qui me fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury. Veuillez croire en l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A Madame le Docteur Elise LEVIGOUREUX,

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à ce jury et de juger ce travail. Veuillez trouver ma sincère reconnaissance et ma profonde considération.

A Monsieur le Docteur Charles MERLIN,

Je vous remercie pour votre disponibilité, d'avoir accepté de participer à ce jury et de juger ce travail. Je souhaite vous exprimer mon profond respect et ma profonde considération.

A Monsieur le Docteur Alban REVY,

Je te remercie pour tout le temps que tu m'as consacré, ainsi que pour ta patience. Ce travail n'aurait jamais vu le jour sans ton aide précieuse. Je t'en serai toujours très reconnaissant.

A l'équipe de Radiopharmacie du Centre Jean Perrin,

A ma famille

A mes parents

Merci de votre soutien durant toutes ces années. Je vous suis reconnaissant du partage de votre expérience de la vie et qui a donné ce que je suis aujourd'hui.

A ma compagne

Merci de ton soutien infailible. Tu m'as apporté tellement de choses. Je suis fier et heureux que nous ayons notre fils et notre future fille.

A mon fils et ma future fille

Vous êtes ma source d'inspiration et ma motivation pour ne jamais faillir. J'espère que je serai un père à la hauteur de vos attentes. Je vous souhaite le meilleur.

A mes amis

A mes amis de fac, Grand Val, Bebert, Francky, Julie, Flo, Bob et vous autres. Merci pour tous ces moments passés avec vous. Nous avons bien ricané et nous sommes toujours soutenus. Si c'était à refaire, je ne prendrai pas la peine de réfléchir, je le referais.

A Caro, ma sœur de cœur, merci pour tous ces moments de franches rigolades. Je ne sais pas si on se tatouera ce fameux dindon dans une cage argentée, mais cela ne nous empêchera pas de nous lancer de nouveau des défis improbables.

A mes autres amis, merci.

A Marie-Thé, les débuts de mon apprentissage étaient difficiles, mais tu as réussi à me faire appliquer les choses avec rigueur. Cela n'est pas étranger à ma situation actuelle. Merci beaucoup.

Au Dr Philippe APPERT, vous m'avez donné la chance d'entrer dans le monde pharmaceutique et de le connaître. Sans cela, je n'en serais sans doute pas ici. Merci beaucoup.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR DE PHARMACIE	4
REMERCIEMENTS	7
TABLE DES MATIERES	9
INDEX DES TABLEAUX.....	12
INDEX DES FIGURES.....	13
LISTE DES ABRÉVIATIONS	14
GLOSSAIRE	15
1 GENERALITÉS ET CONTEXTE	16
1.1 Notions de physique nucléaire.....	16
1.1.1 Historique.....	16
1.1.2 Notion de grandeurs.....	17
1.1.2.1 Mesure d'activité d'une source radioactive.....	17
1.1.2.2 Mesure de l'exposition à une source radioactive.....	17
1.1.3 Les rayonnements ionisants.....	18
1.1.3.1 Le rayonnement alpha (α).....	18
1.1.3.2 Le rayonnement bêta (β).....	18
1.1.3.3 Le rayonnement gamma (γ).....	19
1.2 Médecine nucléaire	19
1.2.1 Activités de la médecine nucléaire.....	19
1.2.1.1 Principe de l'imagerie en médecine nucléaire.....	20
1.2.1.1.1 Spécificités de la gamma-caméra.....	21
1.2.1.1.2 Spécificité de la caméra TEP.....	22
1.2.1.2 Exemple d'examen de diagnostic : la scintigraphie aux leucocytes marqués	
22	
1.2.1.3 Activités de thérapie.....	23
1.2.1.4 Choix des radionucléides et des activités administrées.....	24
1.3 Radiopharmacie et médicaments radiopharmaceutiques	24
1.3.1 Réglementation de la Radiopharmacie	24
1.3.2 Responsabilités.....	25
1.3.3 Législation sur le médicament radiopharmaceutique.....	25
1.3.4 Missions radiopharmaceutiques.....	26
1.3.4.1 Préparation des MRP.....	26
1.3.4.2 Préparations en système clos.....	27
1.3.4.3 Préparation en système ouvert.....	28
1.3.5 Matériels et locaux.....	28

1.3.6	Règlementation sur les marquages cellulaires.....	30
1.3.7	Statut et qualification juridique des marquages cellulaires	30
1.3.8	Principe des différents marquages.....	31
1.3.8.1	Différentes étapes du marquage des leucocytes	32
1.3.8.1.1	Prélèvement.....	33
1.3.8.1.2	Sédimentation	34
1.3.8.1.3	Séparation des lymphocytes.....	34
1.3.8.1.4	Marquage cellulaire.....	35
1.3.8.1.5	Réinjection des leucocytes au patient	36
1.3.8.1.6	Imageries.....	36
1.3.8.2	Contrôles qualités.....	37
2	ETUDE LEUCOTEK : OPTIMISATION ET EVALUATION DE LA METHODE DE MARQUAGE DES LEUCOCYTES AU ^{99m}Tc-HMPAO.....	39
2.1	Introduction à l'étude LEUCOTEK.....	39
2.2	Méthodes et analyses.....	40
2.2.1	Mise en place de l'étude.....	40
2.2.1.1	Traitement des données à caractère personnel.....	40
2.2.1.2	Notice d'information patient.....	40
2.2.2	Variables étudiées.....	41
2.2.2.1	Recueil des données biologiques des patients	41
2.2.2.1.1	Vitesse de Sédimentation (VS).....	41
2.2.2.1.2	CRP.....	41
2.2.2.1.3	Formule leucocytaire.....	41
2.2.2.2	Indicateurs de qualité du marquage	42
2.2.2.2.1	Rendement de marquage.....	42
2.2.2.2.2	Activités de la seringue de leucocytes marqués au ^{99m} Tc-HMPAO.....	42
2.2.2.2.3	Cellules marquées, observées au microscope.....	43
2.2.2.3	Volume de surnagent.....	43
2.2.3	Outils d'optimisation de l'étape de sédimentation.....	44
2.2.3.1	Agents de sédimentation.....	44
2.2.3.2	Contenants.....	45
2.2.4	Analyse statistique	45
2.2.4.1	Matrice de corrélation.....	45
2.2.4.2	Interprétation du coefficient de corrélation	45
2.2.4.3	Classes de valeur de Vitesse de Sédimentation	46
2.2.4.4	Tests de comparaison de moyenne	46
2.3	Résultat et discussion	47
2.3.1	Analyse descriptive de la cohorte.....	47

2.3.2	Identification des variables influençant la qualité du marquage	47
2.3.2.1	Analyse multivariée.....	47
2.3.3	Comparaison des modifications techniques.....	48
2.3.3.1	Agent de sédimentation avec, sans.....	48
2.3.3.2	Comparaison des contenants.....	51
2.3.4	Entretien avec les patients	52
2.4	Conclusion.....	54
3	DISCUSSION ET PERSPECTIVE : INFLUENCE DE LA QUALITE DES MARQUAGES SUR L'INTERPRETATION DE L'IMAGE	55
	BIBLIOGRAPHIE	57
	Annexe I : Utilisation des principaux radionucléides en médecine nucléaire chez l'adulte	64
	Annexe II : Définition des classes de ZAC selon la norme ISO	65
	Annexe III : Demande de scintigraphie aux leucocytes marqués au ^{99m}Tc-HMPAO	66
	Annexe IV : Schéma d'aide à l'explication du déroulement du marquage des leucocytes au ^{99m}Tc-HMPAO.....	67
	Annexe V : Questionnaire de satisfaction de l'entretien avec le patient.....	68
	Annexe VI : Autorisation du patient à son inclusion dans l'étude Leucotek	69
	Annexe VII : Refus d'inclusion du patient à l'étude Leucotek	70
	Annexe VIII : Note d'information fournie aux patient inclus dans l'étude Leucotek	71
	Annexe IX : Interrogatoire utilisé pour l'entretien patient	74

INDEX DES TABLEAUX

Tableau I : Les cellules marquées : indications cliniques.	31
Tableau II : Comparaison du ratio V_s/V_t entre l'utilisation de RESTORVOL® ou sans agent de sédimentation (SA) en fonction de la VS.	48
Tableau III : Comparaison de la quantité de leucocytes en gigas recueillis par tube conique entre l'utilisation et la non utilisation d'agent de sédimentation en fonction de la VS.	49
Tableau IV : Comparaison des ratio quantité de globules rouges par rapport à la quantité de cellules totales entre l'utilisation et la non utilisation d'agent de sédimentation.	49
Tableau V : Comparaison des volumes de surnageants, quantités de leucocytes et de leucocytes entre l'utilisation d'une seringue et d'un tube conique.	51

INDEX DES FIGURES

Figure 1 : Vallée de stabilité.	16
Figure 2 : Le pouvoir de pénétration des rayonnements.	19
Figure 3 : Image TEMP montrant une hyperfixation du ^{99m} Tc-HMDP sur des zones de remodelages osseux importants.	20
Figure 4 : Hal Anger a créé les bases des systèmes d'imagerie sophistiqués utilisés aujourd'hui.	21
Figure 5 : Principe d'acquisition d'une image à l'aide d'une γ -caméra.	21
Figure 6 : Principe de la Tomographie par Emission de Positons.	22
Figure 7 : Enceinte à haute énergie, Medisystem®.	27
Figure 8 : PSM utilisé pour le marquage isotopique cellulaire au CH de Montluçon.	29
Figure 9 : Principales étapes du marquage des leucocytes.	32
Figure 10 : Obtention des différentes phases du sang après 1 heure de sédimentation à 37°C.	34
Figure 11 : Eléments figurés du sang à l'issue de l'étape de séparation des lymphocytes.	35
Figure 12 : Mécanisme d'action du ^{99m} Tc-HMPAO sur un granulocyte.	36
Figure 13 : Schéma de numération cellulaire sur cellule de Kova Slide®.	43
Figure 14 : Corrélogramme entre les marqueurs biologiques et les critères de qualité de marquage.	47
Figure 15 : Evaluation de l'information des patients avant la scintigraphie aux leucocytes marqués au ^{99m} Tc-HMPAO.	53
Figure 16 : Evaluation de la recherche personnelle des patients avant la scintigraphie aux leucocytes marqués au ^{99m} Tc-HMPAO.	53
Figure 17 : Evaluation par les patients de leur entretien avant la scintigraphie aux leucocytes marqués au ^{99m} Tc-HMPAO.	53

LISTE DES ABRÉVIATIONS

^{111}In : Indium 111

$^{99\text{m}}\text{Tc}$: Technétium 99 métastable

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HDP : Technétium 99 métastable-hydroxyméthylène diphosphonate

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO : Technétium 99 métastable-hydroxyméthylpropylamineoxime

DPO : délégué à la protection des données

EANM : European Association of Nuclear Medicine. Association européenne de médecine nucléaire

GR : Globules rouges ou érythrocytes

IAEA : International Atomic Energy Agency. Agence Internationale de l'Energie Atomique

keV : kilo électronvolt

MRP : Médicament radiopharmaceutique

PSM : Poste de sécurité microbiologique

PUI : Pharmacie à usage intérieur

SA : Sans agent

TLE : Transfert linéique d'énergie

V_s : Volume de surnageant

VS : Vitesse de sédimentation

V_t : Volume total

GLOSSAIRE

Transfert linéique d'énergie : quantité d'énergie transmise par une particule chargée dans le milieu environnant durant son parcours. Elle est exprimée en $\text{kEv} \cdot \mu\text{m}^{-1}$.

Vecteur : molécule, cellule, acide aminé, acide nucléique... conférant au traceur ses caractéristiques biologiques qui permettront l'exploration spécifique des différents tissus, organes, selon le but de l'examen.

1 GENERALITÉS ET CONTEXTE

1.1 Notions de physique nucléaire

1.1.1 Historique

La radioactivité est un phénomène physique naturel découvert à la fin du XIXe siècle¹. En 1864, James Clerk Maxwell rédige la théorie de l'électromagnétisme qui explique l'existence d'ondes électromagnétiques (ondes radio, infra-rouge, lumière, ultra-violet, rayons X, gamma)².

Wilhelm Conrad Röntgen (1845-1923) découvre fortuitement en 1895 des rayons induisant une fluorescence qu'il nomme rayons X. Un an plus tard, Henri Becquerel met en évidence que l'Uranium émet des rayons pénétrants similaires aux rayons X qu'il appelle « Rayons Uraniques »¹.

Dans la continuité de ces recherches, Marie Curie observe d'autres éléments émetteurs de rayonnements comme le Thorium et nomme ces rayonnements « radioactivité » (du latin radius, rayon). Plus tard, avec son époux Pierre Curie, ils découvriront deux nouveaux éléments : le Polonium et le Radium¹ et mettront en évidence que les éléments radioactifs émettent des rayonnements lors de leur désintégration qu'Ernest Rutherford identifiera comme les rayons bêta (β) et alpha (α). Paul Villard identifiera les rayons gamma (γ). La « vallée de stabilité » (Figure 1³) représente le type de rayonnement émis par un atome radioactif pour revenir à l'état stable.

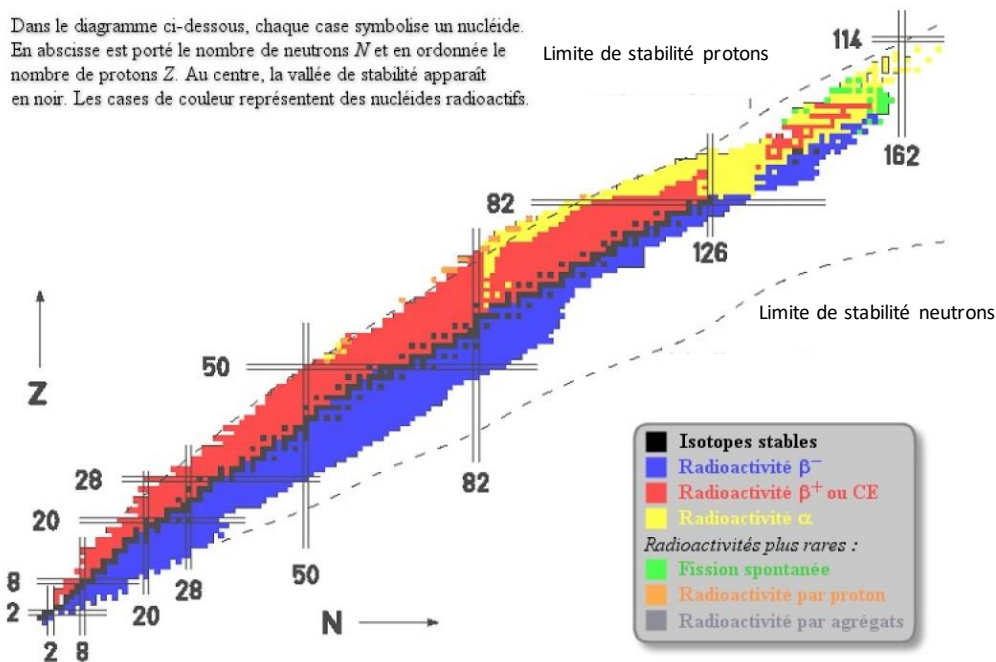


Figure 1 : Vallée de stabilité.

1.1.2 Notion de grandeurs

Il existe des notions de grandeurs spécifiques pour définir l'activité d'une source radioactive et pour en mesurer l'exposition.

1.1.2.1 Mesure d'activité d'une source radioactive

Toute source radioactive possède une activité actuellement mesurable par deux grandeurs. Historiquement, le Curie (symbole Ci) est l'ancienne unité de mesure de l'activité. Un Curie correspond à l'activité de 1g de Radium 226 (^{226}Ra).

Le Becquerel, de sigle Bq, éponyme du Physicien français Henri Becquerel, est l'unité de mesure internationale la plus couramment utilisée. Elle correspond à une quantité de noyaux radioactifs se désintégrant en une seconde. Par exemple, des sources naturelles ont une faible activité comme un litre de lait de l'ordre du Bq ou le corps humain proche du kilobecquerel (kBq). Des sources de radioactivité d'activité plus élevée telles que les radiopharmaceutiques peuvent aller jusqu'au gigabecquerel (GBq). 1 Ci correspond à 37 GBq.

1.1.2.2 Mesure de l'exposition à une source radioactive

La mesure d'une exposition à une source radioactive dépend de quatre facteurs majeurs qui sont : la durée d'exposition, la distance nous séparant de la source radioactive, l'écran de protection et l'activité de la source.

Le Gray, de sigle Gy, permet de mesurer la quantité d'énergie délivrée par un rayonnement à 1 kg de tissu traversé. On parle de dose absorbée⁴.

Cette mesure ne tient pas compte du type de rayonnement émis par le radionucléide ni du type de tissu traversé.

Le Sievert, de sigle Sv, permet de mesurer, le plus souvent en milliSievert (mSv), la dose absorbée en tenant compte du type de rayonnement émis par le radionucléide, de la quantité de rayonnement émis ainsi que de la sensibilité du tissu traversé par ce dernier⁵.

1.1.3 Les rayonnements ionisants

1.1.3.1 Le rayonnement alpha (α)

Le rayonnement α correspond à l'émission de particules alpha. L'énergie transférée par la particule traversant la matière par unité de distance est importante : on parle de transfert linéique d'énergie (TLE) élevé. La particule émise est issue d'un noyau père trop chargé en protons et en neutrons. Les noyaux d'hélium émis étant lourds, une feuille de papier suffit à les arrêter (figure 2⁶).

1.1.3.2 Le rayonnement bêta (β)

Le rayonnement β se divise en deux sous-types de rayonnements :

- Le rayon β^+ est émis par un atome dont le noyau possède un excès de protons. Un de ces derniers se transforme spontanément en neutron et positon qui sera éjecté du noyau.
- Le rayon β^- est émis par un atome dont le noyau possède un excès de neutrons. Un de ces derniers se transforme spontanément en proton et électron qui sera éjecté du noyau.

Le TLE du rayonnement β est plus faible que celle de la particule alpha. Un écran en plexiglas d'un centimètre d'épaisseur ou un écran d'aluminium de quelques millimètres d'épaisseur permet de stopper les rayonnements β . (Figure 2).

1.1.3.3 Le rayonnement gamma (γ)

Le rayon γ est une onde électromagnétique composée de photons. Il est souvent émis après une désintégration de noyau β ou α . Le noyau fils à l'état excité se libère rapidement du trop-plein d'énergie résiduelle en émettant un rayon γ pour revenir à son état fondamental. L'épaisseur d'un écran de plomb ou d'une matière de forte densité est nécessaire pour atténuer une certaine quantité de photons (~ 60%) (figure 2). Cette atténuation dépend de l'énergie de ces derniers.

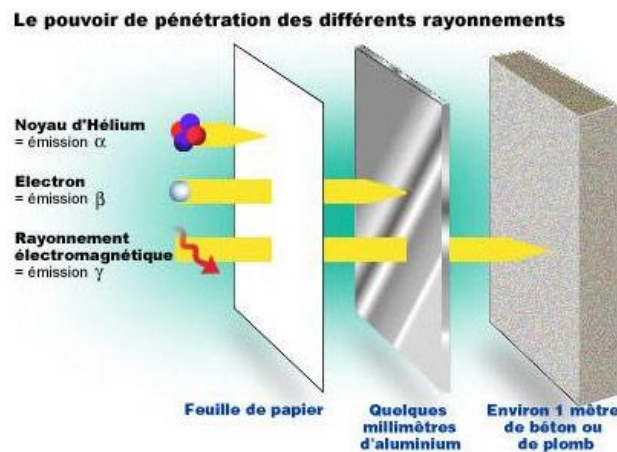


Figure 2 : Le pouvoir de pénétration des rayonnements.

1.2 Médecine nucléaire

1.2.1 Activités de la médecine nucléaire

Depuis les débuts de la médecine nucléaire dans les années 1950, il est possible de diagnostiquer des pathologies d'ordre métaboliques, morphologiques ou infectieuses. La médecine nucléaire permet également de traiter d'autres pathologies. Le but étant d'utiliser les rayonnements émis lors de la désintégration des radioéléments, non plus pour visualiser les cellules ciblées comme en diagnostic, mais pour les léser. Des rayonnements à TLE élevé sont donc utilisés (α ou β).

1.2.1.1 Principe de l'imagerie en médecine nucléaire

L'imagerie nucléaire permet d'apporter des informations fonctionnelles sur un tissu ou organe dans le but de détecter précocement certaines anomalies (infection, inflammation, nodule, cancer...) ou, par exemple, pour suivre l'efficacité d'un traitement.

Une imagerie métabolique est ainsi réalisée. Pour cela, un radionucléide est associé à un vecteur. L'ensemble, appelé traceur, va se fixer spécifiquement sur une cible (Figure 3⁷).

Cette méthode nécessite une faible activité de ce traceur, irradiant peu le patient⁸.

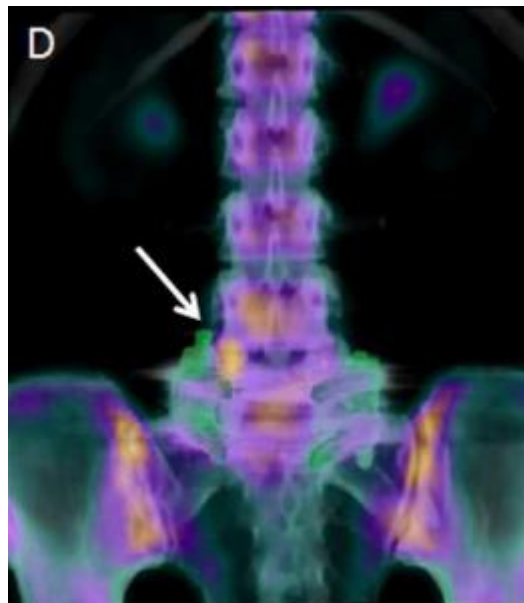


Figure 3 : Image TEMP montrant une hyperfixation du ^{99m}Tc-HMDP sur des zones de remodelages osseux importants.

1.2.1.1.1 Spécificités de la gamma-caméra

Les premiers essais de gamma-caméra font leur apparition dans les années 1940 avec un fonctionnement très lent et une image rudimentaire.

C'est en 1956, que Hal Anger (Figure 4⁹) met au point la caméra scintigraphique dont le principe de capture des rayonnements est le même que les caméras actuelles.



Figure 4 : Hal Anger a créé les bases des systèmes d'imagerie sophistiqués utilisés aujourd'hui.

La majorité des radionucléides émet des rayons γ d'énergie comprise entre 100 et 250 keV.

Pour obtenir une image, le rayon γ émis depuis le patient parcourt les collimateurs qui sélectionnent uniquement les rayons émis perpendiculairement à la tête de détection. Puis, un cristal scintillant composé de NaI convertit l'énergie de ces rayons en photons visibles ou UV. Le guide de lumière facilite l'arrivée des photons dans les photomultiplicateurs pour amplifier le signal qui pourra enfin être traité électroniquement (Figure 5¹⁰).

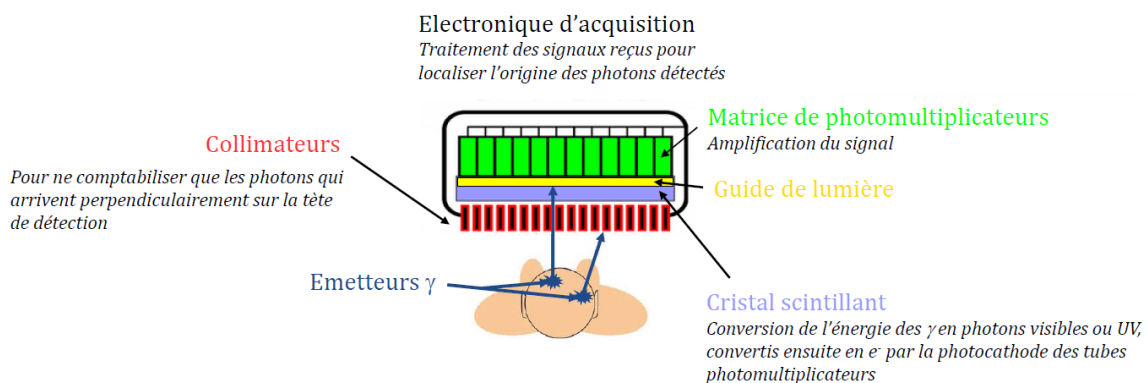


Figure 5 : Principe d'acquisition d'une image à l'aide d'une γ -caméra.

1.2.1.1.2 Spécificité de la caméra TEP

Le patient reçoit une injection d'un médicament radiopharmaceutique émetteur de rayonnements β^+ ou positons. Lorsqu'un positon émis rencontre un électron, ils s'annihilent pour donner une émission à 180° de photons γ d'énergie égale à 511 keV (Figure 6¹¹). Ces photons sont captés par la couronne de détection et un système informatique traite ensuite les données reçues afin de reconstituer une image en trois dimensions. Aujourd'hui, la caméra TEP est couplée avec un tomodensitomètre permettant d'associer l'image fonctionnelle de la caméra TEP à l'image de localisation du tomodensitomètre.

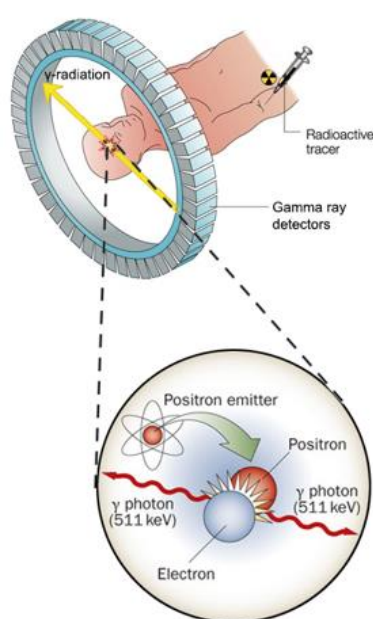


Figure 6 : Principe de la Tomographie par Emission de Positons.

1.2.1.2 Exemple d'examen de diagnostic : la scintigraphie aux leucocytes marqués

La scintigraphie aux leucocytes marqués est un examen de médecine nucléaire indiquée en cas de suspicion d'infection ostéoarticulaire sur matériel ainsi qu'en cas de suspicion d'infection sur les prothèses cardiaques et vasculaires.

En cas de recherche d'infection ostéoarticulaire, une scintigraphie osseuse¹² aux dérivés des biphosphonates (hydroxyméthylène diphosphonate de sodium, HDP) marqués au technétium 99 métastable (^{99m}Tc) possédant une excellente sensibilité de 90 à 100 % dans la recherche d'infections ostéoarticulaires, doit être réalisée au

préalable. Elle permet d'éliminer une ostéite, ou une arthrite septique par exemple. Si cette dernière est positive, la scintigraphie par marquage des leucocytes qui a démontré son intérêt pour identifier les infections ostéoarticulaires avec une spécificité de l'ordre de 80%¹² peut être réalisée.

Il s'agit d'un examen de diagnostic visant à observer la migration de leucocytes marqués vers un site inflammatoire et/ou infectieux.

Après séparation des autres lignées cellulaires, les leucocytes sont marqués ex-vivo au ^{99m}Tc-HMPAO (CERETEC®), puis réinjectés au patient.

En général, le protocole comporte une acquisition précoce à 1h puis 4h après l'injection et une acquisition tardive à 24h post-injection.

La persistance de la fixation au niveau de la région d'intérêt à 24 heures permet d'orienter sur le caractère infectieux du foyer.

1.2.1.3 Activités de thérapie

Historiquement, l'activité en médecine nucléaire est essentiellement tournée vers le diagnostic avec l'utilisation de la γ -caméra puis de la caméra TEP à partir des années 2000.

En parallèle, l'irathérapie ou radiothérapie interne vectorisée (RIV) par l'iode 131 est indiquée depuis plusieurs décennies dans l'élimination du tissu thyroïdien après thyroïdectomie totale en cas de forte suspicion de tumeur résiduelle¹³ ou encore pour traiter certaines formes d'hyperthyroïdies (Annexe I).

Récemment, des MRP marqués avec d'autres émetteur β^- ont vu le jour comme l'Yttrium 90 (⁹⁰Y) ou le Lutétium 177 (¹⁷⁷Lu) (Annexe I).

Le vecteur utilisé est identique mais les radionucléides diffèrent : un pour le diagnostic d'une pathologie spécifique, l'autre pour traiter cette même maladie permet à la fois de sélectionner des patients potentiellement répondeurs à la thérapie, mais aussi de prédire la réponse au traitement. Il s'agit du théranostic, néologisme dérivé des termes « thérapeutique » et « diagnostic ».

D'autres médicaments radiopharmaceutiques marqués aux émetteurs α voient récemment le jour comme l'actinium-225 (^{225}Ac) ainsi que le radium-223 (^{223}Rd). L'intérêt de ces derniers repose sur leur fort potentiel cytotoxique avec une grande quantité d'énergie déposée sur une très petite distance (Annexe I).

1.2.1.4 Choix des radionucléides et des activités administrées

Le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ est un radionucléide émetteur de rayons γ pur, c'est-à-dire que 99% des rayonnements émis de l'état métastable de l'isotope pour retourner à son état fondamental, sont des rayons γ . Cette spécificité de rayonnement, son énergie ainsi que sa période d'environ 6 heures en font un élément pratique d'utilisation pour les examens à visée diagnostique tels que la scintigraphie osseuse. Le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ est actuellement le radioélément le plus utilisé en imagerie nucléaire (Annexe I).

1.3 Radiopharmacie et médicaments radiopharmaceutiques

Suite à la loi 92-1279 du 8 décembre 1992 du Code de la Santé Publique (CSP) issue de la directive européenne 89/343/CEE, le médicament radiopharmaceutique (MRP) appartient au monopole pharmaceutique¹⁴. L'article R5104-15 du décret n° 2000-1316 du 26 décembre 2000 indique que les PUI peuvent être autorisées à la préparation de MRP, sous réserve de disposer des moyens en locaux, personnel, équipements et systèmes d'information nécessaires¹⁵. Par conséquent, la Radiopharmacie doit se situer sur le même lieu géographique que la pharmacie à usage intérieur (PUI).

1.3.1 Réglementation de la Radiopharmacie

L'activité de la Radiopharmacie fait partie des activités optionnelles de la PUI décrites dans l'article L5126-9 du CSP. Cet article définit d'autres missions de la PUI disposant de moyens en locaux, équipements et personnels :

- La réalisation des préparations hospitalières à partir de matières premières ou de spécialités pharmaceutiques ».

- La réalisation des préparations rendues nécessaires par les recherches biomédicales.
- La délivrance des aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales.
- La stérilisation des dispositifs médicaux.
- La préparation des médicaments radiopharmaceutiques.
- L'importation de médicaments expérimentaux.
- La vente de médicaments au public.
- La réalisation de préparations magistrales ou hospitalières, la reconstitution de spécialités pharmaceutiques ainsi que la stérilisation de dispositifs médicaux pour le compte d'autres établissements ou de professionnels de santé libéraux.

1.3.2 Responsabilités

L'arrêté du 1^{er} décembre 2003 relatif aux qualifications et à la formation des pharmaciens utilisant des médicaments radiopharmaceutiques dans les établissements de santé prévoit que le pharmacien exerçant dans une unité de Radiopharmacie soit titulaire du diplôme d'études spécialisées complémentaires (DESC) de Radiopharmacie. Ce diplôme débute au cours de l'internat en Pharmacie Hospitalière.

1.3.3 Législation sur le médicament radiopharmaceutique

L'article L4211-1 du CSP octroie au radiopharmacien l'utilisation des générateurs, trousseaux, précurseurs et médicaments radiopharmaceutiques définis dans l'article L5121-1 du CSP¹⁶. Ces derniers sont également soumis à la réglementation du médicament, selon les conditions de l'article L5121-8 du CSP.

1.3.4 Missions radiopharmaceutiques

Le radiopharmacien assure la gestion et la sécurisation du circuit des médicaments radiopharmaceutiques (livraison, stockage...), la prise en charge des préparations, contrôle qualité, dispensation et traçabilité de ces dernières.

Il garantit, avec la personne responsable de la radioprotection, la conformité du stockage puis l'élimination des déchets radioactifs¹⁷.

L'activité de la Radiopharmacie est soumise à autorisation et à la réglementation de deux organismes :

- L'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) pour les MRP qui sont de concert des médicaments.
- L'Agence de Sûreté Nucléaire (ASN) pour la radioprotection du personnel et des patients.

Détaillons ici quelques points concernant la préparation des médicaments radiopharmaceutiques.

1.3.4.1 Préparation des MRP

On distingue les MRP prêts à l'emploi, qui ne nécessitent qu'un reconditionnement unitaire, de ceux nécessitant une préparation qui consiste à marquer un vecteur (ou trousse) à partir d'un radionucléide. Dans le but de garantir la qualité d'une préparation pharmaceutique, le radiopharmacien peut s'appuyer sur différents guides techniques :

- Le guide des bonnes pratiques de préparations (BPP) de septembre 2022, qui s'applique à l'ensemble des préparations pharmaceutiques qu'elles soient officinales, magistrales et hospitalières. Il concerne les préparations en petites séries limitées au traitement de 250 patients par lot sur une durée de 28 jours¹⁸. Les lignes directrices 4 (LD4) portant sur la préparation des médicaments radiopharmaceutiques sont toujours en cours de révision. Nous devons donc nous référer au chapitre 9 des BPP de 2007.
- RCP (Résumé des caractéristiques du produit).
- Pharmacopée européenne.

1.3.4.2 Préparations en système clos

La ligne directrice 1 des BPP¹⁹ définit les préparations en système clos comme un « procédé de répartition aseptique permettant le prélèvement et le transfert d'un produit stérile vers un autre contenant stérile dans lequel les systèmes de fermeture des contenants et le matériel de transfert restent en place pendant toute la durée du processus de transfert, uniquement assuré par une aiguille stérile, une tubulure stérile ou tout autre dispositif de transfert stérile. Le transfert du produit stérile est réalisé de telle manière qu'il ne soit jamais en contact avec l'environnement ». Toujours d'après la ligne directrice 1 des BPP, le transfert immédiat d'une solution stérile dans un environnement de classe A peut être considéré comme étant un système clos¹⁹. Le matériel utilisé pour réaliser les préparations doit également être stérile.

Il s'agit de la méthode de choix pour la préparation aseptique¹⁹.

La préparation de la grande majorité des MRP est réalisée en système clos. Toutes ces dispositions permettent d'obtenir un risque de contamination microbologique « faible ».

Les dernières exigences de la ligne directrice 4 des BPP en cours de validation, révèlent que les MRP préparés en système clos soient fabriqués dans une enceinte blindée de classe A elle-même placée dans une ZAC à minima de classe D²⁰ (Figure 7).



Figure 7 : Enceinte à haute énergie, Medisystem®.

1.3.4.3 Préparation en système ouvert

D'après la ligne directrice 1 des BPP de 2022, « la préparation aseptique est considérée en système ouvert dès lors qu'une des étapes de préparation n'est pas réalisée en système clos selon la définition explicitée ci-dessus²¹.

Une attention particulière est portée sur les contenants intermédiaires, concernant leur qualité microbiologique et la présence éventuelle d'endotoxines bactériennes.

La préparation aseptique en système ouvert est associée à une filtration stérilisante (filtre stérilisant à 0,22µm) »²¹.

1.3.5 Matériels et locaux

Les marquages cellulaires et notamment de leucocytes sont des préparations dont plusieurs étapes sont réalisées en système ouvert sans possibilité de filtration terminale.

Le risque de contamination microbiologique est donc considéré comme élevé et nécessite des conditions de préparation adaptées. Selon les BPP en cours de validation, ces MRP préparés en système ouvert, doivent être fabriqués dans une enceinte blindée de classe A elle-même placée dans une ZAC à minima de classe C²⁰ (Annexe II).

Afin de réaliser la préparation dans des conditions aseptiques, l'utilisation de hotte à flux laminaire vertical, appelée poste de sécurité microbiologique (PSM)²² (Figure 8) est nécessaire. Selon le type de PSM (de type I à III, le type III correspondant à l'enceinte blindée), l'air est filtré ou non à l'entrée de celui-ci et est filtré à la sortie. Les PSM utilisés sont généralement de type II car ils permettent de filtrer l'air à l'entrée et à la sortie de l'enceinte à l'aide de filtres HEPA, ce qui empêche la contamination microbiologique des produits manipulés (Figure 8).

Ils font l'objet d'une qualification avant leur première utilisation puis une fois par an pour les critères suivants²¹ :

- Intégrité des filtres HEPA.
- Laminarité du flux.

- Absence de fuites hors du poste de travail.
- Contrôle particulaire.
- Contrôle microbiologique.

Le marquage doit également être réalisé à l'aide de dispositifs médicaux stériles (contenants plastiques, seringues, aiguilles...).

Il existe des kits pour marquage de leucocytes en système clos^{23,24}, afin de répondre au chapitre 3 des BPP²⁵. L'avantage est de pouvoir manipuler en s'affranchissant de PSM, tout en protégeant le sang à marquer et le manipulateur d'une contamination microbiologique. Cependant leur coût et l'absence de flexibilité dans la préparation en font des dispositifs controversés, et finalement peu répandus dans les unités de Radiopharmacie.



Figure 8 : PSM utilisé pour le marquage isotopique cellulaire au CH de Montluçon.

1.3.6 Règlementation sur les marquages cellulaires

Actuellement, dans la loi française, aucune réglementation concernant le marquage cellulaire n'est réellement en vigueur. En effet, les cellules marquées ne répondent pas à la définition du médicament, ni à celle des thérapies innovantes²⁶. Le marquage doit cependant être réalisé dans des conditions aseptiques et des contrôles qualité doivent être réalisés.

1.3.7 Statut et qualification juridique des marquages cellulaires

D'après l'article L5121-1, les marquages cellulaires peuvent être considérés comme des préparations magistrales non spécifiques d'une Radiopharmacie et donc d'une PUI²⁷.

Selon l'avis de l'ANSM en 2015, les préparations de cellules sanguines marquées n'ont pas le statut de médicament et aucun texte opposable ne définit les responsabilités de la réalisation des marquages et les modalités pratiques de préparation. L'activité de marquage cellulaire n'appartient pas au monopole pharmaceutique.

Dans sa recherche d'établir un statut juridique au marquage cellulaire des éléments figurés du sang, l'étude menée par J. Poitou²⁶ propose « la création d'une nouvelle catégorie de médicaments à usage humain répondant à la définition de la préparation radiopharmaceutique d'éléments figurés du sang à visée diagnostique »²⁶. Ceci pour l'intégration du marquage des cellules sanguines dans le monopole pharmaceutique et rentrerait ainsi dans le champ de compétence du radiopharmacien. Il est toutefois détaillé dans les nouvelles BPP en cours de révisions, dans la ligne directrice relative à la préparation des médicaments radiopharmaceutiques, les techniques et l'environnement requis pour la mise en œuvre des marquages cellulaires.

1.3.8 Principe des différents marquages

Type de cellules	Médicament radiopharmaceutique ou précurseur utilisé	Indications cliniques
Leucocytes	^{99m}Tc -HMPAO (CERETEC®) ou oxinate ^{111}In	Détection de foyers infectieux ostéo-articulaires en particulier sur prothèse. Diagnostic et suivi inflammatoire de l'intestin (rectocolite hémorragique, maladie de Crohn) ^{28,29} . Diagnostic et localisation d'infections de tissus mous (abcès abdominaux, fièvre d'origine inconnue).
Érythrocytes	Pertechnétate ^{99m}Tc de sodium	Suivi de la cinétique des globules rouges Scintigraphie splénique. Ventriculographie isotopique. Détermination du volume sanguin : mesure d'un volume par dilution isotopique.
	Chromate de sodium ^{51}Cr (Plus commercialisé en France)	Diagnostic de la polyglobulie vraie (maladie de Vaquez) Suivi de la cinétique des globules rouges Mesure de la durée de vie des hématies.
	Oxinate ^{111}In	Séquestration cellulaire dans le foie et la rate. Diagnostic et localisation d'une hémorragie digestive occulte.
Thrombocytes	Oxinate ^{111}In	Détection de foyers infectieux ostéo-articulaires en particulier sur prothèse Mesure de la durée de vie des plaquettes Localisation des sites de destruction.

Tableau I : Les cellules marquées : indications cliniques²⁶.

1.3.8.1 Différentes étapes du marquage des leucocytes

Le marquage isotopique des leucocytes se résume à ces étapes :

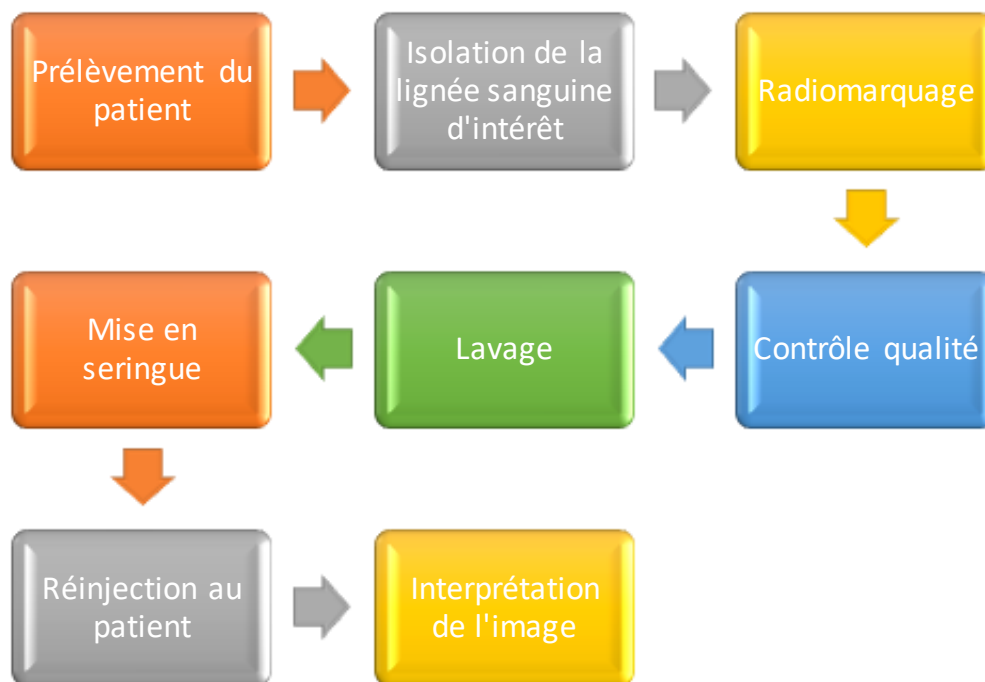


Figure 9 : Principales étapes du marquage des leucocytes.

Afin d'éviter tout risque de contamination croisée et d'identitovigilance, il est déconseillé de réaliser plusieurs marquages isotopiques des leucocytes simultanément³⁰.

L'EANM et L'AIEA ont rédigés chacun des guidelines sur les techniques de marquages cellulaires, qui servent aujourd'hui de référence pour les différents centres qui réalisent l'examen.

1.3.8.1.1 Prélèvement

Le patient se fait prélever au minimum 50 mL de sang total environ à l'aide d'une seringue contenant au préalable une solution anticoagulante acide citrate dextrose (ACD).

L'aiguille servant au prélèvement doit avoir un diamètre intérieur d'un minimum de 20 gauges³⁰ afin de ne pas endommager les cellules d'intérêt, les leucocytes.

Le prélèvement doit être lent et régulier pour prévenir la formation de mousse dans la seringue.

1.3.8.1.2 Sédimentation

Il s'agit d'une étape importante du marquage cellulaire des leucocytes³¹. Elle permet de recueillir les cellules à marquer et de s'affranchir du culot globulaire. Afin d'augmenter la vitesse de sédimentation, l'EANM et l'AIEA recommandent d'utiliser des agents de sédimentations du type HEA^{30,22}. Pour que les cellules sédimentent dans les conditions les plus physiologiques possibles, la sédimentation a lieu dans une étuve à 37°C³². Une sédimentation à des températures supérieures n'a pas d'impact sur la technique mais peut conduire à une image de mauvaise qualité³³. Il est également possible de remplacer l'étape de sédimentation par une centrifugation à basse vitesse, mais cette technique est très peu utilisée en routine³².

A la fin de la sédimentation, on recueille le surnageant composé du plasma riche en cellules (figure 10).

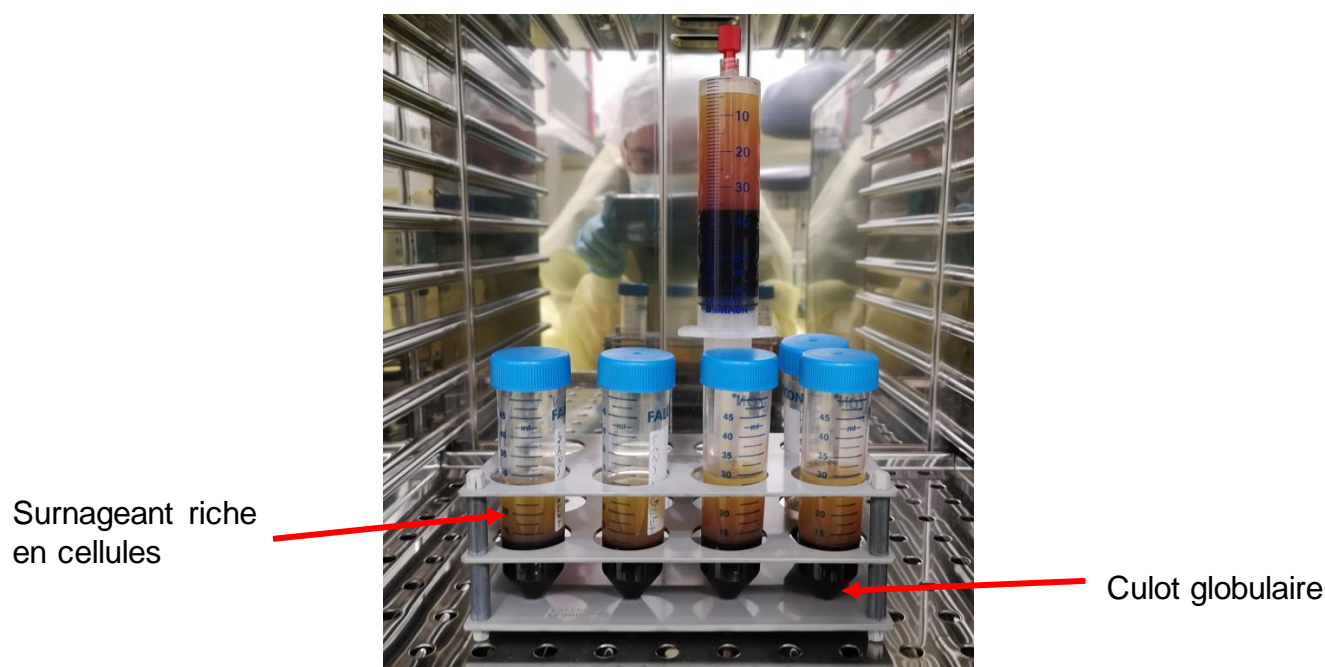


Figure 10 : Obtention des différentes phases du sang après 1 heure de sédimentation à 37°C.

1.3.8.1.3 Séparation des lymphocytes

Il s'agit d'une étape facultative. En effet, le marquage cellulaire des leucocytes peut se réaliser avec ou sans séparation des lymphocytes en utilisant un milieu de séparation des lymphocytes (MSL). A l'aide d'une centrifugation, le sucrose (Ficoll®) de la solution

permet une séparation des différents éléments figurés du sang en fonction de leur densité. A la fin de la centrifugation, nous observerons de haut en bas : plasma, anneau de lymphocytes + plaquettes, sucrose, culot de granulocytes + monocytes, érythrocytes³⁴ (Figure 11). Il est donc possible de récupérer spécifiquement les granulocytes et monocytes afin de les marquer au ^{99m}Tc.

70-80% de l'activité se fixe aux granulocytes. La non séparation des lymphocytes pourrait augmenter l'activité hors de la région d'intérêt et ainsi perturber l'interprétation des premières images³⁰. Les monocytes sont également augmentés en cas d'inflammation³⁵.

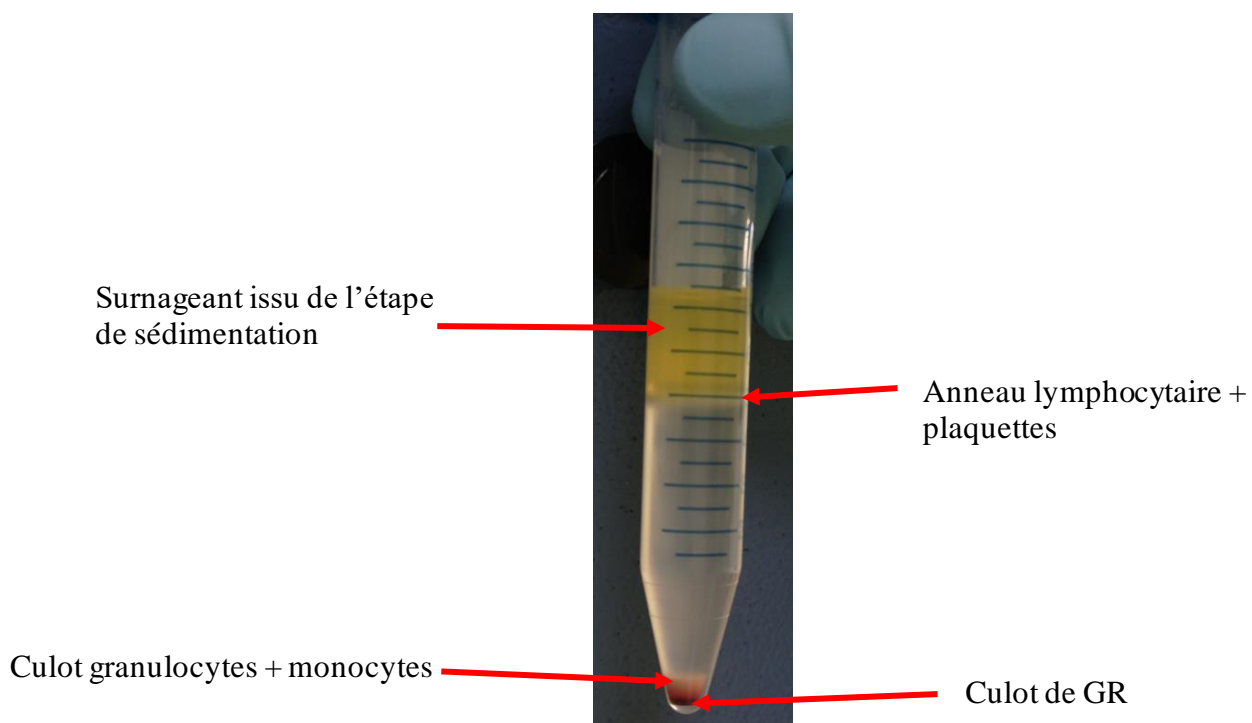


Figure 11 : Eléments figurés du sang à l'issue de l'étape de séparation des lymphocytes.

1.3.8.1.4 Marquage cellulaire

L'HMPAO ou examétazine (CERETEC®) est marqué avec un éluât de TcO_4^- issu d'une élution extemporanée, pour une meilleure stabilité du marquage. Le ^{99m}Tc-HMPAO, très lipophile, traverse la membrane plasmique du granulocyte et se fixe sur les granulations³⁶. Il est transformé en complexe hydrophile par les complexes thiols (SH) comme le glutathion, ce qui l'empêche de sortir de la cellule (Figure 12). Le ^{99m}Tc-

HMPAO marquera toutes les cellules sanguines, de manière non spécifique. Il est donc important de réaliser une séparation lors des différentes étapes afin de marquer les cellules d'intérêt le plus spécifiquement possible.

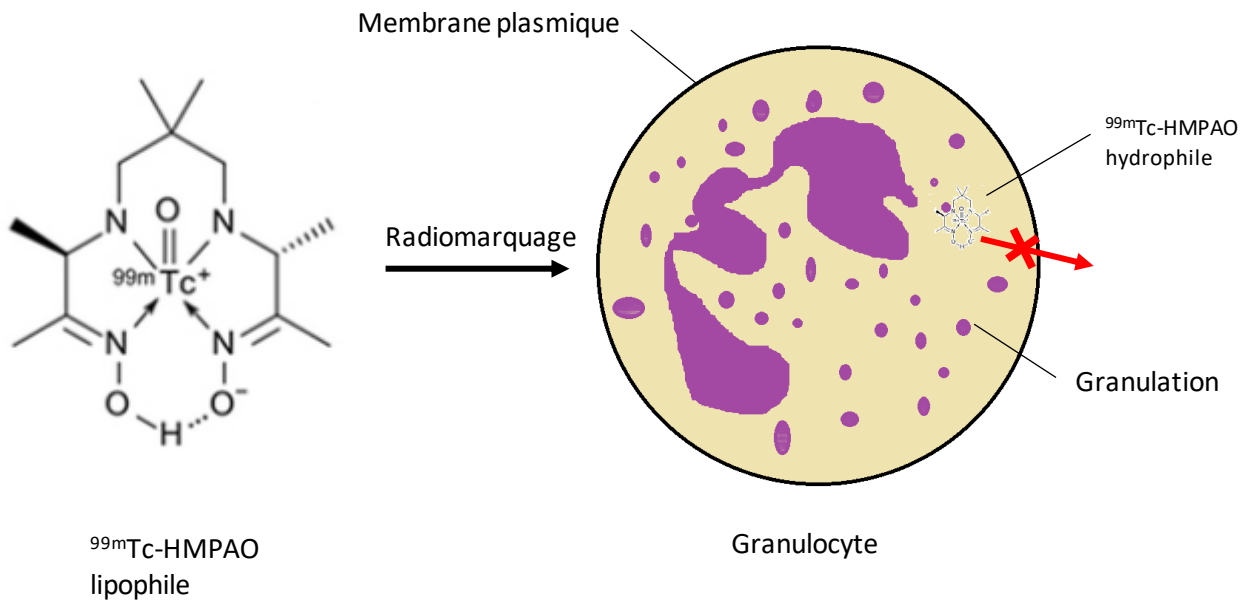


Figure 12 : Mécanisme d'action du ^{99m}Tc -HMPAO sur un granulocyte.

1.3.8.1.5 Réinjection des leucocytes au patient

Les leucocytes marqués sont réinjectés au patient. L'aiguille doit toujours avoir un diamètre intérieur d'au moins 20 gauges et la seringue doit être identifiée au nom du patient³⁰.

1.3.8.1.6 Imageries

Trois imageries seront réalisées pour déterminer le caractère infectieux du site inflammatoire :

- Une acquisition précoce de 30 min après la réinjection : une image statique est acquise au niveau de la zone suspecte. L'acquisition dure environ 3 minutes.
- Une acquisition retardée 4h après la réinjection : une image corps entier est acquise. L'acquisition de l'image dure environ 5 minutes.

- Une acquisition tardive 24h après la réinjection : une image statique est acquise au niveau de la zone à examiner via le couplage de la tomographie et du scanner. L'acquisition de l'image dure environ 40 minutes³⁷.

1.3.8.2 Contrôles qualités

La validation d'une nouvelle procédure de marquage cellulaire de leucocytes nécessite selon les guidelines de l'EANM³⁰ les contrôles suivants :

- Un test de viabilité au bleu trypan : une numération cellulaire en microscopie optique est effectuée sur un échantillon marqué qui est comparé à un échantillon non marqué. Une population de leucocytes morts > 4% ne permettra pas la libération de la seringue voire invalidera la procédure.
- Un test de stérilité : effectué conformément à la méthode décrite dans la dernière version de la Pharmacopée européenne sur un échantillon de la seringue finale.
- Comptage cellulaire : un échantillon est prélevé juste avant le marquage cellulaire. Les cellules de l'échantillon sont comptées soit par cytométrie, soit par un comptage en microscopie optique. Le rapport érythrocytes/leucocytes doit être < 3 et le rapport thrombocytes/leucocytes doit être < 1.
- Mesure de l'efflux cellulaire de ^{99m}Tc-HMPAO.

Contrairement aux tests décrits ci-dessous, ces tests ne sont pas obligatoires en routine³⁰. Les contrôles qualité réalisés à l'issu chaque marquage de leucocytes au Centre Jean-Perrin sont les suivants :

- Après l'isolement des granulocytes, une coloration d'un échantillon au May Grünwald Giemsa est réalisée sur un frottis. Une observation au microscope optique sur plusieurs champs de la lame permet d'apprécier la qualité des cellules marquées.
- Calcul du rendement : avant la mise en seringue, la suspension contenant les granulocytes marqués est centrifugée puis le surnageant obtenu est isolé. Le culot et le surnageant sont mesurés successivement au même activimètre. Les activités obtenues permettent de calculer le rendement de marquage qui nous indique si le marquage a bien fonctionné.

- Avant la dispensation de la seringue, l'absence d'agrégats plaquettaires, de caillots de fibrine et d'autres particules visibles à l'œil nu est vérifiée.

2 ETUDE LEUCOTEK : OPTIMISATION ET EVALUATION DE LA METHODE DE MARQUAGE DES LEUCOCYTES AU ^{99m}Tc-HMPAO

2.1 Introduction à l'étude LEUCOTEK

Le marquage des leucocytes au ^{99m}Tc-Hexaméthyl-propyl-amineoxime (HMPAO) est majoritairement indiqué au Centre Jean-Perrin pour la recherche d'infections ostéoarticulaires. Cet examen est réalisé dans le laboratoire d'hématologie isotopique du centre de médecine nucléaire, environ 3 fois par semaine.

L'étape de sédimentation, précédemment décrite, requiert l'utilisation d'un agent de sédimentation de type hydroxyéthylamidon (HEA)³⁰. A l'issu d'un changement de marché en 2019, le RESTORVOL® utilisé historiquement a été substitué par du Voluven®, tous deux sont des HEA chimiquement très proches³⁸. Toutefois nous avons observé une baisse du volume de surnageant recueilli, de nos rendements de marquages ainsi que de l'activité de nos seringues de leucocytes marqués.

Cette diminution de la qualité de nos marquages ainsi que l'utilisation controversée menant au retrait des HEA³⁹, nous a amené à réfléchir sur une optimisation globale de la qualité de nos marquages en ciblant particulièrement l'étape de sédimentation.

Par ailleurs, préalablement à l'examen, un bilan biologique récent des marqueurs de l'inflammation est demandé afin d'argumenter le diagnostic inflammatoire ou infectieux^{40,41,22} (Annexe III).

Nous pensons que ces marqueurs peuvent nous donner également des informations importantes pour la réalisation du marquage.

Ainsi, nous avons initié une étude appelée Leucotek ayant pour objectif principal d'améliorer la qualité de nos marquages de leucocytes au ^{99m}Tc-HMPAO au Centre Jean-Perrin.

Nous avons voulu dans cette étude identifier les marqueurs ayant un intérêt réel pour la réalisation des marquages et évaluer leur caractère prédictif sur la qualité de ces derniers. Nous avons également voulu confirmer l'hypothèse selon laquelle il existe un lien entre le volume de surnageant recueilli à l'issu de l'étape de sédimentation, et la qualité du marquage. Enfin, nous avons tenté d'évaluer les modifications techniques apportées à notre procédure sur la qualité des marquages.

2.2 Méthodes et analyses

2.2.1 Mise en place de l'étude

2.2.1.1 Traitement des données à caractère personnel

Depuis son entrée en vigueur en 2018, le Règlement Général sur la Protection des données (RGPD)^{42,43} impose aux établissements publics ou privés de respecter un certain nombre d'obligations en terme de sécurisation et de protection des données. Afin de pouvoir exploiter les données des patients inclus dans l'étude, nous avons ainsi dû remplir une cartographie des données à caractère personnel, afin de renseigner ce registre (Annexes VI-VII).

Au titre d'étude monocentrique⁴⁴, non interventionnelle nous avons dû déclarer le projet au Délégué à la Protection des Données (DPO), faire une soumission au Comité d'Ethique du Centre d'Investigation Clinique (CECIC) ainsi que rédiger une notice d'information explicative (Annexe VIII).

2.2.1.2 Notice d'information patient

Sur cette notice d'information patient (Annexe VIII), doit être mentionné entre-autre l'identité et les coordonnées du responsable de l'étude, du DPO, la présentation du projet de recherche, la durée de conservation des données ainsi que leur droit d'accès, de rectification, d'opposition, à l'effacement, à la limitation du traitement. En cas d'opposition, les données recueillies concernant le patient ne peuvent pas être utilisées. Une partie des lettres d'informations a été envoyée aux patients dont les données avaient déjà été recueillies entre le 07 janvier 2020 et le 30 novembre 2021, puis une autre partie a été donnée en main propre avant chaque marquage.

Ce moment a été l'occasion d'informer en temps réel du projet de l'étude mais également de renseigner et de préciser les détails concernant les différentes étapes du marquage ainsi que la chronologie globale de l'examen. Afin de faciliter l'explication, nous avons créé un flyer retraçant ces étapes (Annexe III). Un questionnaire de satisfaction (Annexe V) a été distribué à l'issue de l'entretien afin d'évaluer la qualité.

2.2.2 Variables étudiées

2.2.2.1 Recueil des données biologiques des patients

Du bilan biologique demandé avant chaque examen, nous avons recueilli pour chaque patient : la Vitesse de Sédimentation (VS), la Protéine C réactive (CRP) ainsi que la formule leucocytaire, tous trois élevés en cas de descellement et d'infection¹².

2.2.2.1.1 Vitesse de Sédimentation (VS)

La vitesse de sédimentation (VS) est un marqueur de la réaction inflammatoire en phase aiguë⁴⁵. Les protéines de l'inflammation, notamment le fibrinogène, sont responsables d'une modification de la viscosité plasmatique en neutralisant les charges négatives présentes à la surface des hématies. Ainsi, les hématies ont tendance à s'empiler en "rouleaux " sédimentant plus vite que les hématies isolées^{46,47,48}.

2.2.2.1.2 CRP

La protéine C réactive (CRP) est impliquée dans la réponse immunitaire innée. La phosphocholine lui permet de se fixer aux micro-organismes et aux débris cellulaires, conduisant à l'activation de la phagocytose et du complément. La demi-vie de la CRP étant de 6 heures, son taux se normalise rapidement (< 5mg/l) après l'inflammation. Le dosage de la CRP, au même titre que la VS, est demandé avant chaque marquage de leucocytes dans la plupart des centres⁴⁹.

2.2.2.1.3 Formule leucocytaire

La formule leucocytaire est interprétée en fonction de la variation des différentes populations cellulaires. Par exemple, au cours une infection, nous attendons notamment une augmentation des PNN ainsi que des lymphocytes.

2.2.2.2 Indicateurs de qualité du marquage

Sur l'ensemble des marquages réalisés dans notre cohorte, nous avons recueilli un ensemble de données permettant de rendre compte de leur qualité.

2.2.2.2.1 Rendement de marquage

Lors du marquage au ^{99m}Tc -HMPAO, une partie du MRP ne va pas se fixer sur les PNN. Un pourcentage de l'activité injectée comprenant le ^{99m}Tc -HMPAO et le ^{99m}Tc libre, impureté issue de la préparation du ^{99m}Tc -HMPAO, se trouvera dans le surnageant.

Le calcul du rendement de marquage exprimé en pourcentage de l'activité cellulaire par rapport à l'activité totale des cellules et du surnageant, permet de rendre compte de la proportion de ^{99m}Tc -HMPAO lié aux cellules.

$$\frac{\text{Activité leucocytes}}{\text{Activité leucocytes} + \text{Activité surnageant}} \times 100$$

Il s'agit d'un marqueur de qualité de la technique de marquage. Un rendement entre 40 et 80% doit être attendu³⁰. Tous nos marquages ont été réalisés avec séparation des lymphocytes.

2.2.2.2.2 Activités de la seringue de leucocytes marqués au ^{99m}Tc -HMPAO

L'activité de la seringue de leucocytes marqués au ^{99m}Tc -HMPAO est un indicateur de la qualité du marquage dans le sens où une activité élevée sous-entend que de nombreuses cellules ont été marquées, il ne s'agit cependant pas d'un marqueur spécifique, étant donné qu'aussi bien les leucocytes que les hématies peuvent être marquées au ^{99m}Tc -HMPAO.

Il s'agit d'un indicateur à caractère « quantitatif ».

2.2.2.2.3 Cellules marquées, observées au microscope

La spécificité du marquage au ^{99m}Tc -HMPAO a été évaluée en identifiant puis en quantifiant les cellules présente dans la seringue avant l'injection. Il indique sur l'aspect qualitatif du marquage.

Les différentes numérations cellulaires ont été effectuées en microscopie optique au grossissement x 400 sur des cellules Kova Slide[®]. Ce sont des cellules composées d'une grille de 9 grands carrés eux-mêmes divisés 9 puits. La grille a un volume de 1 μL . Un grand carré a un volume de 0,1 μL et un petit puits a un volume de 0,01 μL .

Nous avons réalisé une dilution au 1/50^e (d) avant de répartir la suspension dans la cupule de comptage. En partant du principe que les cellules sont réparties uniformément dans chaque puits et que la quantité de cellules attendue est moyennement élevée, nous avons réalisé les différentes numérations selon un « parcours » identique sur 36 petits puits (Figure 13). Nous avons donc obtenu une quantité de cellules (n). Pour déterminer la quantité de cellules par litre (N), nous avons utilisé cette formule $N = \frac{n \times 90 \times d \times 10^6}{36 \times 10^9}$ G/L.

Nous avons exprimé la présence de globules rouges dans le surnageant par un ratio du nombre de globules rouges par rapport au nombre total de cellules (ratio H/T).

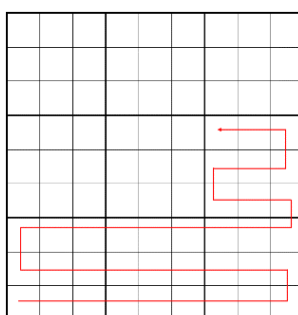


Figure 13 : Schéma de numération cellulaire sur cellule de Kova Slide[®].

2.2.2.3 Volume de surnagent

Le volume de surnagent est le volume recueilli à l'issu de l'étape de sédimentation. Il s'agit de la première étape de séparation permettant de s'affranchir du culot globulaire. Nous avons mesuré ce volume de surnagent sous forme de ratio par rapport au volume

de sang total (Ratio V_s/V_t) afin de s'affranchir au mieux de l'hétérogénéité du volume déposé dans chaque contenant avant sédimentation.

2.2.3 Outils d'optimisation de l'étape de sédimentation

La baisse de la qualité de nos marquages : rendement et activité de seringues de leucocytes marqués suite au changement de marché de l'agent de sédimentation nous a amené à émettre l'hypothèse selon laquelle l'étape de sédimentation est une étape clé dans la réalisation des marquages de qualité. Nous avons ainsi tenté d'optimiser 2 paramètres majeurs influençant la sédimentation : l'agent de sédimentation HEA ainsi que le type de contenant dans lequel le sang total sédimente.

2.2.3.1 Agents de sédimentation

Les agents de sédimentation vont favoriser la formation de rouleaux érythrocytaires, en modifiant les charges à la surface des hématies, les faisant ainsi sédimenter plus rapidement et facilitant ainsi la séparation des GR par rapport aux autres cellules⁵⁰.

Le phénomène de formation de rouleaux avec les HEA étant identique à celui observé à VS élevée⁴⁸, nous avons donc mis en regard la valeur de la VS du patient avec le volume de surnageant obtenu.

Afin de s'affranchir au mieux du volume de l'HEA nous avons comparé le volume de surnageant obtenu entre les différents tubes sous forme de ratio volume de surnageant (V_s) sur volume de sang total (V_t). Nous avons fait sédimenter en parallèle le sang total dans un contenant soit avec le soit du RESTORVOL® (20% du volume total), soit sans agent de sédimentation, pendant 1h, dans une étuve à 37°C.

Nous avons à l'issue de la sédimentation, prélevé un aliquote surnageant pour mesurer la qualité des cellules obtenues.

2.2.3.2 Contenants

Avant l'étude, la sédimentation du sang total du patient était réalisée dans les seringues de 60 mL, les mêmes utilisées lors du prélèvement du patient. Nous avons voulu tester la sédimentation dans des tubes coniques de 50 mL. En effet, la forme conique de ces tubes optimiserait, selon son fabricant, la sédimentation lors d'une centrifugation⁵¹.

Nous avons comparé le volume de surnageant recueilli à l'issue de cette étape entre ces deux contenants avec ce même ratio volume de surnageant (V_s) sur volume de sang total (V_t). Nous avons également comparé la quantité de leucocytes recueillis et le ratio H/T.

2.2.4 Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R[®] version 4.2.0. Le seuil de significativité choisi pour l'ensemble des tests statistiques était de 0,05.

2.2.4.1 Matrice de corrélation

Une matrice de corrélation de Pearson (ρ) a été utilisée pour mettre en évidence les corrélations entre les différentes variables étudiées via un corrélogramme. Il permet de visualiser le degré de corrélation par un code couleur. Cette matrice regroupe les marqueurs de l'inflammation, le ratio V_s/V_t ainsi que les indicateurs de la qualité du marquage : le rendement et l'activité de la seringue (MBq).

2.2.4.2 Interprétation du coefficient de corrélation

Dans notre étude, nous avons discrétisé le degré de corrélation en 4 groupes, selon la valeur absolue du coefficient de Pearson : ρ de 0,1 à 0,3 – corrélation faible, ρ de 0,3 à 0,5 – corrélation modérée, ρ de 0,5 à 0,7 – corrélation modérée à forte, ρ au-delà de 0,7 – corrélation forte.

2.2.4.3 Classes de valeur de Vitesse de Sédimentation

Sur l'ensemble des données patients recueillies, les valeurs de VS ont été discrétisées en classes d'effectifs égaux, par la méthode des quantiles : une VS ≤ 7 mm est considérée comme faible ; une VS comprise entre 8mm et 14mm est considérée comme modérée ; une VS comprise entre 15mm et 26mm est considérée comme modérément élevée ; une VS ≥ 27 mm est considérée comme élevée.

2.2.4.4 Tests de comparaison de moyenne

Les comparaisons des différentes techniques ont été réalisées avec un test de Student bilatéral sur échantillons appariés au risque $\alpha = 5\%$ à l'aide du logiciel R®.

2.3 Résultat et discussion

2.3.1 Analyse descriptive de la cohorte

77 patients dont 47 femmes et 30 hommes ont été inclus dans l'étude Leucotek entre janvier 2020 et Juillet 2021.

53% des patients ont entre 61 et 80 ans, 30% ont entre 41 et 60 ans, 13% ont plus de 80 ans. Enfin, 4% des patients sont âgés de 40 ans ou moins. La moyenne d'âge des femmes est de 69 ± 13 ans. La moyenne d'âge des hommes est de 62 ± 12 ans.

2.3.2 Identification des variables influençant la qualité du marquage

2.3.2.1 Analyse multivariée

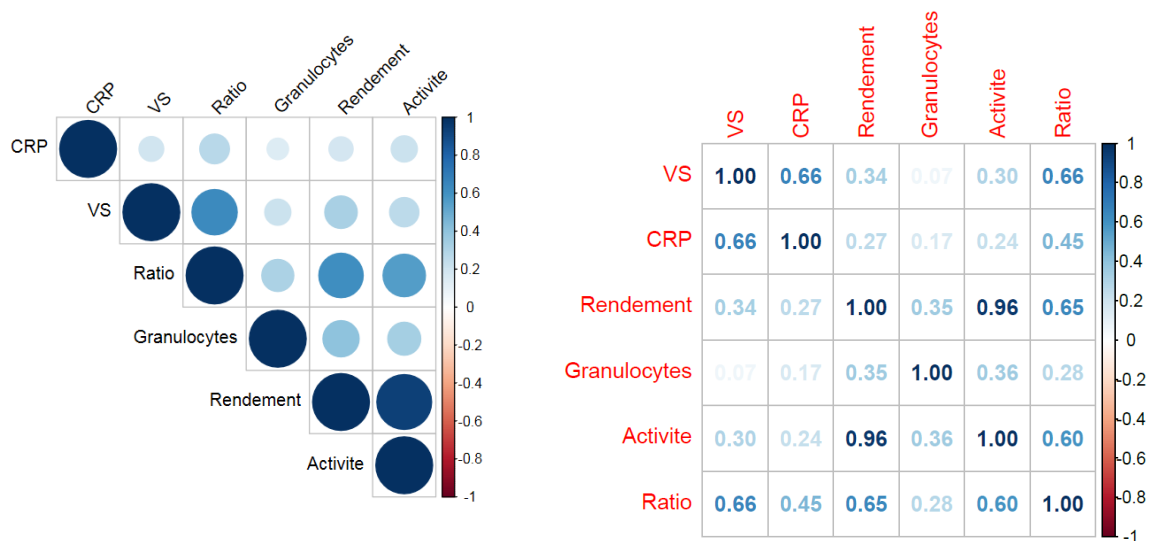


Figure 14 : Corrélogramme entre les marqueurs biologiques et les critères de qualité de marquage.

Le corrélogramme (Figure 14) nous montre que les indicateurs de qualité du marquage, l'activité des seringues (MBq) et le rendement sont fortement corrélés entre eux ($n=77$ $\rho=0,96$).

Concernant les marqueurs de l'inflammation, La CRP est faiblement corrélée au rendement ($n=70$ $\rho=0,27$) ainsi qu'au ratio Vs/Vt ($n=77$ $\rho=0,45$), mais la VS est modérément à fortement corrélée au ratio Vs/Vt ($n=74$ $\rho=0,66$).

Enfin, le ratio Vs/Vt est modérément à fortement corrélé au rendement (n=77 $\rho=0,65$) ainsi qu'à l'activité (n=77 $\rho=0,60$).

La VS apparait comme le marqueur de l'inflammation le plus informatif. Le ratio Vs/Vt est lié à la VS du patient, il convient donc de prendre en compte la valeur de ce marqueur dans l'optimisation de l'étape de sédimentation.

Ceci nous montre que le ratio Vs/Vt, mesuré à l'issue de l'étape de sédimentation apparait comme un indicateur fort de la qualité du marquage. Toute amélioration de ce ratio tendrait à augmenter les chances d'obtenir un bon rendement et une forte activité de la seringue de leucocytes marqués. Ceci nous conforte donc dans l'hypothèse que l'étape de sédimentation est un point clés de la qualité du marquage.

2.3.3 Comparaison des modifications techniques

2.3.3.1 Agent de sédimentation avec, sans

	VS ≤ 7 mm		8 mm ≤ VS ≤ 14 mm		15 mm ≤ VS ≤ 26 mm		VS ≥ 27 mm	
	HEA	SA	HEA	SA	HEA	SA	HEA	SA
Effectif	15	15	9	9	14	14	17	17
Moyenne	0,31	0,23	0,41	0,36	0,47	0,45	0,59	0,54
Ecart-type	0,10	0,07	0,12	0,14	0,09	0,06	0,09	0,07
p-value	0,0024*		0,1731		0,4275		0,0003*	

Tableau II : Comparaison du ratio Vs/Vt entre l'utilisation de RESTORVOL® ou sans agent de sédimentation (SA) en fonction de la VS.

	VS ≤ 7 mm		8 mm ≤ VS ≤ 14 mm		15 mm ≤ VS ≤ 26 mm		VS ≥ 27 mm	
	HEA	SA	HEA	SA	HEA	SA	HEA	SA
Effectif	11	11	6	6	10	10	16	16
Moyenne (Gigas)	0,12	0,11	0,19	0,15	0,17	0,20	0,20	0,22
Écart-type	0,06	0,04	0,128	0,10	0,08	0,08	0,08	0,09
p-value	0,3136		0,1182		0,0998		0,1022	

Tableau III : Comparaison de la quantité de leucocytes en gigas recueillis par tube conique entre l'utilisation et la non utilisation d'agent de sédimentation en fonction de la VS.

	HEA	SA
Effectif	18	18
Moyenne	0,44	0,34
Écart-type	0,13	0,14
p-value	0,0012	

Tableau IV : Comparaison des ratio quantité de globules rouges par rapport à la quantité de cellules totales entre l'utilisation et la non utilisation d'agent de sédimentation.

Le tableau de comparaison (Tableau II) nous montre que le ratio Vs/Vt obtenu en utilisant le RESTORVOL® ou sans agent de sédimentation (SA), est significativement différent pour des VS faibles. Son utilisation permet d'obtenir un meilleur ratio Vs/Vt

pour ces classes de VS (Tableau II). La quantité de leucocytes recueillis dans le surnageant n'est pas significativement différente avec ou sans utilisation de l'HEA, quelle que soit la VS (Tableau III). Néanmoins, le ratio H/T est significativement supérieur avec l'utilisation du RESTORVOL® que sans son utilisation (Tableau IV).

Ainsi, l'utilisation du RESTORVOL® n'apparaît justifiée que pour des valeurs de VS \leq 7 mm. La quantité de globules rouges obtenus dans le surnageant est significativement plus importante en utilisant du RESTORVOL®. Cette quantité de globules rouges peut faussement augmenter les indicateurs de qualité du marquage tels que l'activité de la seringue de leucocytes marqués, ainsi que le rendement du fait de l'action non sélective cellulaire de l'HMPAO. Par ailleurs, la présence de globules rouges marqués dans la seringue, pourrait avoir un impact non négligeable sur la qualité de l'image, et avoir ainsi une influence sur l'interprétation de l'examen. Par ailleurs, des cas d'hypersensibilité peuvent être engendrées avec les HEA⁵².

Par conséquent, ces résultats nous indiquent qu'il conviendrait d'utiliser un agent de sédimentation type HEA, uniquement lorsque la VS du patient est \leq 7 mm.

2.3.3.2 Comparaison des contenants

	Ratio Vs/Vt		Q leucocytes (Gigas)		Ratio H/T	
	Tube conique	Seringue	Tube conique	Seringue	Tube conique	Seringue
Effectif	25	25	9	9	9	9
Moyenne	0,42	0,36	0,49	0,29	0,33	0,46
Ecart-type	0,15	0,16	0,41	0,21	0,12	0,13
p-value	< 0,0001		0,0897		0,0051	

Tableau V : Comparaison des volumes de surnageants, quantités de leucocytes et de leucocytes entre l'utilisation d'une seringue et d'un tube conique.

L'utilisation de tubes coniques nous permet d'obtenir un ratio Vs/Vt significativement supérieur par rapport à la sédimentation dans les seringues de 60 mL (n=25 ; p< 0,0001). La quantité de leucocytes recueillis dans le surnageant n'est pas significativement différent entre les deux contenants (n=9 ; p=0,0897), mais le ratio H/T indique une présence de globules rouges significativement plus importante avec la sédimentation en seringue (n=9 ; p=0,0051) (Tableau V).

Ces résultats nous montrent que l'utilisation de tubes coniques pour l'étape de sédimentation nous permet d'obtenir un surnageant de meilleure qualité, car contenant moins d'hématie. Il conviendrait donc d'utiliser ce type de contenant pour l'étape de sédimentation. A noter qu'en pratique, cela demande de transvaser le sang total des seringues de prélèvements dans les tubes coniques avant la sédimentation, qui par ailleurs doit être réparti dans 2 tubes étant donné leur volume plus petit. Ceci contraint donc à effectuer quelques manipulations supplémentaires.

2.3.4 Entretien avec les patients

En parallèle de l'information éclairée aux patients sur son inclusion dans l'étude Leucotek, nous leur avons expliqué succinctement les différentes étapes de l'examen (Annexe IV). Pour cela nous nous sommes aidés d'un questionnaire nous permettant de regrouper toutes les informations importantes liées au marquage (Annexe IX).

Afin d'adapter notre discours, nous avons demandé au patient s'il avait déjà reçu des informations concernant l'examen (Figure 15). La majorité d'entre eux n'avaient pas été préalablement informés. Parmi les autres, 40% des patients informés avaient reçu un certain nombre d'indications en lisant leur convocation à l'examen. La majorité des patients n'avait pas effectué de recherche personnelle concernant l'examen au préalable. 75% des informations recueillies via une démarche personnelle, provenaient d'internet (Figure 16).

Afin d'améliorer la qualité de notre discours sur les informations transmises au patient, nous leur avons demandé de remplir une enquête de satisfaction anonyme à posteriori de l'entretien (Annexe V).

Sur les 15 enquêtes recueillies, nous avons observé que tous les patients interrogés étaient « très satisfaits », et avaient trouvés cet entretien « très utile ». Les informations fournies étaient « très claires » (Figure 17).

Ces résultats nous montrent la qualité des entretiens réalisés avec le patient. Les patients étant peu informés du déroulement et des aboutissants de l'examen, cet entretien pourrait dissiper leurs doutes et leurs appréhensions sans prolonger la durée de la préparation.

Par ailleurs, les entretiens avec le patient peuvent nous apporter des informations essentielles pour le bon déroulement du marquage cellulaire tels que la prise de médicaments pouvant avoir un impact sur le marquage cellulaire, le recueil des données biologiques non transmise au secrétariat mais également la vérification de l'identité du patient.

Patients déjà informés sur l'examen (n=15)

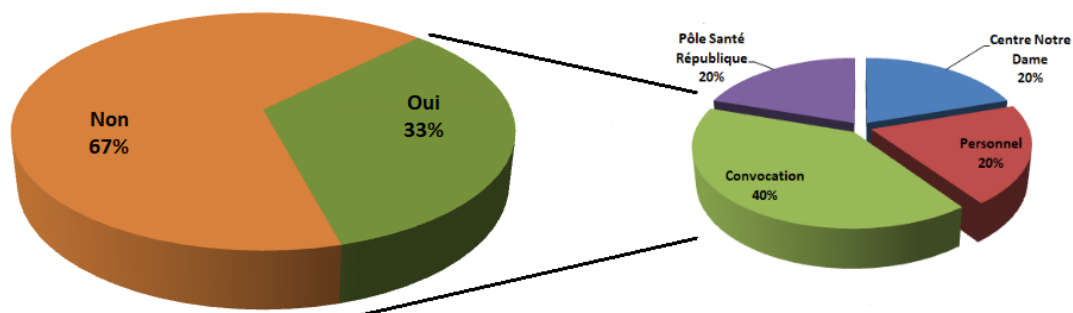


Figure 15 : Evaluation de l'information des patients avant la scintigraphie aux leucocytes marqués au ^{99m}Tc-HMPAO.

Recherche personnelle de l'information (n=15)

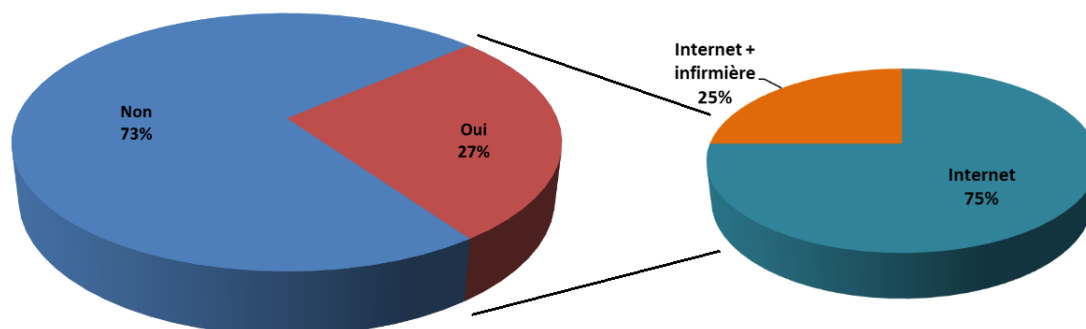


Figure 16 : Evaluation de la recherche personnelle des patients avant la scintigraphie aux leucocytes marqués au ^{99m}Tc-HMPAO.

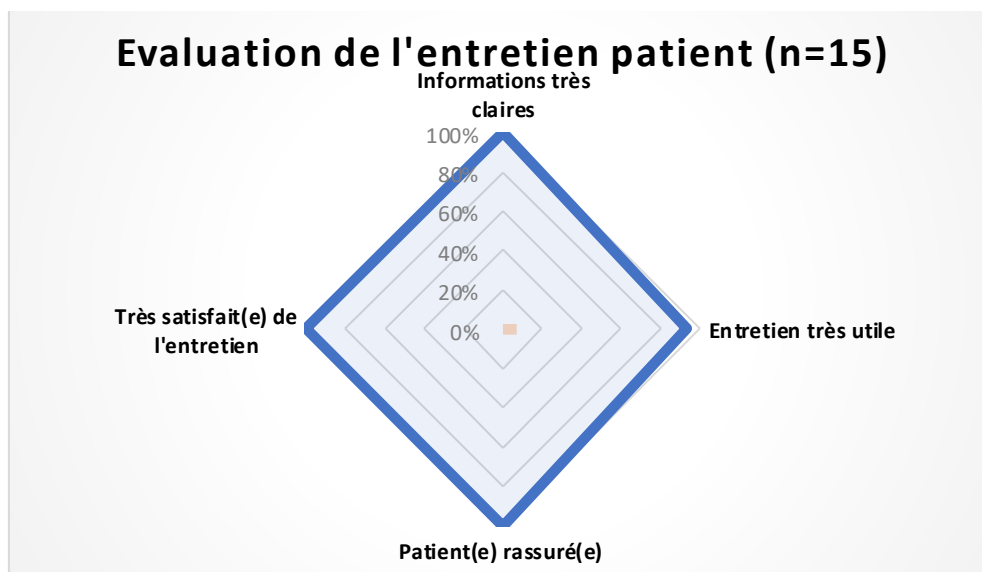


Figure 17 : Evaluation par les patients de leur entretien avant la scintigraphie aux leucocytes marqués au ^{99m}Tc-HMPAO.

2.4 Conclusion

L'étape de sédimentation conditionne la qualité du marquage des leucocytes au ^{99m}Tc -HMPAO. L'ensemble des tests effectués dans cette étude nous montre que pour obtenir un volume de surnageant optimal, la sédimentation doit s'effectuer dans un contenant de type tube conique. L'utilisation du RESTORVOL[®] n'est pas systématiquement nécessaire, et celle-ci doit justement être réservée à des patients présentant une VS faible à modérée, d'une valeur inférieure ou égale à 7 mm. En pratique, nous avons donc modifié notre protocole de marquage des leucocytes au ^{99m}Tc -HMPAO afin d'adapter nos manipulations en fonction de la valeur de ce marqueur. Notre étude a été basée sur le principe que le volume de surnageant par l'intermédiaire du ratio V_s/V_t était un indicateur indirect de la qualité du marquage, car corrélé aux deux indicateurs rendement et activité de la seringue de leucocytes marqués. Pour évaluer l'impact de nos modifications techniques sur la qualité du marquage plus directement, il aurait fallu effectuer à partir du même prélèvement, deux manipulations en parallèle et comparer le rendement, l'activité de la seringue et le ratio H/T. Toutefois, cela demanderait la réalisation d'une nouvelle étude, davantage couteuse en temps et en matériel. La qualité de nos marquages par son aspect quantitatif permettrait probablement d'influencer la sensibilité de l'examen et par caractère qualitatif, en ne marquant principalement les granulocytes en s'affranchissant le plus possible des globules rouges, sa spécificité. A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée afin de relier la qualité du marquage des leucocytes à la qualité des images, ni à mesurer son influence sur l'interprétation de l'examen. Pourtant si nous arrivions en pratique à déterminer des seuils de qualité du marquage cellulaire pour lesquels le résultat de l'examen serait systématiquement négatifs ou douteux, il serait intéressant de pouvoir éviter au patient de subir une injection de cellules marquées et de poursuivre l'examen jusqu'au bout.

3 DISCUSSION ET PERSPECTIVE : INFLUENCE DE LA QUALITE DES MARQUAGES SUR L'INTERPRETATION DE L'IMAGE

L'ensemble des modifications techniques mises en place suite à l'étude Leucotek devraient nous permettre de réaliser des marquages de meilleure qualité donc, avec notamment un rendement et une activité de marquage plus élevées. Cependant tout cela permet-il de contribuer à une meilleure interprétation de l'examen ?

Dans la continuité de notre étude, nous avons voulu, relier certains critères de qualité de marquages, aux résultats de l'interprétations de l'examen pour l'ensemble des patients inclus. L'EANM recommande de dispenser des seringues de leucocytes marqués comprenant une activité allant de 370 à 740 MBq avec un rendement allant de 40 à 80%. Nous avons ainsi sélectionné une médiane d'activité à 400 MBq, cohérent avec notre activité de CERETEC® marqué et une médiane de rendement à 40%. Il s'agit de valeurs seuils au-delà desquelles nous considérons les marquages comme étant de bonne qualité. Nous avons complété notre recueil de donnée en codant comme suivant le résultat de l'examen : L'examen a été considéré comme positif lorsqu'un renforcement de la fixation au cours des différentes images de la scintigraphie aux leucocytes marqués¹², a été notifié par le médecin dans son compte-rendu.

Pour déterminer si l'interprétation de l'image est liée au rendement et/ou à l'activité, nous avons effectué un test paramétrique de Chi² au risque $\alpha = 5\%$ sur 26 patients de l'étude Leucotek. Un certain nombre d'entre eux réalisant leur imagerie dans un autre centre, nous n'avons pas eu accès aux comptes-rendus de l'examen.

Le test du Chi² ne montre pas de dépendance entre le rendement et/ou l'activité avec la positivité de l'imagerie (respectivement $p = 0,7014$ et $p = 0,9491$).

Ces résultats montrent qu'il est difficile de relier directement la qualité des marquages de leucocytes au ^{99m}Tc-HMPAO et l'interprétation de la scintigraphie. Il n'existe d'ailleurs à notre connaissance aucune équipe ayant entrepris d'analyser ce lien dans une étude. Le rendement et l'activité ne semblent pas des critères suffisants pour cela, ces deux indicateurs de qualité du marquage ne sont en effet pas « qualitatifs ». Par exemple, le rendement permet d'apprécier la qualité du marquage sur la proportion d'éléments figurés du sang marqués mais un rendement ou une activité de marquage

élevés peuvent être liés à une quantité de GR ou d'autres cellules sanguines marquée élevées.

Avant d'établir un lien direct entre la qualité du marquage et le résultat de l'imagerie, il conviendrait d'analyser le lien entre la qualité du marquage et la qualité de l'image obtenu, avec des indicateurs qualité qui soient qualitatifs. La détermination de la proportion de leucocytes marqués ou le test de leur viabilité, pourraient être davantage informatif sur la qualité des images et donc intéressante lors de l'interprétation. L'EANM propose d'ailleurs d'effectuer des contrôles qualité complémentaires in vivo. Un test dit de « transit pulmonaire », permet de tester cette bonne viabilité des leucocytes marqués⁵². Ce test peut être complété par le rapport foie/rate permettant de quantifier d'éventuels dommages cellulaires. Il faudrait également pouvoir mesurer à l'image la proportion de globules rouges marqués. En cas de marquage de globules rouges en proportion trop importante, pourrait-on observer, voire mesurer un bruit de fond à l'image ? Ce bruit de fond pourrait-il diminuer la sensibilité de l'examen ?

Au-delà d'une simple corrélation, le lien entre la qualité du marquage et le l'image pourrait avoir un intérêt pratique en cas de doute sur un contrôle, pour alerter le médecin sur des précautions à prendre lors de l'interprétation. A l'inverse, le médecin pourrait se rapprocher du radiopharmacien pour savoir s'il n'y a pas eu de particularités lors du marquage, en cas d'image douteuse.

Des études complémentaires doivent être réalisées afin d'illustrer au mieux les conséquences à l'image d'un marquage non conforme, regroupant ainsi chaque situation. L'ensemble des données à recueillir mériterait la mise en place d'une nouvelle étude qui pourrait, au vu du nombre de données à recueillir, nécessiter l'implication de plusieurs centres.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ « L'histoire de la radioactivité », Drupal, consulté le 16 septembre 2022, <https://www.andra.fr>.
- ² CEA, « Les 4 interactions fondamentales », Articles & Dossiers:L'essentiel sur, CEA/Découvrir & Comprendre (CEA, 19 juillet 2018), <https://www.cea.fr>.
- ³ « Radioactivité - Vallée de stabilité », consulté le 9 septembre 2022, <http://res-nlp.univ-lemans.fr>.
- ⁴ « Les concepts de dose », consulté le 19 septembre 2022, <https://www.irsn.fr>.
- ⁵ « L'exposition aux rayonnements ionisants », consulté le 10 mars 2022, <https://www.irsn.fr>.
- ⁶ « Les différents rayonnements ionisants : alpha, beta, gamma... », consulté le 22 septembre 2022, <https://www.irsn.fr>.
- ⁷ C. Heimburger et al., « Évaluation de critères d'interprétation de la tomoscintigraphie d'émission monophotonique au ^{99m}Tc-HMDP pour le diagnostic des complications tardives des arthrodeses rachidiennes », *Médecine Nucléaire* 39, no 2 (avril 2015): 105-21, <https://doi.org/10.1016/j.mednuc.2015.02.008>.
- ⁸ Louis Sibille et al., « La médecine nucléaire », *L'actualité chimique*, no 352 (mai 2011): 16-21.
- ⁹ Society of Nuclear Medicine, « Nuclear Medicine Pioneer, Hal O. Anger, 1920–2005 », *Journal of Nuclear Medicine Technology* 33, no 4 (1 décembre 2005): 250-53, <https://tech.snmjournals.org>.
- ¹⁰ A.DUBOIS, Principe d'acquisition d'une image à l'aide d'une gamma-caméra, janvier 2021, Cours de physique nucléaire, janvier 2021.

- ¹¹ H.NICOLAS, « Prise en charge du cancer de la prostate en Médecine Nucléaire : du diagnostic à la thérapie » (Clermont-Ferrand, s. d.).
- ¹² Morel et al., « Évaluation de la valeur prédictive positive de la scintigraphie aux leucocytes marqués dans le diagnostic d'infections ostéo-articulaires », Médecine Nucléaire 39, no 2 (avril 2015): 122-30,
<https://doi.org/10.1016/j.mednuc.2014.10.002>.
- ¹³ « IV. REALISATION DU TRAITEMENT - Page 5 », consulté le 10 mars 2022,
<https://www.sfmn.org>.
- ¹⁴ « Article - LOI no 92-1279 du 8 décembre 1992 modifiant le livre V du code de la santé publique et relative à la pharmacie et au médicament (1) - Légifrance », consulté le 7 avril 2022, <https://www.legifrance.gouv.fr>.
- ¹⁵ « Section 1 : Pharmacies à usage intérieur des établissements de santé autres que les structures d'hospitalisation à domicile, des établissements médico-sociaux, des syndicats interhospitaliers et des établissements pénitentiaires (Articles R5104-8 à R5104-56) - Légifrance », consulté le 7 avril 2022,
<https://www.legifrance.gouv.fr>.
- ¹⁶ « Article L4211-1 - Code de la santé publique - Légifrance », consulté le 19 avril 2022, <https://www.legifrance.gouv.fr>.
- ¹⁷ « Radiopharmacien - Les pharmaciens - Ordre National des Pharmaciens », consulté le 15 février 2022, <http://www.ordre.pharmacien.fr>.
- ¹⁸ Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, « Bonnes pratiques de préparation », septembre 2022, chap. 4.34.
- ¹⁹ Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, chap. LD1.18.

- ²⁰ ANSM, « Ligne directrice 4 », in Enquête Publique pour les Bonnes pratiques de préparation, 2022.
- ²¹ Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, « Bonnes pratiques de préparation », chap. LD1.
- ²² International Atomic Energy Agency, « Radiolabelled Autologous Cells: Methods and Standardization for Clinical Use », IAEA Human Health Series, 5 (janvier 2015).
- ²³ Annaelle Soubieux, « Évaluation économique de l'utilisation des systèmes clos de transfert de médicament lors de la préparation et l'administration des médicaments dangereux par voie parentérale au sein d'un établissement de santé » (2019), Sciences pharmaceutiques.
- ²⁴ Fabien LINDENBERG et al., Sécurisation de la préparation et administration du méthotrexate dans les grossesses extra utérines, 2017, 2017.
- ²⁵ Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, « Bonnes pratiques de préparation », septembre 2022, chap. 3.
- ²⁶ J. Poitou et al., « La cellule sanguine marquée par un radionucléide : recherche d'une qualification juridique », Annales Pharmaceutiques Françaises 78, no 1 (janvier 2020): 49-57, <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2019.09.001>.
- ²⁷ « Article L5121-1 - Code de la santé publique - Légifrance », consulté le 6 juin 2022, <https://www.legifrance.gouv.fr>.
- ²⁸ J Gibson et al., « ⁹⁹Tcm-HMPAO Leucocytes Labelling in Orofacial Granulomatosis and Gastrointestinal Crohn's Disease in Childhood and Early Adulthood »:, Nuclear Medicine Communications 21, no 2 (février 2000): 155-58, <https://doi.org/10.1097/00006231-200002000-00006>.

- ²⁹ M H Giaffer et al., « Quantification of Disease Activity in Crohn's Disease by Computer Analysis of Tc-99m Hexamethyl Propylene Amine Oxime (HMPAO) Labelled Leucocytes Images. », *Gut* 34, no 1 (1 janvier 1993): 68-74, <https://doi.org/10.1136/gut.34.1.68>.
- ³⁰ Erik F.J. de Vries et al., « Guidelines for the labelling of leucocytes with 99mTc-HMPAO », *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 37 (3 mars 2010): 842-48, <https://doi.org/10.1007/s00259-010-1394-4>.
- ³¹ S. Auletta et al., « Labelling and Clinical Performance of Human Leukocytes Labelled with 99m Tc-HMPAO Using Leukokit® with Gelofusine versus Leukokit® with HES as Sedimentation Agent », *Contrast Media & Molecular Imaging* 2019 (25 mars 2019): 1-8, <https://doi.org/10.1155/2019/4368342>.
- ³² C. Piera et al., « Método rápido de marcaje de leucocitos con 99mTc HM-PAO », *Revista Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular* 21, no 5 (1 septembre 2002): 343-48, <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-medicina-nuclear-e-125-articulo-metodo-rapido-marcaje-leucocitos-con-13035990>.
- ³³ Ch. Müller et al., « In Vivo Tracing of Indium-111Oxine-Labeled Human Peripheral Blood Mononuclear Cells in Patients with Lymphatic Malignancies », *J Nucl Med*, 30, no 6 (juin 1989): 1005-11.
- ³⁴ « Isolement des cellules mononucléées: les pièges à éviter - Lymphobank », consulté le 30 août 2022, <https://www.lymphobank.fr>.
- ³⁵ Ruslan Medzhitov, « Origin and physiological roles of inflammation », *Nature* 454 (24 juin 2008): 428-35.
- ³⁶ Lena Moberg, Malgorzata Karawajczyk, et Per Venge, « 99m Tc-HMPAO (Ceretec) Is Stored in and Released from the Granules of Eosinophil Granulocytes: Ceretec and Eosinophils », *British Journal of Haematology* 114, no 1 (juillet 2001): 185-90, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2001.02889.x>.

- ³⁷ Paola A. Erba et al., « Image Acquisition and Interpretation Criteria for ^{99m}Tc-HMPAO-Labelled White Blood Cell Scintigraphy: Results of a Multicentre Study », *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 41, no 4 (avril 2014): 615-23, <https://doi.org/10.1007/s00259-013-2631-4>.
- ³⁸ F. Wierre et al., « Les hydroxyéthylamidons », *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 29, no 7-8 (juillet 2010): 543-51, <https://doi.org/10.1016/j.annfar.2010.05.029>.
- ³⁹ Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, « Spécialités à base d'hydroxyéthylamidon (HEA) : suspension des autorisations de mise sur le marché (AMM) », septembre 2022.
- ⁴⁰ W. Becker et al., « ¹¹¹In-Oxine-Labelled White Blood Cells in the Diagnosis and Follow-up of Crohn's Disease », *Klinische Wochenschrift* 64, no 3 (février 1986): 141-48, <https://doi.org/10.1007/BF01732640>.
- ⁴¹ Luciene G Mota et al., « Leukocyte-technetium-99m uptake in Crohn's disease: Does it show subclinical disease? », *World Journal of Gastroenterology : WJG* 16, no 3 (21 janvier 2010): 365-71, <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i3.365>.
- ⁴² « Règlement (UE) 2016/679 du Parlement européen et du Conseil du 27 avril 2016 relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données, et abrogeant la directive 95/46/CE (règlement général sur la protection des données) (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE) », 119 OJ L § (2016), <http://data.europa.eu>.
- ⁴³ « CHAPITRE IV - Responsable du traitement et sous-traitant | CNIL », consulté le 31 août 2022, <https://www.cnil.fr>.
- ⁴⁴ « Délibération n° 2018-153 du 3 mai 2018 portant homologation d'une méthodologie de référence relative aux traitements de données à caractère personnel mis en œuvre dans le cadre des recherches dans le domaine de la

santé avec recueil du consentement de la personne concernée (MR-001) et abrogeant la délibération n° 2016-262 du 21 juillet 2016 - Légifrance », consulté le 31 août 2022, <https://www.legifrance.gouv.fr>.

⁴⁵ Michael Harrison, « Abnormal laboratory results: Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein », *Australian Prescriber* 38, no 3 (1 juin 2015): 93-94, <https://doi.org/10.18773/austprescr.2015.034>.

⁴⁶ Jj Dubost et al., « De la vitesse de sédimentation au profil inflammatoire », *La Revue de Médecine Interne* 15, no 11 (janvier 1994): 727-33, [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(05\)81398-0](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(05)81398-0).

⁴⁷ « Cours », consulté le 15 juillet 2022, <http://campus.cerimes.fr>.

⁴⁸ Pascale Anderson, « La vitesse de sédimentation » (Grenoble, Faculté de Médecine, 1990).

⁴⁹ Be Seen, « Nucléanord Dunkerque - Centre de médecine nucléaire », consulté le 31 août 2022, <http://www.nucleanord.fr/informations-scintigraphie-aux-leucocytes-marquees-2.html>.

⁵⁰ Ingebrigt Talstad, « THE MECHANISM OF THE ERYTHROCYTE SEDIMENTATION RATE (ESR) », *Acta Medica Scandinavica* 190, no 1-6 (24 avril 2009): 11-16, <https://doi.org/10.1111/j.0954-6820.1971.tb07388.x>.

⁵¹ Corning Incorporated, « Reference, Customer Technical Data Sheet - Conical Centrifuge Tubes, 50 mL PP w/cap », s. d.

⁵² Neda Farahi et al., « Radiolabelled Leucocytes in Human Pulmonary Disease », *British Medical Bulletin* 127, no 1 (1 septembre 2018): 69-82, <https://doi.org/10.1093/bmb/ldy022>.

⁵³ Leszek Królicki et al., « Dose escalation study of targeted alpha therapy with [225Ac]Ac-DOTA-substance P in recurrence glioblastoma – safety and efficacy »,

European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 48, no 11 (2021): 3595-3605, <https://doi.org/10.1007/s00259-021-05350-y>.

⁵⁴ « Médicament XOFIGO 1 100KBQ/ML SOL IV FL 6ML 1 - Infos médicaments », consulté le 10 mars 2022, <https://www.bcbdexther.fr>

Annexe I : Utilisation des principaux radionucléides en médecine nucléaire chez l'adulte

Radionucléide	Type d'émission	Utilisation(s)	Exemple(s) d'Indication	Posologie (par administration)
^{99m}Tc	γ	Diagnostique	Oncologie, cardiologie, poumon, os (Exemple : ^{99m}Tc -MDP : scintigraphie osseuse)	En fonction du vecteur utilisé : ^{99m}Tc -MDP : 10 MBq/kg
^{68}Ga	β^+	Diagnostique	Oncologie (Prostate, Tumeurs neuro-endocrines)	De 1,5 à 2 MBq/kg
^{131}I	β^-	Diagnostique	Scintigraphie pré-thérapeutique	< 40 MBq
		Thérapeutique	Elimination du résidu thyroïdien après thyroïdectomie Traitement des hyperthyroïdies, carcinomes thyroïdiens	De 1,1 à 3,7 GBq De 3,7 à 7,4 GBq
^{18}F	β^+	Diagnostique	Oncologie, Cardiologie, Neurologie	100 à 400 MBq
^{125}I	γ	Diagnostique	Détermination du volume plasmatique en hématologie isotopique	
^{177}Lu	β^-	Thérapeutique	Tumeur prostatique métastatique résistante à la castration	7,4 GBq
^{225}Ac	α	Thérapeutique	Oncologie (Glioblastome, Tumeur prostatique métastatique résistante à la castration)	10 à 30 MBq ⁵³
^{223}Rd	α	Thérapeutique	Oncologie (Tumeur prostatique métastatique résistante à la castration)	55kBq/kg ⁵⁴

Annexe II : Définition des classes de ZAC selon la norme ISO

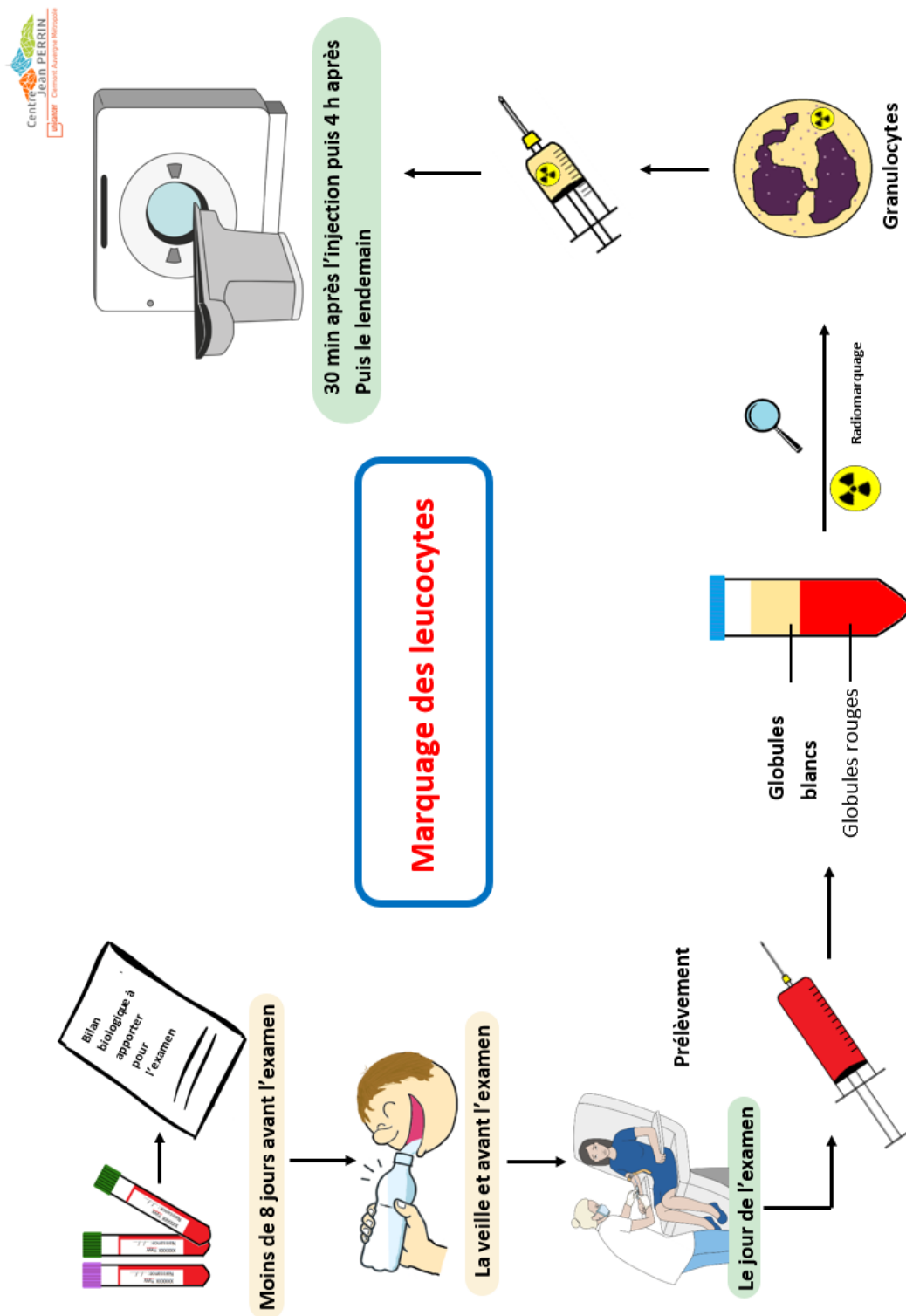
Classe	Au repos		En activité	
	Nombre maximal autorisé de particules par m ³ , de taille égale ou supérieure à			
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3 520	20	3 520	20
B	3 520	29	352 000	2 900
C	352 000	2 900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29 000	Non défini	Non défini

Les indications données concernant le nombre maximal de particules au repos correspondent approximativement aux classifications de l'ISO : classes A : ISO 5, B : ISO 5, Classe C : ISO 7 (au repos) et ISO 8 (en activité), classe D : ISO 8.

Limites recommandées de contamination microbiologique

Classe	Echantillon d'air	Boîtes Pétri (Ø 90 mm)	de Géloses contact (Ø 55 mm)	Empreintes de gant (5 doigts)
	UFC/m ³	UFC/4 heures	UFC/plaque	UFC/gant
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	Non défini
D	200	100	50	Non défini

Annexe IV : Schéma d'aide à l'explication du déroulement du marquage des leucocytes au ^{99m}Tc -HMPAO



Ce document est la propriété du Centre Jean Perrin, il ne peut être reproduit sans son autorisation expresse.

Annexe V : Questionnaire de satisfaction de l'entretien avec le patient

Questionnaire de satisfaction
Entretien sur la scintigraphie aux leucocytes marqués

1) Aviez-vous déjà eu des informations concernant l'examen pratiqué ce jour ?

Oui

Non

Si oui, par quel biais ?

2) Vous êtes-vous renseigné(e) vous-même sur l'examen pratiqué ce jour ?

Oui

Non

Si oui, par quel biais ?

3) Les informations communiquées sont-elles suffisamment claires ?

Pas du tout



Un peu



Très claires



4) Pensez-vous que cet entretien vous a été utile pour comprendre l'examen ?

Pas du tout



Un peu



Très utile



Si non, quelle(s) information(s) auriez-vous aimé recevoir ?

5) Suite à notre entretien, vous sentez-vous rassuré(e) par rapport à l'examen du jour ?

Pas du tout



Légèrement



Rassuré(e)



6) Globalement, êtes-vous satisfait(e) de cet entretien ?

Pas du tout



Oui mais...



Très satisfait(e)



Remarques :

Annexe VI : Autorisation du patient à son inclusion dans l'étude Leucotek



J'ACCEPTÉ l'utilisation de mes données

RECUEIL de consentement : utilisation de données administratives et médicales, ainsi que de prélèvements à des fins de recherches ultérieures et à des fins d'enseignement

A REMETTRE A L'ACCUEIL/ AU SECRETARIAT DU SERVICE

ETIQUETTE PATIENT CODE BARRE

Je soussigné (e) NOM :

PRENOM :

Date de naissance :

J'ai bien compris ce qui m'a été exposé sur l'utilisation à des fins de recherches et d'enseignement des données administratives et médicales et des échantillons biologiques me concernant.

Considérant disposer des informations qui me permettent de prendre ma décision,

- J'accepte le stockage et l'utilisation de mes échantillons biologiques ainsi que de mes données administratives et médicales associées dans le cadre de programmes de recherche ou à des fins d'enseignement

J'ai bien conscience que je peux changer ma décision à tout moment sans conséquence aucune pour mon suivi médical.

Fait à Clermont-Ferrand en un exemplaire, le

Signature :

Annexe VII : Refus d'inclusion du patient à l'étude Leucotek



JE REFUSE l'utilisation de mes données

REFUS de consentement : utilisation de données administratives et médicales, ainsi que de prélèvements à des fins de recherches ultérieures et à des fins d'enseignement

A REMETTRE A L'ACCUEIL/ AU SECRETARIAT DU SERVICE

ETIQUETTE PATIENT CODE BARRE

Je soussigné (e) **NOM :**

PRENOM :

Date de naissance :

J'ai bien compris ce qui m'a été exposé sur l'utilisation à des fins de recherches et d'enseignement des données administratives et médicales et des échantillons biologiques me concernant.

Considérant disposer des informations qui me permettent de prendre ma décision,

- Je refuse le stockage et l'utilisation de mes échantillons biologiques ainsi que de mes données administratives et médicales associées dans le cadre de programmes de recherche ou à des fins d'enseignement

J'ai bien conscience que je peux changer ma décision à tout moment sans conséquence aucune pour mon suivi médical.

Fait à Clermont-Ferrand en un exemplaire, le

Signature :



Note d'information destinée aux patients. Utilisation de données administratives et médicales, ainsi que de prélèvements à des fins de recherches ultérieures et à des fins d'enseignement

Le centre Jean Perrin exerce des missions de soins, de recherche et d'enseignement

Madame, Monsieur,

Dans le cadre de ses missions de soin, de recherche et d'enseignement, le Centre Jean Perrin participe légitimement à des recherches scientifiques dans un but d'amélioration de la prévention, du dépistage et du soin, dans l'intérêt public dans le domaine de santé.

Dans le cadre de votre prise en charge au Centre Jean Perrin, des données **administratives et médicales** (données clinico-biologiques) seront collectées et enregistrées dans votre dossier médical.

De même, des **échantillons biologiques** (ou prélèvements) sont susceptibles d'être prélevés à des fins diagnostiques, de surveillance ou de traitement de votre affection.

L'analyse des informations vous concernant (données administratives et médicales et échantillons biologiques), c'est-à-dire vos **données personnelles**, dans le cadre d'études scientifiques, peut faire progresser les connaissances dans les causes de votre affection, leur diagnostic, leurs modalités de surveillance et de traitement.

Protection de vos données personnelles

Par conséquent, **avec votre accord**, les données administratives et médicales collectées et générées, ainsi que les échantillons biologiques collectés, lors de votre prise en charge ou de votre suivi sont susceptibles d'être utilisés afin de mener des recherches sur les pathologies prises en charge au Centre avec des objectifs de santé, d'études épidémiologiques, de description de stratégies thérapeutiques, d'évaluations médico-économiques, pour améliorer l'accès aux thérapies et à des fins d'enseignement.

Avec votre accord, le Centre Jean Perrin est susceptible d'utiliser certaines de vos données personnelles pour faire progresser la recherche ou à des fins d'enseignement.

Pour vous permettre de connaître pour quels autres projets menés dans le domaine de la santé vos données sont utilisées, UNICANCER met à votre disposition un site internet d'information : **<http://mesdonnees.unicancer.fr/>**

Cette notice d'information vise à vous informer de la manière dont vos données seront utilisées et vous aviser de vos droits concernant le traitement de vos données.

En tant que responsable du traitement de vos données personnelles, le Centre Jean Perrin s'engage à prendre toutes les mesures nécessaires pour garantir leur sécurité et leur confidentialité.

Le traitement de vos données repose sur l'intérêt légitime du Centre Jean Perrin, en tant que Centre de Recherche, à mieux comprendre les mécanismes de certaines pathologies afin de mieux les prévenir et mieux les soigner.

Note d'information destinée aux patients. Utilisation de données administratives et médicales, ainsi que de prélèvements à des fins de recherches ultérieures et à des fins d'enseignement

L'accès aux informations permettant de vous identifier est strictement réservé à l'équipe médicale vous prenant en charge. L'accès à vos données, dans le cadre de recherches, est autorisé aux personnes mandatées par le Centre Jean Perrin et habilitées en raison de leurs fonctions. Ces personnes sont tenues à une obligation de confidentialité.

Lorsqu'elles seront utilisées pour des recherches ou à des fins d'enseignement, vos données (données administratives et médicales et une partie de vos échantillons biologiques) seront utilisées de manière confidentielle et dans le respect de la réglementation en vigueur, notamment le Règlement (UE) n°2016/679 relatif à la protection des données personnelles (RGPD) et la Loi n°78-17 du 6 janvier 1978 dite « Loi Informatique et Libertés » modifiée.

Conformément à l'article 16-1 et 16-6 du Code Civil, ces **échantillons biologiques** ne pourront être cédés à titre commercial, ni donner lieu à une rémunération à votre bénéfice.

Si vous donnez votre approbation pour les recherches sur vos **échantillons biologiques**, ceux-ci seront conservés, **pour une durée minimale de 10 ans ou**, sauf opposition de votre part, **tant que l'échantillon conservera un intérêt pour la recherche.**

Vos données sont systématiquement pseudonymisées - c'est-à-dire qu'elles ne font plus apparaître votre identité - en amont de leur utilisation par toutes autres personnes que l'équipe médicale vous prenant en charge.

Après pseudonymisation, vos données (données **administratives et médicales** et une partie de vos **échantillons biologiques**) sont susceptibles d'être transmises aux partenaires industriels, hospitaliers et académiques du Centre Jean Perrin, ainsi que, le cas échéant, à certaines autorités publiques.

Vos données peuvent également être transférées en dehors de la France, y compris vers des pays non-européens. Le Centre Jean Perrin s'assure systématiquement, que tout tiers ayant accès aux informations vous concernant, présente des garanties suffisantes préalablement au partage de vos informations.

En garantissant préalablement votre anonymat, les résultats des futures recherches peuvent également être communiqués à la communauté scientifique lors de séminaires, de congrès ou publiés dans la presse scientifique.

Concernant vos droits

Vous pouvez demander à avoir accès, à obtenir une copie, à faire rectifier, à faire procéder à l'effacement, à vous opposer et/ou à la limitation du traitement de vos données personnelles.

Vous pouvez faire valoir vos droits à tout moment sans avoir à vous justifier ni sans que cela n'ait de conséquence sur la suite et la qualité de votre prise en charge.

Vous pouvez exercer vos droits en vous adressant au **Délégué à la Protection des Données** du Centre Jean Perrin en envoyant une lettre recommandée datée et signée avec une copie d'un justificatif d'identité valide :

Centre Jean Perrin

Note d'information destinée aux patients. Utilisation de données administratives et médicales, ainsi que de prélèvements à des fins de recherches ultérieures et à des fins d'enseignement

Mme Catherine ABRIAL
58, rue Montalembert
63011 Clermont-Ferrand
par e-mail : dpo@clermont.unicancer.fr

Si malgré l'engagement du Centre Jean Perrin à respecter vos droits et à protéger les données vous concernant, vous restez insatisfait, il vous serait également possible d'effectuer une réclamation auprès la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL).

(<https://www.cnil.fr/fr/notifier-une-violation-de-donnees-personnelles>)

Vous pouvez également accéder à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L.1111-7 du Code de la Santé Publique.

Ces droits s'exercent auprès du médecin qui vous suit dans le cadre votre prise en charge.

Conservation de vos données

Le Centre Jean Perrin conservera vos données, utilisées dans le cadre de recherche, tant qu'elles présenteront un intérêt pour la recherche.

Vous pouvez changer d'avis

Quelle que soit votre décision, vous pourrez revenir sur celle-ci. Vous pouvez à tout moment décider de retirer votre autorisation à l'utilisation de vos **données administratives et médicales** ou de vos **échantillons biologiques**. Vous n'avez pas à en indiquer les raisons. Cette décision serait sans conséquence sur les relations que vous avez avec l'équipe soignante.

Il vous suffit de vous adresser au **Délégué à la Protection des Données** du Centre Jean Perrin en envoyant une lettre recommandée datée et signée avec une copie d'un justificatif d'identité valide :

Centre Jean Perrin
Mme Catherine ABRIAL
58, rue Montalembert
63011 Clermont-Ferrand
par e-mail : dpo@clermont.unicancer.fr

Dans ce cas, les données clinico-biologiques et les échantillons biologiques collectés dans le cadre du soin seront conservés dans le cadre de votre prise en charge. Les données clinico-biologiques collectées dans le cadre de la recherche seront effacées et les échantillons biologiques prélevés dans le cadre de la recherche seront détruits.

Annexe IX : Interrogatoire utilisé pour l'entretien patient

Leucocytes : Interrogatoire patient		
Rédaction :	Validation :	Date de mise en service :
Cédric BRENTOT	Marion TEMPIER Alban REVY	/02/2021

Interrogatoire réalisé le : / /

A- Données patient :

Nom: Taille : cm Prénom : Poids : kg Age:

Date du dernier bilan bio : Nom du laboratoire ayant effectué cette analyse :
 Leuco : G/L PNN : G/L PNE : G/L
 PNB : G/L Monocytes : G/L VS : mm
 CRP : mg/L Clairance rénale : mL/min/1,73m²

1. Suivez-vous un traitement ? OUI NON
 Si oui, lequel?

Médicament	Posologie	Début du traitement	Fin du traitement

- 2- Avez-vous eu récemment un traitement antibiotique ? OUI NON
 Si oui, quand ? Arrêt ?
 3- Avez-vous eu récemment un traitement de corticoïdes ? OUI NON
 Si oui, quand ?
 4- Pratiquez-vous l'automédication ? OUI NON
 Si oui, quel médicament prenez-vous ?
 5- Avez-vous bu au moins 1,5 L d'eau hier ? OUI NON

B- De quand date votre scintigraphie osseuse ?

- 6- Avez-vous eu d'autres examens de médecine nucléaire ? : OUI NON
 Si oui, pour quel type d'exploration ?

C- Avez-vous eu récemment une intervention chirurgicale ? OUI NON

Si oui, quand ?

- 7- A quelle date a été posée votre prothèse ? / /
 Avez-vous subi d'autres interventions chirurgicales en rapport avec votre prothèse ? OUI NON
 Date des interventions :

D- Autres remarques pertinentes

Dans le but d'optimiser notre technique de radiomarquage des leucocytes, consentez-vous à l'utilisation de vos données biologiques ainsi que votre traitement médicamenteux à titre anonyme ? OUI NON

Résumé :

Le marquage des leucocytes au ^{99m}Tc -Hexaméthyl-propyl-amineoxime (HMPAO) est majoritairement indiqué au Centre Jean Perrin pour la recherche d'infections ostéoarticulaires. Dans l'objectif d'améliorer la qualité globale de ces marquages, nous avons mis en place une étude appelée Leucotek. Ce travail nous a permis de recueillir et d'analyser les données issues de 77 marquages de leucocytes. Les résultats nous ont permis d'identifier et d'évaluer le caractère prédictif des marqueurs de l'inflammation sur la qualité des marquages et de souligner l'importance de l'étape de sédimentation. Une optimisation de cette étape, en travaillant sur les contenants utilisés et l'utilisation d'agents de sédimentation, a ainsi pu être réalisée et évaluée. En pratique, nous avons donc modifié notre procédure de marquage des leucocytes au ^{99m}Tc -HMPAO afin d'adapter nos manipulations en fonction de la vitesse de sédimentation. L'influence de la qualité du marquage sur l'interprétation de l'examen n'ayant pas pu être mise en évidence, des projets sont en cours pour permettre de relier la qualité de marquage des leucocytes à la qualité des images obtenues à l'issue de l'examen.

Mot-clés :

- | | |
|----------------------------|------------------------------|
| - Marquage des leucocytes | - Radiopharmacie |
| - ^{99m}Tc -HMPAO | - Sédimentation |
| - Scintigraphie | - Infection ostéoarticulaire |