

Différentes modalités de mobilisation et influence sur la collecte de cellules souhaitées (CSP et lymphocytes) et non souhaitées (PNN)

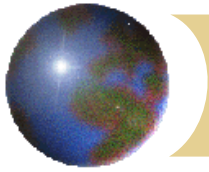


SFH 2018 07 Novembre 2018

Dr Kanouni Tarik

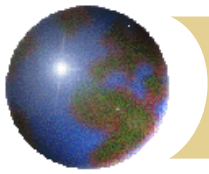
Unité d'aphérèse thérapeutique et hémovigilance
Hôpital Saint Eloi CHU Montpellier





Plan

- 1/ Contrôle Qualité du dosage des cellules non désirée PNN, Myélémie
 - Techniques, standardisation ..
- 2/ Technique: Méthode de séparation des élément du sang pas les différents séparateurs
- 3/ L'analyse de 6 facteurs prédictifs et voir leur influence sur la contamination



Contrôle qualité : Cytologie

- ❖ Automate mais confirmé manuellement
 - ❖ Coloration MGG
 - ❖ Distribution hétérogène des cellules sur lames

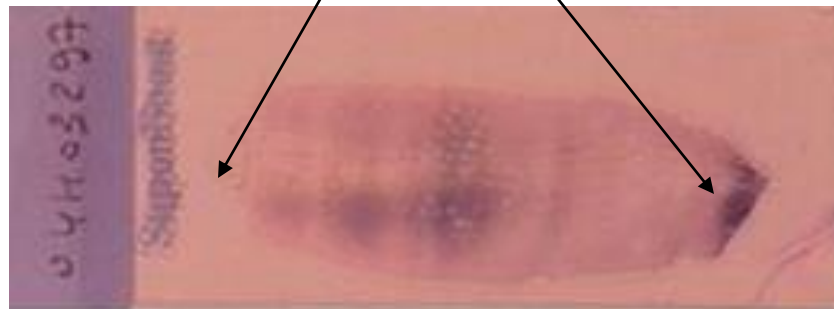
On dispose du pourcentage de PN avec la formule du compteur

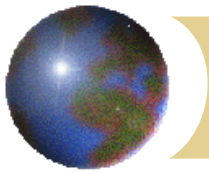
Pour différencier les éléments jeunes il faut lire sur une lame

Appareils validés pour le sang total et non les Cyta riche en blanc et en cellules jeunes

La formule des CSP n'est pas toujours robuste (présence d'éléments immatures)

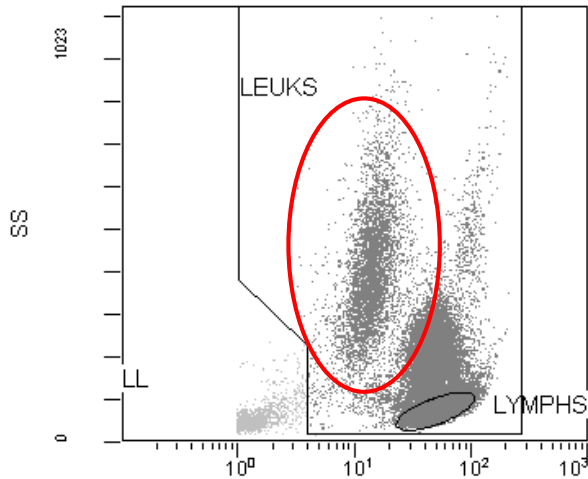
Moyenne sur champs de la lame





Contrôle qualité Cytométrie

[NOT (BEADS) AND VIABLE] FL1 Log/SS Lin - ADC

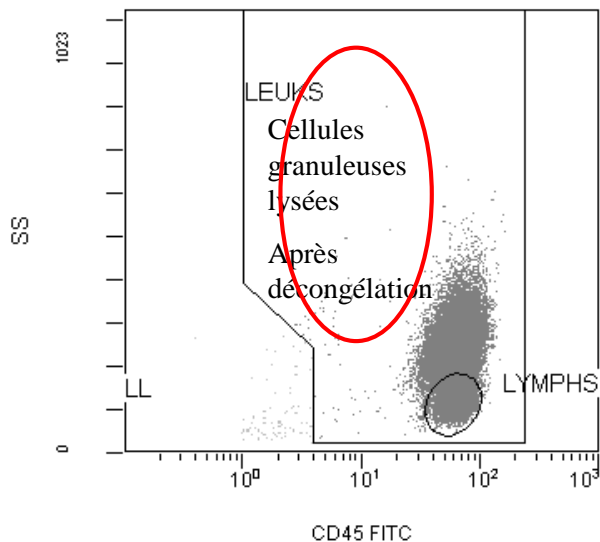


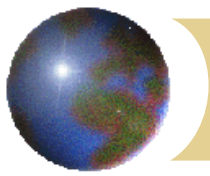
[NOT (BEADS) AND VIABLE] FL1 Log/SS Lin - ADC

pourcentage de granuleux au sur la numération des CD34 sur une région SSC/CD45.

Il existe une corrélation significative entre la formule automatique et cette région mais le pourcentage sur l'automate est généralement plus fort

Ne renseigne pas sur la présence de cellules jeune.





Control Qualité en terme d'objectif

Quelles sont les taux acceptables de contamination en PNN dans un greffon?

Y a-t-il un consensus?

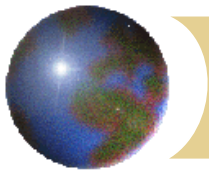
Contamination PNN		
Valeur:	7	40
Conformité	OUI	<input type="checkbox"/>
Validation		

A titre d'exemple:

Control Qualité fixé au CHU de Montpellier entre Therapie cellulaire et Aphérèse:40%

Si > 40%

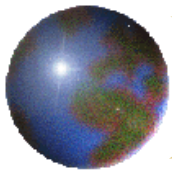
- alors non-conformité déclarée
- Analyse du pourquoi



Control Qualité: Etat des lieux sur le dosage des CMN/ PNN

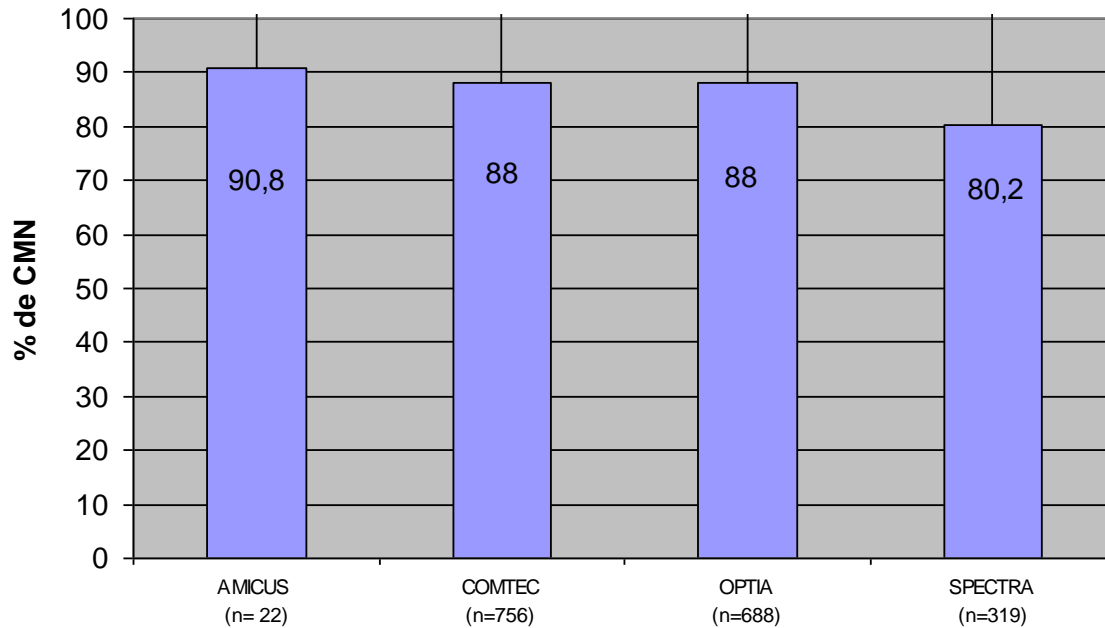
- Exhaustivité: **NON**
- d'assurer la fiabilité des analyses: **NON**
- Reproductibilité intersites: **NON**
- Standardisation des méthodes **NON**
- Elaboration de référentiel de contrôle: **NON**

- ANSM: Travail de normalisation entrepris par la pharmacopée européenne à l'initiative de la France



Contamination en PNN du greffon: Patients mobilisés / non mobilisés

% de CMN collecté en fonction des séparateurs
Analyse de 2320 collectes



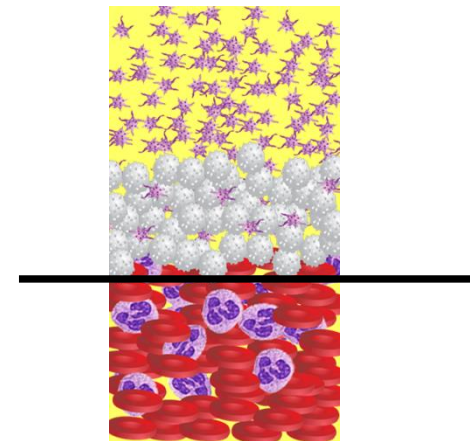
✚ Postulat:

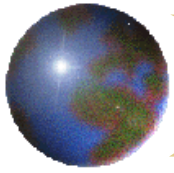
✚ Si pas de mobilisation => pas de cellules jeunes =>

- ✚ Couche CMN PNN nette
- ✚ Contamination très faible
- ✚ Les séparateurs cellules savent bien « trancher » entre les CMN des PNN mature.

✚ Etude 2320 cytophèrese

- ✚ CMN pour PCE
- ✚ 10% decontamination tr_s constant

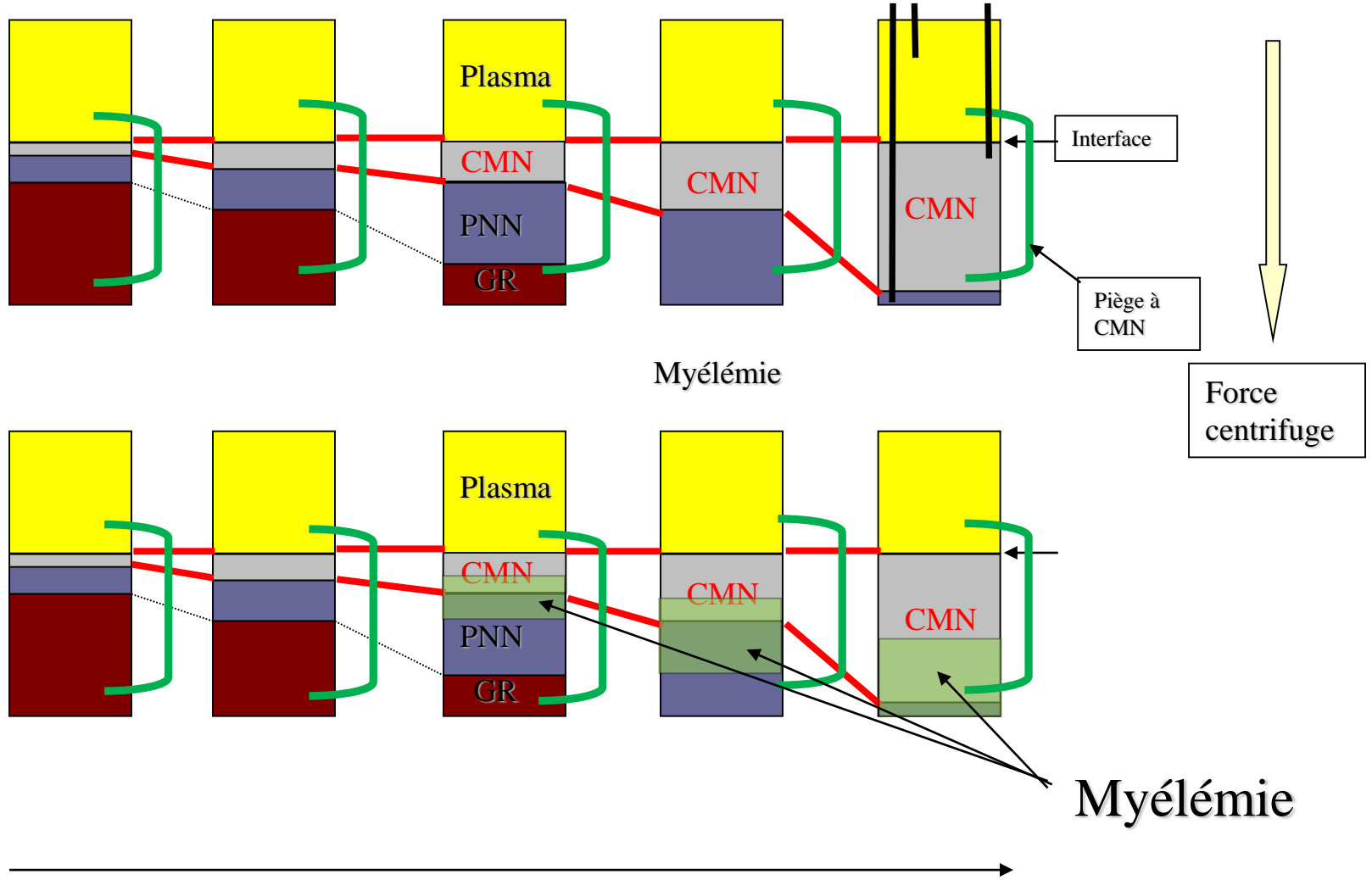




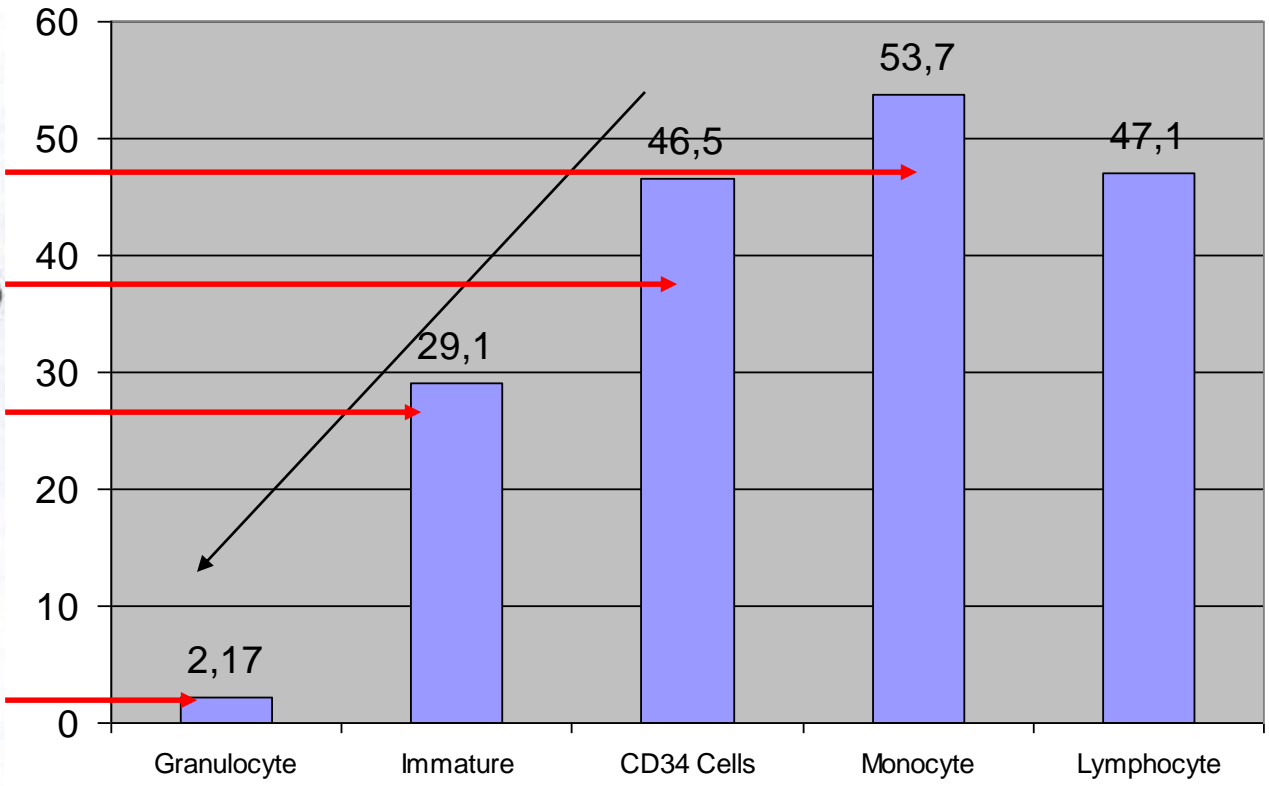
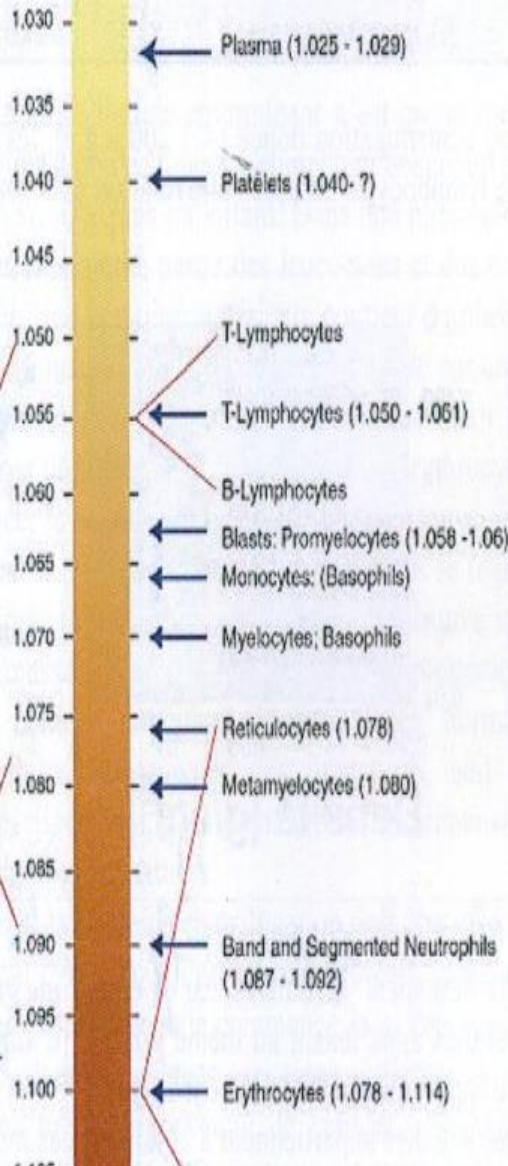
Principe de Collecte CMN Par centrifugation

Constitution de la couche

Phase opérationnelle de prélèvement



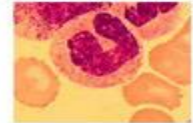
Average of Collection Efficiency nb cells collected / traïted (n= 1625 cytoph resis)



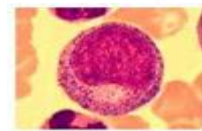
Polynucl aire



M tam y locyte

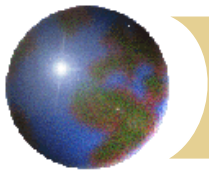


Prom y locyte

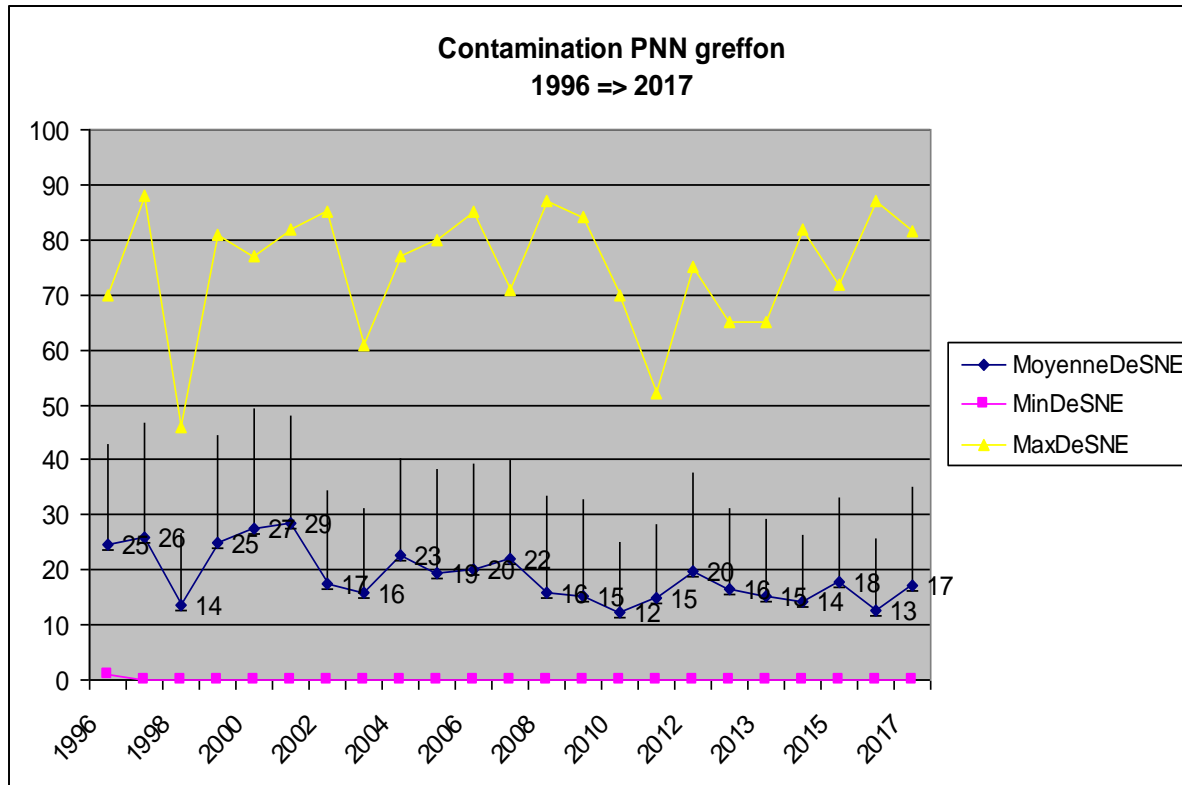


My loblaste

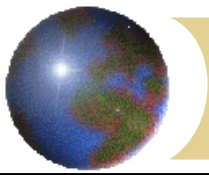




Indicateur qualité annuel sur le taux de contamination en PNN dans une unité d'Aphérèse

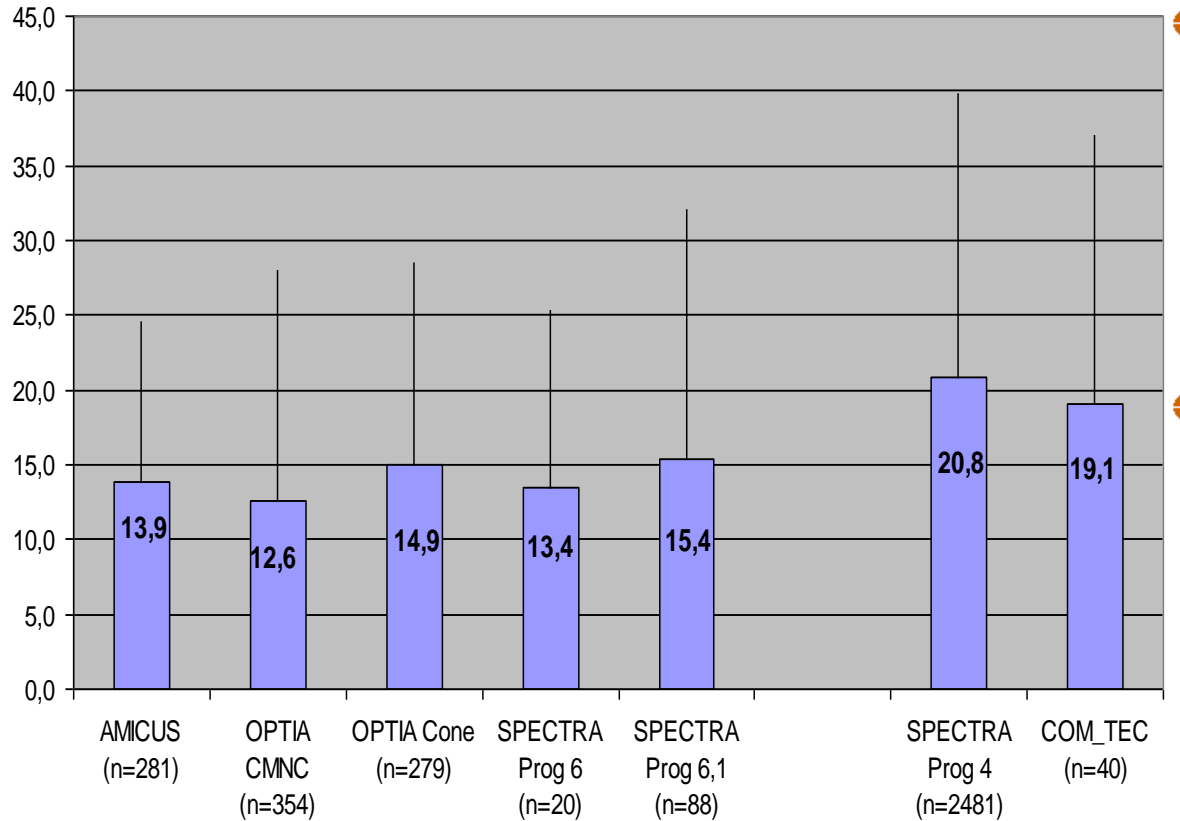


- Problématique des fortes contamination
- 10% de cytaphérèse avec un fort taux de contamination > 60%
- Taux de Non conformité
 - En 2017
 - Sur la base de PNN > 40%
 - Résultat:
 - 50 cas sur 251
 - soit 19%



1/ CONTAMINATION EN FONCTION DES SÉPARATEURS CELLULAIRES

Contamination en PNN (%) du greffon en fonction des programmes de séparateurs cellulaires. Poids > 40 kg (1996-2017)



Etude

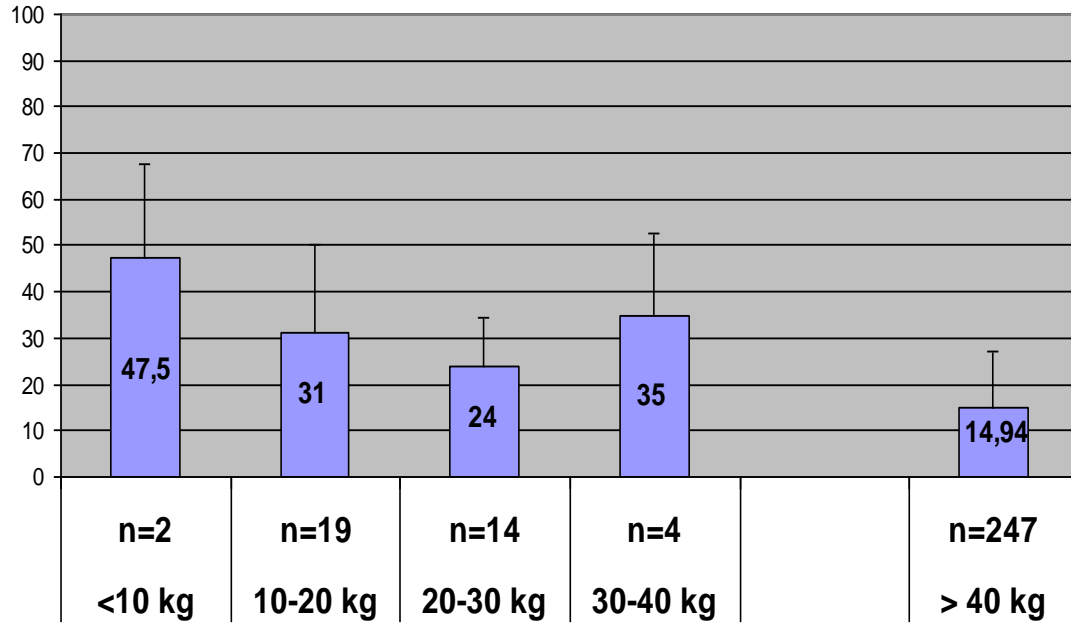
- ❖ 3543 cytophères analysables
- ❖ En fonction programme des séparateurs cellulaires
- ❖ Analyse
 - du taux de PNN% méthode cytologique dans le greffon

Résultat:

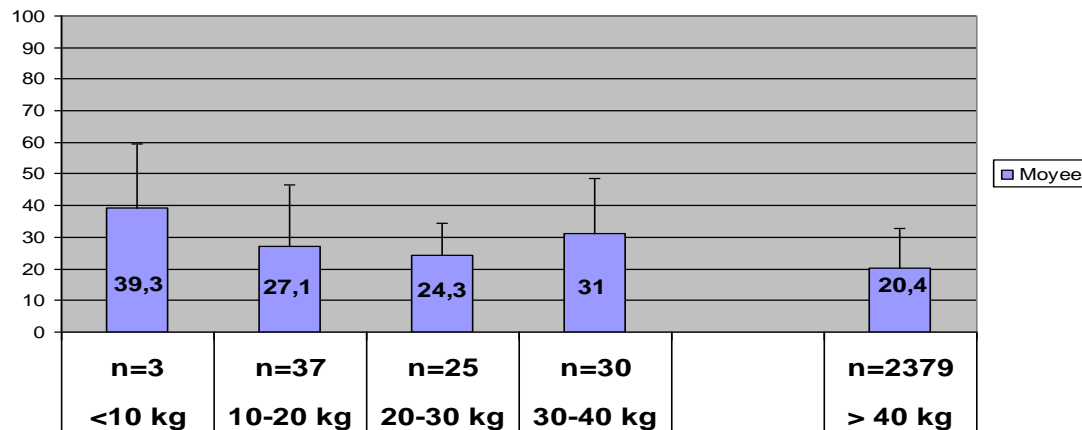
- ❖ Défavorable si programme manuel
- ❖ Favorable si programme automatisé

2/ Particularité pédiatrique

Pourcentage de contamination en PNN en fonction du poids
Collecte Sur Optia CMN cone



Pourcentage de contamination en PNN en fonction du poids
Spectra



Etude 1

- 39 cyta péd <40 kg / 247 adulte > 40 kg
- 4 Tranches de poids
 - <10 kg; 10-20 kg; 20-30 kg 30-40; > 40kg
- OPTIA CCMN (Cone)
- Analyse
 - du taux de PNN% méthode cytologique dans le greffon

ETUDE 2

- Item sur COBE SPECTRA
- 95 cyta péd <40 kg / 2379 adulte > 40 kg

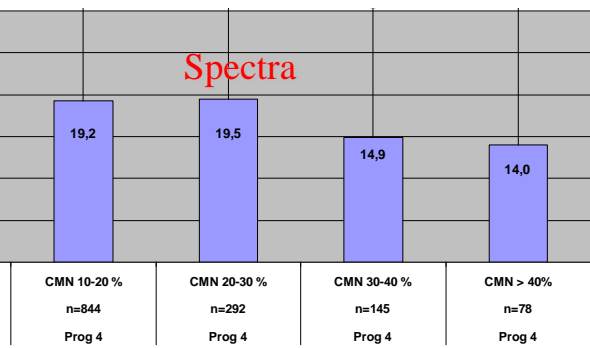
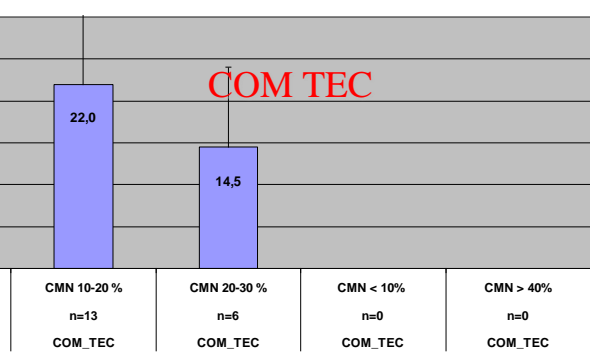
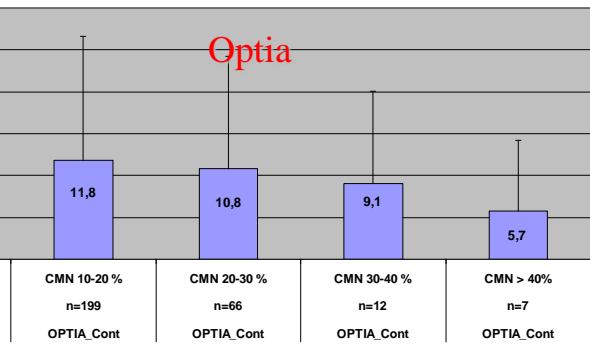
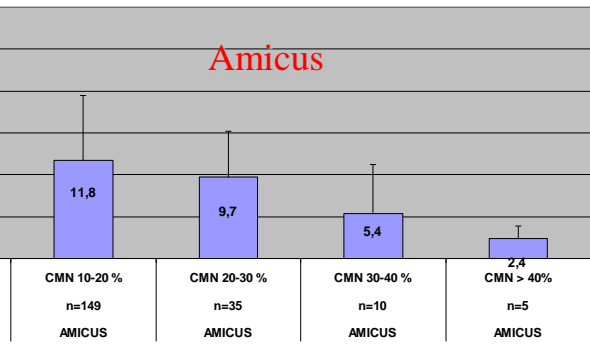
Résultat:

- Contamination en PNN augmenté par les petit poids

Rationnel:

- Rapport débit entrée/ collecte très altéré
- La raison est d'ordre technique et non en rapport avec le petit poids

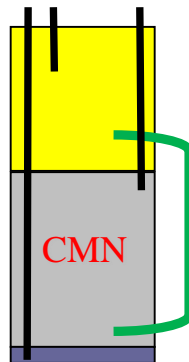
3/ Influence du taux de CMN dans le sang sur la contamination



Séparateur	Nb Cyta	Taux de CMN dans le sang				
		<10%	10-20%	20-30%	30-40%	>40%
AMICUS	272	20	12	10	5	2
COM_TEC	32	26	22	15	3	
OPTIA_Cone	203	17	15	12	15	10
OPTIA_Cont	389	15	12	11	9	6
Prog 4	2184	23	19	19	15	14

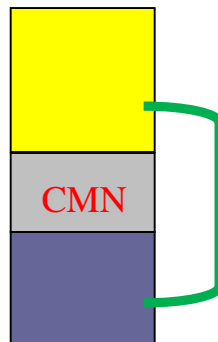
Le rationnel:

- CMN élevé: saturation de la chambre par les CMN chasse les PNN
- CM bas la chambre ne se remplit pas => capture des



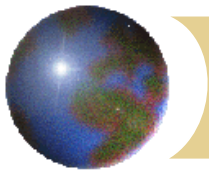
Etude:

- 3080 cyta tout venant
- Analyse taux de contamination en PNN de la poche méthode cytologique



Résultats:

- Diminution de la contamination inversement proportionnelle au taux de CMN



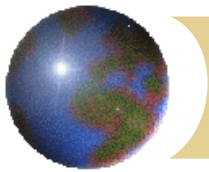
Mobilisation de CSH allogénique et contamination en PNN

- 1/ En situation allogénique
 - Pas de congélation produit frais.
- 2/ Injection de PNN chez le receveur
 - Non délétère voire bénéfique si patient déjà en aplasie
 - Evaluation de l'effet transfusionnel des PNN
 - Si Greffe géno ou phéno (9 ou 10/10)
 - PNN HLA compatible
 - Si Greffe haploidentique 50% de compatibilité
 - au moins pas d'anti HLA contre le donneur



Implication des mobilisation sur la contamination des cytophères en CMN en situation autologue

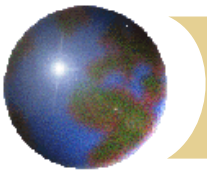
- Mobilisation en État basal : G-CSF seul
- Post Chimiothérapies
 - combinées (traitement de 1ère ligne de l'hémopathie) + G-CSF MNH : R-ACVBP, R-CHOP, R-DHAP Hodgkin : R-ICE
 - Endoxan® (cyclophosphamide) de recrutement + G-CSF (Myélome multiple [MM])
 - Chimiothérapie peu aplasante: Bendamustine.
- Mobilisation Adjuvante:
 - Plerixafor Mozobil
- Influence d'une mobilisation sur la contamination
 - Par la production +/- importante cellules jeunes
 - Myélémie: Promyélocyte, métamyélocytes..



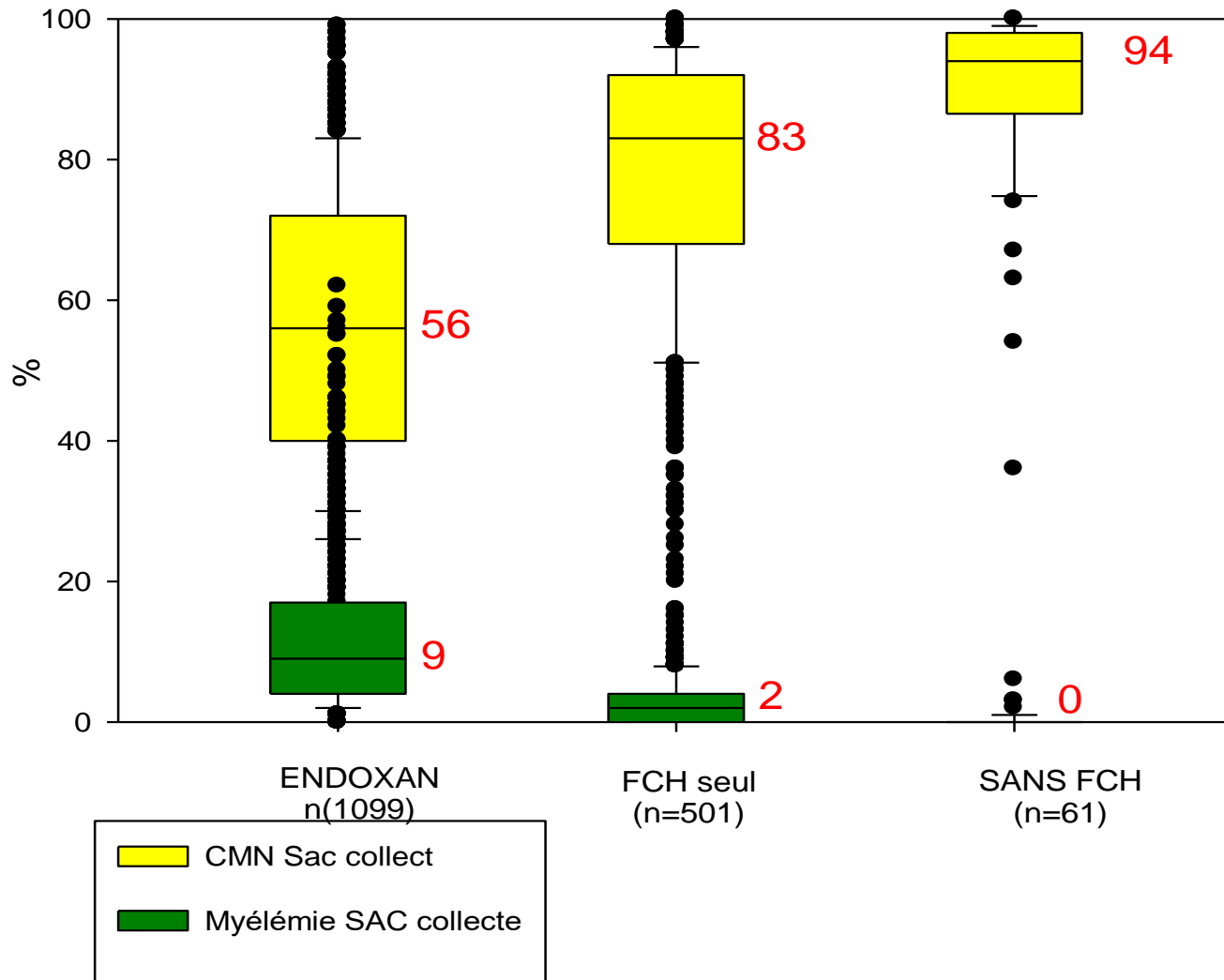
- Etude intren 1661 patient
- Homogène: Patient atteint de myélome
- Mono machine
- Analyse sur Granuleux dans la poche en fct de 2 types de mobilisation/ control sans mobilisation => DLI

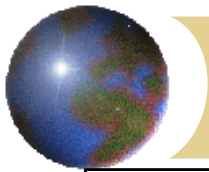
RESULTATS

MEDIANE	ENDOXAN	FCH seuls	SANS Mobilisation	p
n	1099	501	61	
%Granuleux produit (cytométrie)	43,1	24,9	9,7	.p<0.001
% myélémie produit(cytologie)	24,6	9,3	0,5	
% myélémie sang(cytologie)	9	2	0	
CD34 sang (µl)	84	42	NA	
Leuco dans le sang G/L	17	44	6,7	
Leuco dans le produit G/L	88,1	117,8	63,6	
Granuleux G/L produit	30,1	19,7	3,4	p <0,01
PLAQ G/L produit	864	1658	2625	p <0,01

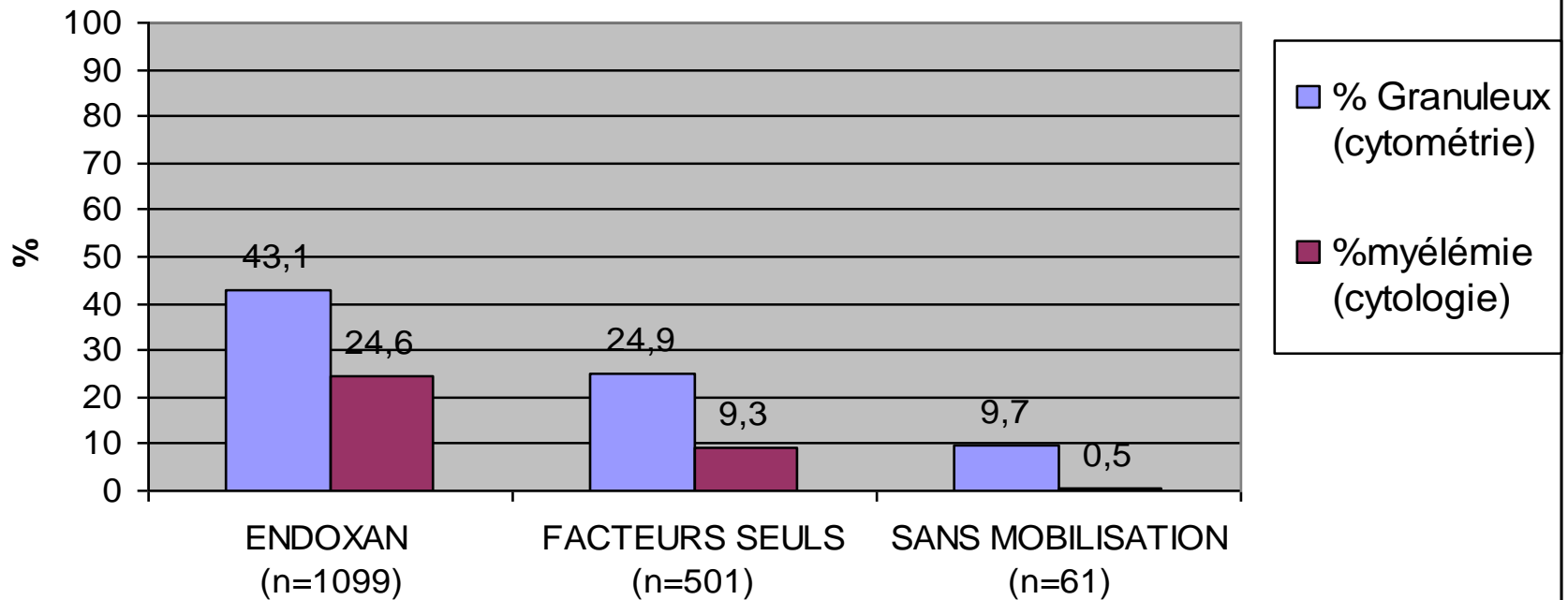


Analyse %CMN et %Myélémie (médiane) dans SAC CSP en fonction du type de mobilisation

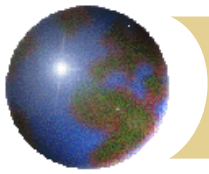




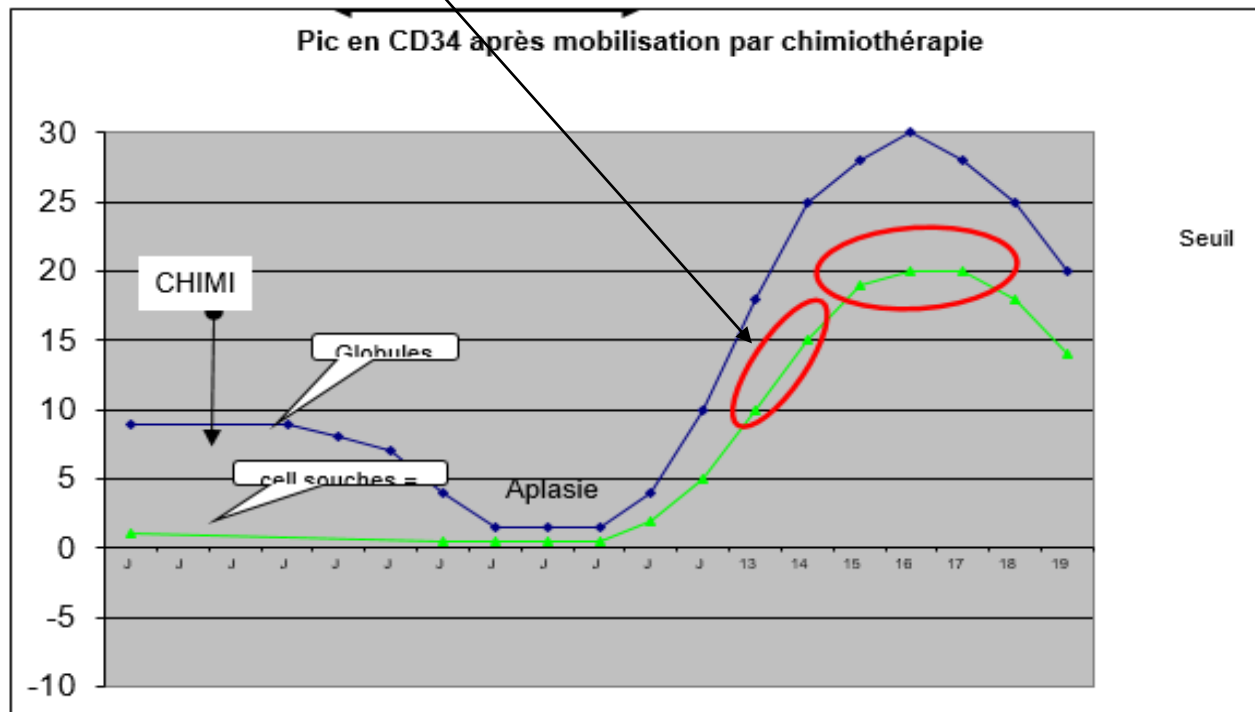
Analyse des valeurs médianes entre cellules granuleuses et cellules jeunes sur produit ce CSSP



Cette contamination en CG est fortement corrélée à la présence de myélémie dans le sang et dans le produit de collecte ($R^2 = 0,999$; $p < 0.01$)



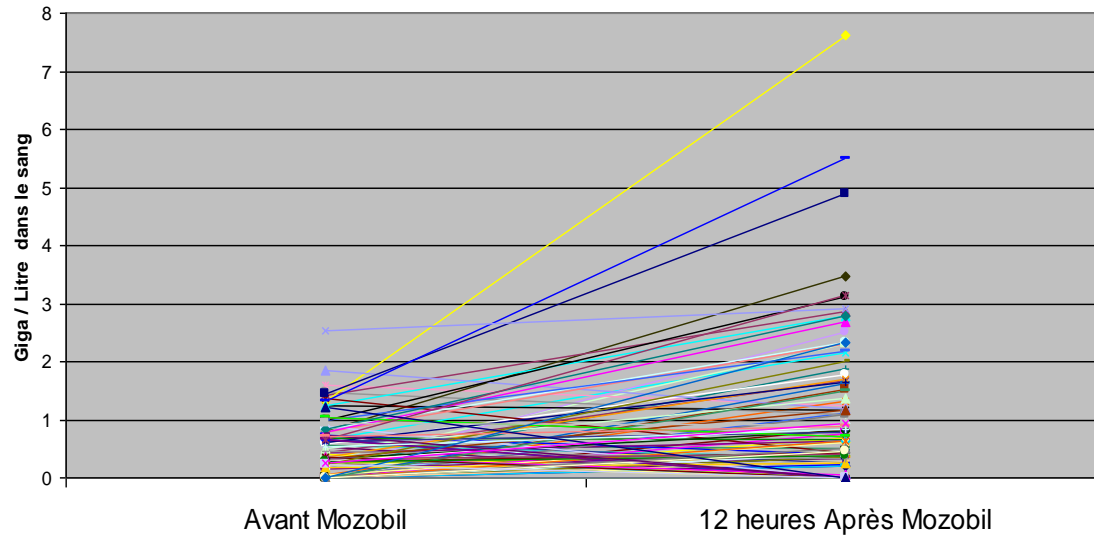
- Résultat: En analyse multifactorielle ce n'est pas la chimiothérapie / Sans qui est impliqué mais la phase précoce de prélèvement avec un taux bas en GB et une forte myélémie.



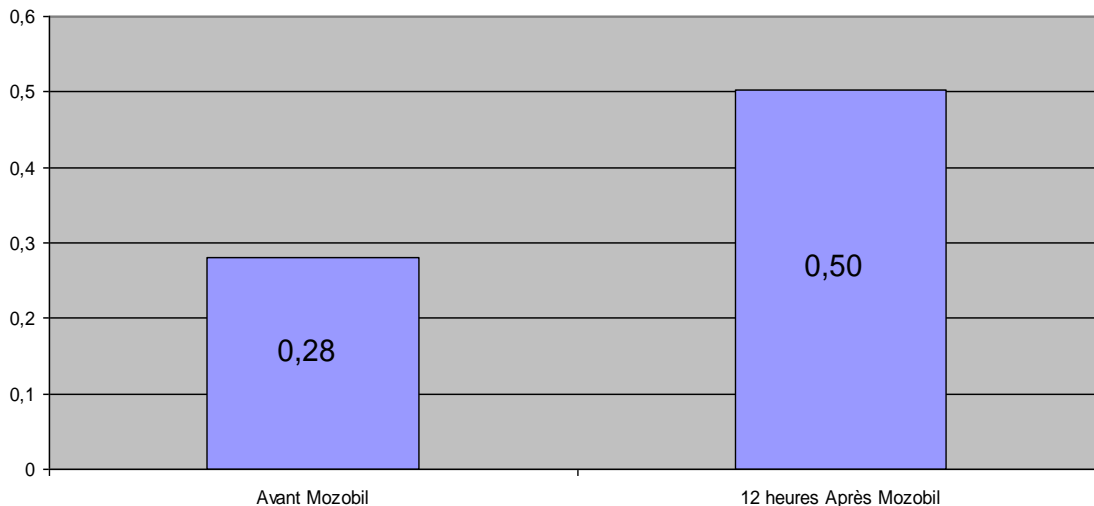
5 / Influence du Mozobil sur la

myélémie dans le sang

myélémie en Giga/L dans le sang avant et après mozobil
113 patients en stabilité hématopoïetique



Médiane myélémie en Giga/L dans le sang avant et après Mozobil 113 patients en stabilité hématopoïetique



Etude

- 113 Mobilisations en primo utilisation du Mozobil
- Stabilité hématopoïétique
- Analyse du taux de myélémie en valeur absolue (giga/Litre) méthode cytologique
 - avant et
 - 12 heures après Mozobil

Résultat:

- Augmentation significative du taux de myélémie après Mozobil
-

Influence du Mozobil sur le taux de contamination en PNN dans la poche de cyta.

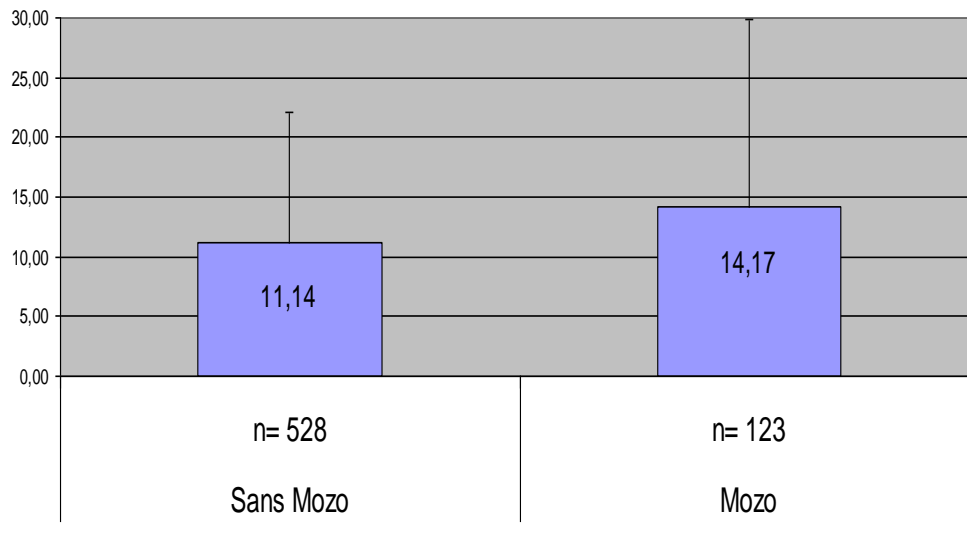
Etude

- Mobilisation en Stabilité hématopoïétique
- 2 bras avec n=123 et sans Mozobil n=528
- Myélome, Même période de temps 2011_2018
- Sous Analyse Analyse en fonction des séparateurs
- Comparaison taux de PNN en % dans poche de cyta en moyenne et Ecart Type

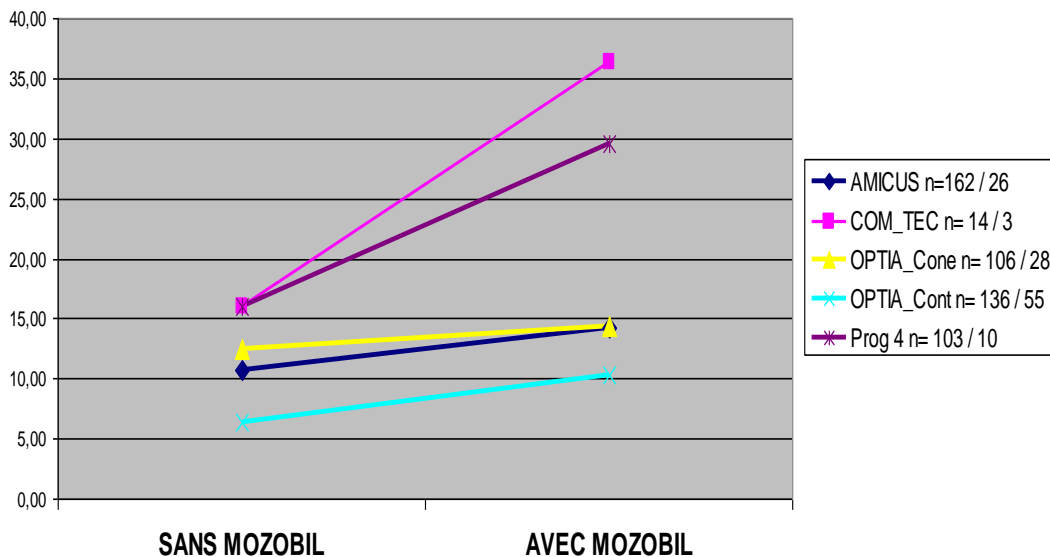
Résultat:

- Différence significative
- Confirmée en analyse secondaire selon séparateurs cellulaires
-

Taux de contamination en cellules non Mononuclées avec ou sans Mozobil
Mobilisation en stabilité hématopoïétique

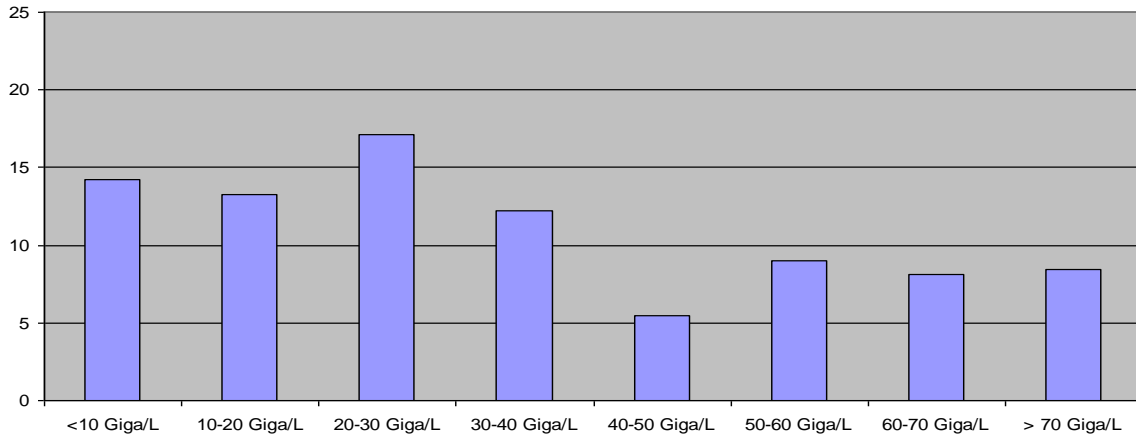


Taux de contamination en cellules non Mononuclées avec ou sans Mozobil
Repartition en fonction des séparateurs cellulaires

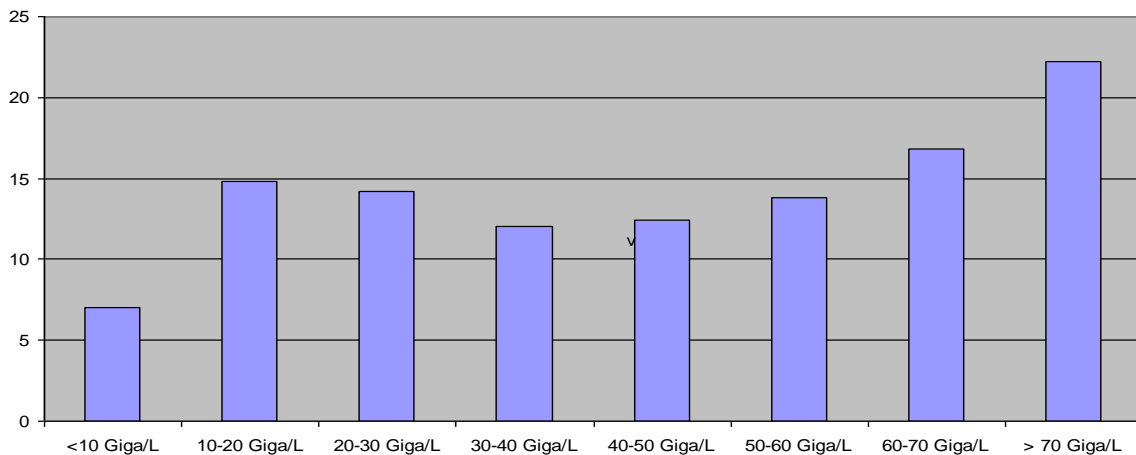


6/ Influence du Taux de leucocytes sur la contamination en PNN dans la poche de cyta.

Contamination en PNN en fonction du taux de leucocyte dans le sang
OPTIA CMNC 424 cytaphérèse



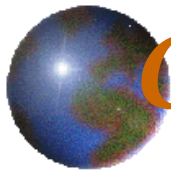
Contamination en PNN en fonction du taux de leucocyte dans le sang
AMICUS 305 cytaphérèses



- ✦ **Etude**
 - ✦ 3494 cytaphérèses analysables
 - ✦ En fonction programme des séparateurs cellulaires
 - ✦ Analyse
 - du taux de PNN% méthode cytologique dans le greffon

- ✦ **Résultat:**
 - ✦ Pas d'influence
 - ✦ Les machine et le paramétrage font bien la séparation de l'excédent de PNN

Séparateur	Nb Cyta	<10 Giga/L	10-20 Giga/L	20-30 Giga/L	30-40 Giga/L	40-50 Giga/L	50-60 Giga/L	60-70 Giga/L	> 70 Giga/L
AMICUS	305	7,0	14,8	14,2	12,1	12,4	13,8	16,8	22,3
COM_TEC	42	13,0	27,0	22,4	17,6		5,3	20,0	21,0
OPTIA_Cone	245	20,2	20,6	11,7	15,0	16,0	15,4	11,0	13,0
OPTIA_Cont	424	14,2	13,3	17,1	12,3	5,5	9,0	8,1	8,5
Prog 4	2374	27,3	24,6	19,9	15,6	12,6	12,4	11,6	10,2
Prog 6	18	18,0	17,5	3,5	2,5		8,0		
Prog 6,1	86	23,5	12,1	11,4	4,6		4,3	7,0	32,3



CONCLUSION

Contamination en PNN est Multifactorielle

Les facteurs qui influences

1. Technique manuelle, Automatisé
2. Taux de CMN dans le sang bas
3. Petit poids
4. Forte myélémie
5. Mozobil

Pas d'influence retrouvée

1. Taux de leucocytes dans e sang

Points non abordés qui sont potentiellement impliqués

1. LVL
2. Multiplication de séances
3. Vitesse de collecte

La solution pour prédire tout cela:

Modélisation mathématique.