

Suivi immunologique et collection biologique en vue de l'analyse de la réponse clinique après autogreffe de moelle pour Maladies Auto-Immunes : recommandations de la Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM-TC)

Autologous hematopoietic cells for severe autoimmune diseases : guidelines of the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC) for immune monitoring and biobanking

Pauline Lansiaux^{1,2}, Séverine Loisel³, Cristina Castilla-Llorent⁴, Claire Fontenille⁵, Sarah Kabdani⁶, Zora Marjanovic⁷, Grégory Pugnet⁸, Mathieu Puyade^{9,10}, Emilie Robert⁵, Louis Terriou¹¹, Nassim Ait Abdallah^{1,2}, Alexandre Thibault Jacques Maria¹², Laure Michel¹³, Xavier Tréton¹⁴, Ibrahim Yakoub-Agha¹⁵, Dominique Farge^{1,2,16*}.

¹ Unité de Médecine Interne: Maladies Auto-immunes et Pathologie Vasculaire (UF 04), Centre de Référence des Maladies auto-immunes systémiques Rares d'Ile-de-France MATHEC (FAI2R), AP-HP, Hôpital St-Louis, F-75010 Paris, France

² Université de Paris, Institut de recherche Saint Louis, Recherche clinique appliquée à l'hématologie, EA3518, F-75010 Paris, France,

³ SITI, CHU Rennes, Etablissement Français du Sang Bretagne, F-35000 Rennes, France,

⁴ Département d'Hématologie, Gustave Roussy Cancer Center, 114 rue Edouard Vaillant, 94800 Villejuif, France,

⁵ Association CRYOSTEM, Institut Paoli-Calmettes, 13009 Marseille, France,

⁶ Unité de Thérapie Cellulaire, EFS HFNO site de Lille, Parc Eurasanté, 20 Avenue Pierre Mauroy, 59373, Loos, France

⁷ Service d'Hématologie, Hôpital Saint Antoine (APHP), 184 rue du Faubourg Saint-Antoine, 75012, Paris, France,

⁸ Service de Médecine Interne et Immunologie Clinique, CHU Rangueil, 1 avenue du Pr Jean Poulhès, 31059 Toulouse Cedex 9,

⁹ Service de Médecine Interne, CHU de Poitiers, 2 Rue De La Milettrie, 86021, Poitiers, France,

¹⁰ CIC-1402, CHU de Poitiers, 2 Rue De La Milettrie, 86021, Poitiers, France,

¹¹ Service de médecine interne et immunologie clinique, Hopital Claude Huriez, CHRU Lille, rue Michel Polonovski, 59000 LILLE, France,

¹² Médecine Interne : Maladies Multi-Organiques de l'Adulte, et Inserm U1183 IRMB, CHRU de Montpellier, Hôpital Saint Eloi, 34295 Montpellier cedex 5,

¹³ Service de neurologie, CHU Rennes, Rennes, France.

¹⁴ Service de Gastro-entérologie, MICI et Assistance Nutritive, DMU DIGEST, Hôpital Beaujon, 100 Bd Leclerc 92110 Clichy, Université de Paris, France,

¹⁵ CHU de Lille, LIRIC, INSERM U995, Université de Lille, 59000, Lille, France,

¹⁶ Department of Medicine, McGill University, H3A 1A1, Montreal, Canada,

* **Auteur correspondant** : Dominique Farge

Hôpital St-Louis (APHP), Unité de Médecine Interne: Maladies Auto-immunes et Pathologie Vasculaire (UF 04), Centre de Référence des Maladies auto-immunes systémiques Rares d'Ile-de-France MATHEC (FAI2R), 1 avenue Claude Vellefaux, 75010 Paris, France

E-mail : dominique.farge-bancel@aphp.fr

Résumé

L'autogreffe de cellules hématopoïétiques (ACH) est une alternative thérapeutique validée pour les formes sévères d'un certain nombre de maladies auto-immunes (MAI). Le principe de l'ACH repose sur l'éradication du système immunitaire auto-réactif suite à l'administration d'une chimiothérapie intensive ou myélo-ablative, suivie d'une période d'aplasie puis de reconstitution immunitaire associée à l'apparition d'une réponse immune *de novo* avec l'acquisition d'un nouveau répertoire lymphocytaire naïf et tolérant aux antigènes du « soi ». L'analyse des données de reconstitution immunologique après ACH est nécessaire à la compréhension de l'évolution clinique des patients et à la recherche de facteurs prédictifs de la réponse clinique dans le but de développer des protocoles d'ACH personnalisés. Ces recommandations de bonnes pratiques MATHEC-SFGM-TC ont été élaborées par un groupe d'experts aux spécialités complémentaires réunissant les membres du Centre de Référence des Maladies auto-immunes systémiques Rares d'Ile-de-France, Filière FAI2R, et du réseau MATHEC (Maladies Auto-immunes et Thérapie Cellulaire), des hématologues de la Société Française de Greffe de Moelle osseuse et thérapie Cellulaire (SFGM-TC) experts dans la procédure d'ACH dans les MAI ainsi que des experts dans le suivi immunologique après thérapie cellulaire et dans l'établissement de collections biologiques. L'objectif est de guider les cliniciens dans le suivi immunologique minimal en soin courant des patients traités par ACH pour MAI et dans les modalités de collection d'échantillons biologiques destinés à la recherche.

Mots Clés : Maladies Auto-immunes ; Autogreffe de cellules hématopoïétiques ; Reconstitution immunologique ; Suivi immunologique post autogreffe ; Collection biologique

Summary

Autologous hematopoietic cell transplantation (AHCT) is a new treatment option for patients with severe autoimmune diseases (AD), based on the use of intensive or myeloablative chemotherapy to eradicate the pathogenic autoreactive immune cells and to allow the installation of a new and tolerant immune system during immune reconstitution process. Immune reconstitution analysis after AHCT is required for patients clinical follow-up and to further identify biological and immunological markers of the clinical response to develop individualized AHCT protocols. These MATHEC-SFGM-TC good clinical practice guidelines were developed by a multidisciplinary group of experts including members of the french reference center for stem Cell Therapy in Auto-immune Diseases (MATHEC), hematologists from the French speaking Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC) and experts in immune monitoring and biobanking. The objectives are to provide practical recommendations for immune monitoring and biobanking of samples in patients with AD undergoing AHSCT, for routine care purposes and investigational studies.

Key Words: Autoimmune diseases; Autologous hematopoietic cell transplantation; Immune reconstitution; Post-transplantation immune follow-up; Biobanking

Questions posées

1. Evaluation de la réponse immune avant et après autogreffe de cellules hématopoïétiques (ACH) pour maladies auto-immunes (MAI) : Quelles sont les analyses minimales à effectuer pour toutes les MAI? Quelles sont les analyses spécifiques pour chaque MAI?
2. Quelles sont les recommandations concernant les échantillons supplémentaires à conserver pour la recherche ? Pour quels types d'analyse ?
3. Quelles sont les procédures nécessaires à l'établissement d'une collection biologique nationale issue de patients traités par autogreffe de moelle pour maladie auto-immune ?

Etat actuel de la question

L'intensification thérapeutique avec autogreffe de cellules hématopoïétiques (ACH), a été développée depuis 25 ans pour le traitement des maladies auto-immunes (MAI) sévères ou rapidement progressives, lorsqu'elles sont réfractaires aux traitements classiques immuno-supresseurs ou immuno-modulateurs utilisés selon des schémas recommandés et cités en référence dans les Protocoles Nationaux de Diagnostic et de Soins (PNDS) ou équivalents européens (1–4). En 2020, l'ACH constitue une alternative thérapeutique validée pour un certain nombre de MAI, avec des niveaux de preuve allant du grade 1 à 3 selon les critères de la société Européenne de Greffe de Moelle et de Thérapie cellulaire (EBMT)(5). L'efficacité de l'ACH (niveau de preuve 1 de l'EBMT) est ainsi démontrée pour la sclérodémie systémique (SSc) sévère et rapidement évolutive (6–8) et la sclérose en plaques (SEP) (9). L'ACH est également utilisée, bien que plus rarement et selon des procédures bien codifiées, pour traiter d'autres formes sévères de MAI : maladie de Crohn (MC)(10) (niveau de preuve 2 de l'EBMT), neuropathies auto-immunes répondant aux critères de polyneuropathie inflammatoire démyélinisante chronique (11), vascularite (12), cytopénie auto-immune (13) voire arthrite chronique juvénile (observations cliniques, niveaux de preuve 3 de l'EBMT (14)). Depuis 2014, la pratique d'ACH pour les MAI à l'échelon national sous l'égide de la SFGM-TC est encadrée par des recommandations de bonnes pratiques cliniques françaises, développées par des experts hématologues en greffe de moelle et des spécialistes de chacune de ces MAI, qui ont validé et défini les indications, les modalités de l'ACH et le suivi des patients après ACH pour la SSc (15,16), la SEP (17), la polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique (PIDC) (18) et la MC (19). Ces recommandations soulignent la nécessité de rapporter les données de greffe et de suivi des patients dans le registre national MATHEC-SFGM-TC (Maladies Auto-immunes et Thérapie Cellulaire au sein de la Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire) et le registre européen de l'EBMT.

Si la compréhension du mécanisme physiopathologique exacte de chaque MAI reste parfois incomplète et hétérogène selon les pathologies, le principe et le mécanisme d'action de l'ACH ont bien été analysés. La survenue d'une MAI résulte d'une interaction complexe entre des facteurs de prédispositions génétiques et épigénétiques et des facteurs environnementaux. D'une manière globale, il est admis que, dans les MAI, le système immunitaire reconnaît de manière inappropriée les antigènes du « soi », en association à une sur-activation des lymphocytes B (LB) et T (LT) auto-réactifs et une diminution de l'activité immuno-régulatrice des LT régulateurs (LT-regs). Ce mécanisme est associé à une réponse inflammatoire excessive à l'origine de l'atteinte de différents organes (20). Le principe thérapeutique de l'ACH au cours du traitement d'une MAI donnée repose sur l'utilisation d'une chimiothérapie intensive pour éradiquer de manière non-spécifique le système immunitaire comprenant les lymphocytes matures auto-réactifs, puis, après une période d'aplasie, permettre la réinitialisation de la réponse immune et l'apparition d'un nouveau répertoire immunologique naïf lors de la période dite de « reconstitution immunologique », avec l'acquisition d'une tolérance *de novo* aux antigènes du « soi ». La réalisation de l'ACH dans les MAI se déroule selon les 3 étapes suivantes :

- a) la mobilisation des cellules hématopoïétiques (CH) à partir de la moelle osseuse (MO) vers la périphérie, par l'utilisation de cyclophosphamide (1 ou 2 g /m²) associé à un facteur de croissance (G-CSF), puis leur collecte par cytophérèse,
- b) le conditionnement par chimiothérapie immuno-suppressive ou myélo-ablative, qui se déroule entre 15 jours et 6 semaines après la mobilisation, ayant pour but d'éradiquer les cellules auto réactives. L'administration de cette chimiothérapie intensive est associée à du sérum anti-lymphocytaire poly- ou monoclonal pour renforcer la déplétion lymphocytaire globale, T et/ou B selon le type d'anticorps utilisé, et inhiber ainsi de manière durable l'activation de la réponse immune,
- c) la réinjection des CH (collectées lors de la mobilisation), avec ou sans sélection préalable *ex-vivo* (sélection CD34+), pour limiter la période d'aplasie induite par le conditionnement.

Comme pour tout patient greffé de moelle, il importe de surveiller, dans le cadre du soin courant, l'évolution de la reconstitution immunologique après conditionnement, pour permettre l'adaptation des différents traitements, notamment de la prophylaxie anti-infectieuse (antibiotiques et anti-viraux).

La période de reconstitution immunologique après ACH dans les MAI, lors de la sortie de la période d'aplasie, est caractérisée par la réémergence de cellules hématopoïétiques naïves de la moelle osseuse et du thymus, permettant la mise en place d'un nouveau répertoire B et T non pathogène, associée à un rétablissement de la régulation immunitaire par les lymphocytes B et T régulateurs (21,22). Chez les adultes traités par ACH pour MAI, la réapparition des lymphocytes B et T CD8+ ainsi que des autres cellules du système immunitaire adaptatif est atteinte progressivement au cours de la première année après greffe, alors que celle des LT CD4+ est plus lente et peut durer jusqu'à 2 ans en fonction du type de MAI elle-même et de la nature et la durée des expositions médicamenteuses antérieures (21).

La Sclérodermie Systémique (SSc) est une MAI rare, dont l'étiologie exacte reste méconnue, caractérisée par une microangiopathie, avec activation de la réponse immune innée et adaptative, associée à une fibrose progressive extensive de la peau et des organes profonds (cœur, poumons reins). En France en janvier 2021, 86 patients atteints de SSc traités par ACH sont rapportés dans la base MATHEC-SFGM-TC. Au plan immunologique, notamment lymphocytaire, la SSc est caractérisée par un nombre augmenté, dans le sang et la peau, de LT CD4+ et CD8+ activés sécrétant des cytokines pro-fibrosantes, une augmentation et une hyperactivation des LB avec production d'anticorps anormaux non pathogènes et une diminution du nombre et des fonctions des lymphocytes régulateurs T et B (LTreg et LBreg) corrélés avec la sévérité de la maladie (23–26). Le répertoire lymphocytaire T, dont la diversité clonale est diminuée chez les patients atteints de SSc en comparaison à des contrôles sains, est caractérisée par la présence de clonotypes dominants aux séquences partagées, soutenant l'hypothèse d'une expansion stimulée par un antigène commun (26,27). Après l'ACH, une réactivation de la fonction thymique, mesurée par la production des cercles d'excision génomiques des récepteurs lymphocytaires T (TREC), permet la réapparition progressive de LT naïfs au cours de la 1^{ère} année et la hausse du taux et de l'activité des LTreg (26), associé une diversification clonale des lymphocytes T (25,26). En parallèle, l'activation de la néogénèse des LB, quantifiée par les cercles d'excision sJkREC, permet une réapparition de LB naïfs et régulateurs à partir de 6 mois après l'ACH

(24,26). La classification rétrospective des patients SSc traités par ACH en 2 groupes « répondeurs » ou « non répondeurs » a permis d'étudier les marqueurs associés à la réponse clinique des patients SSc après traitement par ACH. Ainsi, la vitesse de la reconstitution des lymphocytes T CD4+ (24) et CD8+ (28) est plus élevée chez les patients dits non-répondeurs, et est associée à une moindre diversification du répertoire TCR après ACH. D'autre part, les taux respectifs de LTreg et de LBreg ne sont pas significativement augmentés chez les patients non répondeurs contrairement aux patients répondeurs (24,26,28). Ces résultats témoignent de mécanismes pathologiques résiduels chez les patients SSc non-répondeurs et permettent de guider le clinicien dans la réintroduction éventuelle d'un immunosuppresseur après ACH, en associant les données du suivi lymphocytaire et de la réponse clinique du patient.

La Sclérose en Plaques (SEP) est une MAI du système nerveux central (SNC) caractérisée chez 85% des patients, par une première phase inflammatoire dite « récurrente-rémittente » (atteinte axonale démyélinisante inflammatoire), puis une seconde phase, non constante, dite « progressive » (dégénérescence secondaire des neurones). En France en janvier 2021, 25 patients atteints de SEP traités par ACH sont rapportés dans la base MATHEC-SFGM-TC. D'un point de vue immunologique, la phase récurrente-rémittente de la SEP est caractérisée par une activation anormale des LT CD4+ et CD8+ ainsi que des LB dans le sang périphérique, associée à des anomalies qualitatives des LTreg (29). Après ACH au cours de la SEP, l'équipe de Muraro est la première à rapporter en 2005 que le compartiment lymphocytaire T sanguin est renouvelé au cours des 2 premières années, en décrivant une augmentation des LT naïfs d'origine thymique, associée à une augmentation de la diversité clonale des lymphocytes T (30). Ces données sont ensuite précisées par la même équipe qui montre que les clones dominants des LT CD4+ présents avant l'ACH disparaissent après la reconstitution immunitaire, permettant ainsi la reconstitution d'un répertoire LT CD4+ diversifié alors que les clones dominants LT CD8+ à l'état basal persistent après l'ACH, avec un répertoire CD8 alors reconstitué à partir de clones préexistants (31). La reconstitution immunitaire après ACH dans la SEP est également caractérisée par une augmentation de la proportion de lymphocytes régulateurs, tels que les LTreg FoxP3+ et les NK CD56^{high} (32), ainsi que les cellules T CD8+PD-1+ et B CD19+ PD-1+, dont le taux est positivement corrélé à la réponse clinique observée après ACH (33). Une étude récente montre que l'ACH modifie le répertoire T sanguin et du liquide céphalo-rachidien LCR de manière équivalente, suggérant que les mécanismes de reconstitution immunitaire après ACH dans le sang périphérique pourraient témoigner des modifications immunologiques engendrées dans le LCR (34).

La polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique (PIDC) est une maladie auto-immune du système nerveux périphérique (SNP), caractérisée par une démyélinisation associée à des infiltrats lymphocytaires majoritairement T. En France en janvier 2021, 6 patients atteints de PIDC traités par ACH sont rapportés dans la base MATHEC-SFGM-TC. Quelques études immunologiques ont montré que le sang des patients atteints de PIDC contenait un taux de LT-reg CD4+ CD25^{high} Foxp3+ diminué, et dont la fonctionnalité est altérée (35). Cette pathologie est également caractérisée par une restriction d'hétérogénéité du répertoire lymphocytaire T sanguin (mesurée par quantification des cercles d'excision TRECs), plus

prononcée pour les LT CD8+ que les LT CD4+ (36). En janvier 2021, aucune étude du répertoire lymphocytaire des patients PIDC après traitement par ACH n'a encore été réalisée à notre connaissance.

La maladie de Crohn (MC) est une maladie auto-inflammatoire pouvant atteindre le tube digestif dans son ensemble, caractérisée par une perméabilité intestinale et à une dérégulation des réponses immunes innées et adaptatives intestinales. En France en janvier 2021, 8 patients atteints de MC traités par ACH sont rapportés dans la base MATHEC-SFGM-TC. Les études du répertoire lymphocytaire après ACH dans la MC sont peu nombreuses (37), mais montrent une normalisation du taux de LT CD4+ à la sécrétion d'IFN- γ , associée à une augmentation de LTreg FoxP3+ (38). L'analyse des biopsies de l'iléum et du colon avant et après traitement par ACH a permis la mise en évidence d'une corrélation entre la réapparition d'une diversité du répertoire lymphocytaire T avec la réponse clinique observée des patients (39).

Le Lupus Erythémateux Systémique (LES) est une maladie auto-immune et auto-inflammatoire, dont les formes sévères peuvent toucher, en plus de l'atteinte rénale, les poumons, le cœur et le cerveau. Le LES est caractérisé par une hyper-réactivité des LB et une activation chronique des plasmocytes auto-réactifs, entraînant la sécrétion d'auto-anticorps, principalement contre des antigènes nucléaires (40). La procédure d'ACH dans le LES a permis de mettre en évidence une réduction du taux de LB mémoires et une réapparition de LB naïfs, associée à une diminution des plasmablastes et une forte diminution des anticorps antinucléaires (ANA) et des anticorps contre l'ADN double brin (41). En France en janvier 2021, 2 patients atteints de LES traités par ACH sont rapportés dans la base MATHEC-SFGM-TC, et les indications des procédures d'ACH pour le LES sont devenues des exceptions.

Des formes sévères d'autres maladies autoimmunes, telles que le diabète de type 1 (DT1) et l'arthrite idiopathique juvénile (AIJ), ont constitué très rarement une indication à l'ACH et sont rapportées dans les registres Européen ou Nord-Américain. L'étude de l'effet de l'ACH sur la réponse immune chez quelques patients atteints de DT1 a été limitée à la détection d'auto-anticorps spécifiques du DT1 qui disparaissent chez certains patients après ACH (42). L'étude du répertoire lymphocytaire T après ACH dans l'AIJ a permis de mettre en évidence une diversification de novo du répertoire TCR, malgré la persistance de certains clones résiduels pré-ACH (43).

L'analyse des données de reconstitution immunologique observées après ACH est nécessaire pour mieux comprendre l'évolution clinique du patient et les mécanismes d'action de l'ACH chez les patients atteints de MAI en fonction a) du statut immunologique du patient à l'état basal, b) de l'intensité de l'immunosuppression selon le conditionnement utilisé et c) des spécificités propres à chaque patient en fonction de leur MAI. Les recommandations de bonnes pratiques cliniques nationales (15–19) et européennes soulignent (44) ainsi l'importance de :

1) réaliser de manière systématique les analyses nécessaires au suivi minimal de la reconstitution immunologique chez ces patients traités par ACH pour MAI

2) conserver des échantillons supplémentaires prélevés chez ces patients avant et après ACH pour permettre la recherche de marqueurs prédictifs de la réponse clinique et contribuer ainsi à développer des protocoles d'ACH personnalisés.

Méthodologie et suivi

Cet atelier a été conduit selon la méthodologie des ateliers d'harmonisation des pratiques de la SFGM-TC (45).

Le groupe de travail MATHEC (Maladies auto-immunes et thérapie cellulaire, www.mathec.com), au sein de la SFGM-TC, a réuni des spécialistes francophones d'horizons différents : hématologues (LT, CCL, ZM) et internistes (DF, MP, GP) experts dans la procédure d'autogreffe de CH dans les maladies auto-immunes, différents experts dans le monitoring immunologique après thérapie cellulaire (SL) et dans l'établissement de collections biologiques (CF et ER), et une coordinatrice d'études cliniques (PL).

Les recommandations européennes pour le suivi immunologique et la constitution de la collection biologique avant et après ACH pour MAI, précédemment publiées par les membres de l'«Autoimmune Working Party» (ADWP) de l'EBMT (44), ont servi de référence au cours de ce travail. Les journées du 24 et 25 septembre 2020 ont permis d'établir les modalités d'application et de mises en œuvre de ces recommandations à l'échelle nationale, selon les données récentes de la littérature, les pratiques cliniques françaises et la réalité de terrain en termes de coûts associés aux analyses de suivi immunologiques et de collection biologique.

Recommandations de l'atelier

[Evaluation de la réponse immune avant et après autogreffe de cellules hématopoïétiques \(ACH\) pour maladies auto-immunes \(MAI\) : Quelles sont les analyses à effectuer pour toutes les MAI? Quelles sont les analyses spécifiques pour chaque MAI?](#)

Conformément aux Bonnes Pratiques Cliniques (BPC) et aux recommandations européennes, le suivi immunologique de chaque patient traité par ACH pour MAI doit être évalué à l'état basal (avant la procédure de mobilisation) et après l'ACH à 3, 6 et 12 mois pendant la première année, puis tous les 6 mois entre 1 an et 5 ans. Ces analyses, communes à l'ensemble des MAI et réalisées en soin courant, doivent comprendre, *a minima*, l'immunophénotypage par cytométrie en flux des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) pour mesurer l'évolution des taux de lymphocytes T CD3+, CD4+ et CD8+, de lymphocytes B (CD19+), des lymphocytes NK (CD16+ et/ou CD56+) et des macrophages (CD14+ et/ou CD16+), ainsi que le dosage des immunoglobulines (IgG, IgA et IgM) dans le sérum.

En fonction de chaque maladie auto-immune traitée par ACH, il est également recommandé que certains marqueurs immunologiques spécifiques des pathologies soient analysés de manière complémentaire au suivi général (table 1).

Quelles sont les recommandations concernant les échantillons supplémentaires à conserver pour la recherche ? Pour quels types d'analyse ?

Les analyses minimales recommandées ci-dessous devront pouvoir être complétées, en fonction des questions posées par un protocole de recherche translationnelle permettant de développer la compréhension du mécanisme d'action de l'ACH dans les MAI et d'identifier des facteurs prédictifs de la réponse des patients à ce traitement. Il est ainsi nécessaire d'anticiper la conservation d'échantillons biologiques supplémentaires prélevés chez les patients MAI avant et après ACH au cours de leur suivi codifié (15–19) pour pouvoir mener ces recherches ultérieurement (table 2).

Analyses envisagées et matériel biologique nécessaire

Analyses cellulaires

L'immunophénotypage minimal sanguin réalisé en soins courants pourra être complété par la quantification des différentes sous-populations lymphocytaires et autres cellules mononucléées (macrophages/monocytes, cellules dendritiques). Il pourra s'agir notamment d'effectuer ou de compléter les analyses déjà publiées, de suivre l'évolution des niveaux d'expression des marqueurs d'activation des différentes sous-populations lymphocytaires selon leur état de différenciation (cellules naïves, mémoires, effectrices), ou de mesurer leurs capacités régulatrices (LTreg, LBreg), au cours du suivi post-ACH. Les marqueurs utilisés seront définis en amont de la recherche en fonction des connaissances accessibles dans la littérature.

Recommandations. Ces analyses, réalisées par cytométrie en flux, nécessiteront des PBMC isolées sur sang frais, qui seront ensuite, selon les objectifs et les critères d'évaluation de la recherche :

- manipulées immédiatement (ou dans les 24h) après leur prélèvement chez les patients (sans congélation préalable),
- ou manipulées secondairement après avoir été conservées en azote liquide dans un solvant de diméthylsulfoxyde (DMSO) .

Analyses moléculaires

En sus de l'immunophénotypage et l'étude des sous-populations lymphocytaires, des analyses complémentaires nécessitant du matériel moléculaire (ADN, ARN, protéines) pourront permettre de compléter la compréhension de la réponse immunologique des patients après l'ACH (cf introduction).

L'impact de la réactivation de la fonction thymique et de la moelle osseuse sur la production respective *de novo* de LT et de LB pourra notamment être analysée par la quantification, par PCR, des cercles d'excision d'ADN TREC et KREC intracellulaires générés par les LT et LB au cours de leur maturation thymique et médullaire (24,26,31). L'analyse de la diversification du répertoire lymphocytaire T après la procédure d'ACH pourra nécessiter, comme précédemment décrit (24–26,28,30,31), le séquençage des ARNm transcrits à partir des locus TCR des LT. Le matériel moléculaire extrait des cellules du sang pourra permettre également, de manière générale, d'étudier d'autres marqueurs de la réponse à l'ACH, d'un point de vue génétique (ADN) (46), transcriptomique (ARN) (47), protéomique (protéines) ou épigénétique (méthylation ADN, acétylation histones ou étude des miARN) (48). De manière complémentaire, les

facteurs extracellulaires circulants dans le sang, comprenant les anticorps, les cytokines, les facteurs de croissance ou certains acides nucléiques, pourront également être analysés (47,49,50).

Recommandations. Les molécules d'ADN et les protéines issues des PBMC pourront facilement être extraites à partir de culots secs leucocytaires. L'ARN, sensible à la dégradation, sera préférentiellement extraite à partir de cellules vivantes (PBMC en DMSO). Les facteurs solubles circulants dans le sang seront dosés à partir du sérum ou du plasma en fonction de la molécule ciblée.

Prélèvements recommandés et échantillons dérivés destinés à la recherche

Après consentement écrit du patient à la collecte d'échantillons supplémentaires à des fins de recherche, nous recommandons la collecte et la conservation des échantillons suivants (table 2):

- 1) **Pour tous les patients traités par ACH pour MAI**, les produits dérivés suivants seront obtenus à partir du sang circulant: PBMC en DMSO, culots secs leucocytaires, plasma et sérum, dont les volumes et quantités recommandés sont renseignés dans la table 2. L'ensemble de ces échantillons devront être stockés à -196°C conformément aux recommandations de bonne pratique de la Haute Autorité de Santé « Cryopréservation de tissus, cellules et liquides biologiques issus du soin » (51). Le rythme de collecte recommandé est le suivant :
 - ✓ Lors de l'évaluation du patient avant autogreffe (à l'état basal dans les 3 mois précédant la mobilisation = M0),
 - ✓ A 6 et 12 mois (M6 et M12) post-ACH, puis une fois par an pendant 5 ans,
 - ✓ Au moment de la rechute ou de la progression le cas échéant selon sa définition clinique et le protocole d'analyse préalablement envisagé.

Il conviendra de s'assurer que le volume total de prélèvement sanguin nécessaire au suivi du patient et à l'obtention des dérivés sanguins collectés pour la recherche ne dépasse pas le volume maximal de sang pouvant être prélevé selon la réglementation en vigueur au moment du prélèvement (52).

- 2) **Pour les patients traités par ACH pour SEP ou PIDC**, 10 gouttes supplémentaires de LCR seront conservées si une ponction lombaire est réalisée pour le suivi clinique du patient. Cette quantité permettra d'effectuer des analyses de facteurs solubles (protéines) mais pas celles des cellules qui sont très rares dans le LCR. L'analyse cellulaire, pouvant nécessiter jusqu'à 80 gouttes de LCR, devra répondre à une question scientifique spécifique dans un protocole bien identifié (par rapport à une collection dite « de routine ») pour lequel le patient aura donné son consentement écrit. En sus d'un prélèvement avant ACH, le rythme de collecte recommandé après ACH est d'une fois par an pendant 3 ans.
- 3) **Pour les patients traités par ACH pour MC**, un prélèvement de selles (M0, M6, M12, M24 et M36) et 2 biopsies iléo-coliques (M0, entre M6 et M12, puis selon le suivi de routine) seront collectés et conservés à -80°C.

[Quelles sont les procédures nécessaires à l'établissement d'une collection biologique nationale issue de patients traités par autogreffe de moelle pour maladie auto-immune ?](#)

Du fait du faible nombre de patients autogreffés chaque année par ACH pour MAI en France (12 en 2018, 11 en 2019 et 10 en 2020 déclarés à l'EBMT), nous recommandons la mise en commun à l'échelon nationale des échantillons dédiés à la recherche issus de patients traités par ACH pour MAI en France, dans le cadre de la bio-collection MATHEC-SFGM-TC. Cette bio-collection, en cours de constitution par les différents centres experts de la France, permettra d'élargir le nombre d'échantillons disponibles pour une recherche définie, grâce au suivi par les différents participants d'un protocole unique national de manipulation et de conservation des échantillons.

3.1. Centres participants et centres de ressources biologiques

Bien qu'il s'agisse d'une procédure d'autogreffe de CH, les recommandations européennes et internationales soulignent l'importance de considérer les patients avec MAI et traités par ACH comme des patients allogreffés, compte-tenu de la sévérité de l'immunodépression pré-existante liée à la fois à la MAI sous-jacente, aux traitements immunosuppresseurs antérieurs reçus et aux atteintes d'organes. Il est donc recommandé que la procédure d'ACH soit réalisée dans un centre « accrédité JACIE » pour l'allogreffe de CH, garantissant une prise en charge simultanée tout au long du parcours de soins par les experts de greffe de moelle, de thérapie cellulaire et les spécialistes de la MAI considérée, selon des procédures bien codifiées avant et après la greffe, puis tout au long du suivi à long terme des patients (53,54). Nous recommandons donc que la collection biologique MATHEC-SFGM-TC soit réalisée par les centres de ressources biologiques (CRB) affiliés aux centres de greffes accrédités JACIE et appartenant au réseau de biobanking CRYOSTEM (www.cryostem.org). Les CRB devront être formés pour appliquer le protocole de collection biologique MATHEC-SFGM-TC, homogène et commun à tous les centres participants. Le stockage des échantillons sera assuré au sein de chaque CRB affilié à chaque centre participant.

3.2 Patients

Les échantillons de la collection biologique nationale MATHEC-SFGM-TC seront issus de patients adultes (plus de 18 ans), atteints de maladies auto-immunes et traités par ACH, dont les critères d'éligibilité au traitement par ACH sont décrits dans les recommandations nationales précédemment publiées (15–19). Chaque patient aura signé le consentement informé de participation à la biocollection MATHEC-SFGM-TC.

Association des données des échantillons biologiques des patients avec leurs données cliniques

Afin de cibler un profil prédéterminé de patients à étudier pour un protocole de recherche établi, et d'évaluer les échantillons disponibles pour ces patients, il est nécessaire de pouvoir associer les informations des échantillons biologiques des patients à leurs données cliniques. Les données cliniques associées au matériel biologique définies table 3 pour chaque patient seront ainsi rapportées dans la base de données cliniques et biologiques MATHEC-SFGM-TC (www.mathec.com) mise en place depuis 2019 et accessible pour chaque centre en charge de patients autogreffés pour MAI. Le recueil et le traitement des données des patients

(cliniques et biologiques) seront réalisés de manière à protéger l'identité de ces patients. Tout transfert de données cliniques ou biologiques sera effectué sous condition des garanties juridiques appropriées permettant d'assurer les droits des patients concernant la protection de leurs données. L'objectif est de favoriser les études translationnelles sur une cohorte nationale dans cette population restreinte, mais progressivement croissante de patients (n=155 patients en France traités par ACH déclarés dans le registre de l'EBMT depuis 1997).

Déclaration d'intérêts

Les auteurs ne déclarent pas de conflit d'intérêt

La SFGM-TC remercie les partenaires industriels pour leur soutien financier qui ont permis la réussite de cette onzième édition des ateliers d'harmonisation des pratiques : ACCORD, AMGEN, ASTELLAS, BIOTEST, BLUEBIRDBIO, INCYTE, JAZZ PHARMACEUTICALS, MACOPHARMA, MALLINCKRODT THERAKOS, MSD FRANCE, SANOFI GENZYME.

Références

1. Hachulla E, Agard C, Allanore Y, Avouac J, Bader-Meunier B, Belot A, et al. Protocole National de Diagnostic et de Soins sur la Sclérodémie Systémique. Haute Autorité de Santé. 2017;140.
2. Montalban X, Gold R, Thompson AJ, Otero-Romero S, Amato MP, Chandraratna D, et al.ECTRIMS/EAN Guideline on the pharmacological treatment of people with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2018 Feb;24(2):96–120.
3. Joint Task Force of the EFNS and the PNS. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society--First Revision. *J Peripher Nerv Syst*. 2010 Mar;15(1):1–9.
4. ALD n° 24 - Maladie de Crohn [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cited 2020 Dec 10]. Available from: https://www.has-sante.fr/jcms/c_671094/fr/ald-n-24-maladie-de-crohn
5. Snowden JA, Saccardi R, Allez M, Ardizzone S, Arnold R, Cervera R, et al. Haematopoietic SCT in severe autoimmune diseases: updated guidelines of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2012 Jun;47(6):770–90.
6. Farge D, Marolleau JP, Zohar S, Marjanovic Z, Cabane J, Mounier N, et al. Autologous bone marrow transplantation in the treatment of refractory systemic sclerosis: early results from a French multicentre phase I-II study. *Br J Haematol*. 2002 Dec;119(3):726–39.
7. van Laar JM, Farge D, Sont JK, Naraghi K, Marjanovic Z, Larghero J, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation vs intravenous pulse cyclophosphamide in diffuse cutaneous systemic sclerosis: a randomized clinical trial. *Jama*. 2014 Jun 25;311(24):2490–8.
8. Henes J, Oliveira MC, Labopin M, Badoglio M, Scherer HU, Del Papa N, et al. Autologous stem cell transplantation for progressive systemic sclerosis: a prospective non-interventional study from the European

- Society for Blood and Marrow Transplantation Autoimmune Disease Working Party. *Haematologica*. 2020 Jan 16;
9. Muraro PA, Pasquini M, Atkins HL, Bowen JD, Farge D, Fassas A, et al. Long-term Outcomes After Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Multiple Sclerosis. *JAMA Neurol*. 2017 Apr;74(4):459–69.
 10. Hawkey CJ, Allez M, Clark MM, Labopin M, Lindsay JO, Ricart E, et al. Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Refractory Crohn Disease: A Randomized Clinical Trial. *Jama*. 2015 Dec 15;314(23):2524–34.
 11. Burt RK, Balabanov R, Tavee J, Han X, Sufit R, Ajroud-Driss S, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Neurol*. 2020 Nov;267(11):3378–91.
 12. Alexander T, Samuelson C, Daikeler T, Henes J, Akil M, Skagerlind L, et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) for anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis: a retrospective survey of patients reported to European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) registry. *Bone Marrow Transplant*. 2020 Jul;55(7):1512–5.
 13. Passweg JR, Rabusin M. Hematopoietic stem cell transplantation for immune thrombocytopenia and other refractory autoimmune cytopenias. *Autoimmunity*. 2008 Dec;41(8):660–5.
 14. Tyndall A. Application of autologous stem cell transplantation in various adult and pediatric rheumatic diseases. *Pediatr Res*. 2012 Apr;71(4 Pt 2):433–8.
 15. Farge D, Terriou L, Badoglio M, Cras A, Desreumaux P, Hadj-Khelifa S, et al. [Autologous stem cell transplantation for autoimmune diseases: recommendations from the SFGM-TC]. *Pathol Biol*. 2014 Aug;62(4):204–8.
 16. Pagnet G, Castilla-Llorente C, Puyade M, Terriou L, Badoglio M, Deligny C, et al. Indications et suivi des autogreffes de cellules souches hématopoïétiques dans les maladies auto-immunes et auto-inflammatoires : recommandations de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). *Bulletin du Cancer*. 2017 Dec 1;104(12, Supplement):S169–80.
 17. Zephir H, Puyade M, Gueguen A, Michel L, Terriou L, Dive D, et al. [Indications and follow-up for autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis: Guidelines from the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC) in association with the Francophone Society of Multiple Sclerosis]. *Bull Cancer*. 2019 Jan;106(1S):S92–101.
 18. Puyade M, Labeyrie C, Badoglio M, Cintas P, Guenounou S, Lansiaux P, et al. [Indication of autologous stem cell transplantation in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: Guidelines from the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC)]. *Bull Cancer*. 2019 Dec 7;
 19. Puyade M, Treton X, Alric L, Badoglio M, Castilla Llorente C, Fotsing G, et al. Crohn's disease and autologous hemapoietic cell transplantation : guidelines from the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC). *Bulletin Du Cancer*. in press;
 20. McGonagle D, McDermott MF. A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Med*. 2006 Aug;3(8):e297.
 21. Arruda LC, Clave E, Moins-Teisserenc H, Douay C, Farge D, Toubert A. Resetting the immune response after autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases. *Curr Res Transl Med*. 2016 Apr;64(2):107–13.
 22. Alexander T, Farge D, Badoglio M, Lindsay JO, Muraro PA, Snowden JA, et al. Hematopoietic stem cell therapy for autoimmune diseases - Clinical experience and mechanisms. *J Autoimmun*. 2018;92:35–46.
 23. Fuschiotti P. T cells and cytokines in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2018/09/21 ed. 2018 Nov;30(6):594–9.

24. Farge D, Henegar C, Carmagnat M, Daneshpouy M, Marjanovic Z, Rabian C, et al. Analysis of immune reconstitution after autologous bone marrow transplantation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2005 May;52(5):1555–63.
25. Baraut J, Grigore EI, Jean-Louis F, Khelifa SH, Durand C, Verrecchia F, et al. Peripheral blood regulatory T cells in patients with diffuse systemic sclerosis (SSc) before and after autologous hematopoietic SCT: a pilot study. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Mar;49(3):349–54.
26. Arruda LCM, Malmegrim KCR, Lima-Júnior JR, Clave E, Dias JBE, Moraes DA, et al. Immune rebound associates with a favorable clinical response to autologous HSCT in systemic sclerosis patients. *Blood Advances*. 2018 23;2(2):126–41.
27. Servaas NH, Zaaaraoui-Boutahar F, Wichers CGK, Ottria A, Chouri E, Affandi AJ, et al. Longitudinal analysis of T-cell receptor repertoires reveals persistence of antigen-driven CD4+ and CD8+ T-cell clusters in systemic sclerosis. *J Autoimmun*. 2020 Dec 8;117:102574.
28. Farge D, Arruda LC, Brigant F, Clave E, Douay C, Marjanovic Z, et al. Long-term immune reconstitution and T cell repertoire analysis after autologous hematopoietic stem cell transplantation in systemic sclerosis patients. *J Hematol Oncol*. 2017 Jan 19;10(1):21.
29. Sellner J, Rommer PS. Immunological consequences of “immune reconstitution therapy” in multiple sclerosis: A systematic review. *Autoimmun Rev*. 2020 Apr;19(4):102492.
30. Muraro PA, Douek DC, Packer A, Chung K, Guenaga FJ, Cassiani-Ingoni R, et al. Thymic output generates a new and diverse TCR repertoire after autologous stem cell transplantation in multiple sclerosis patients. *J Exp Med*. 2005 Mar 7;201(5):805–16.
31. Muraro PA, Robins H, Malhotra S, Howell M, Phippard D, Desmarais C, et al. T cell repertoire following autologous stem cell transplantation for multiple sclerosis. *J Clin Invest*. 2014 Mar;124(3):1168–72.
32. Abrahamsson SV, Angelini DF, Dubinsky AN, Morel E, Oh U, Jones JL, et al. Non-myeloablative autologous haematopoietic stem cell transplantation expands regulatory cells and depletes IL-17 producing mucosal-associated invariant T cells in multiple sclerosis. *Brain*. 2013 Sep;136(Pt 9):2888–903.
33. Arruda LCM, de Azevedo JTC, de Oliveira GLV, Scortegagna GT, Rodrigues ES, Palma PVB, et al. Immunological correlates of favorable long-term clinical outcome in multiple sclerosis patients after autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Clinical Immunology*. 2016 Aug 1;169:47–57.
34. Harris KM, Lim N, Lindau P, Robins H, Griffith LM, Nash RA, et al. Extensive intrathecal T cell renewal following hematopoietic transplantation for multiple sclerosis. *JCI Insight*. 2020 Jan 30;5(2).
35. Chi L-J, Wang H-B, Wang W-Z. Impairment of circulating CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Peripher Nerv Syst*. 2008 Mar;13(1):54–63.
36. Schneider-Hohendorf T, Schwab N, Uceyler N, Gobel K, Sommer C, Wiendl H. CD8+ T-cell immunity in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Neurology*. 2012 Feb 7;78(6):402–8.
37. Pockley AG, Lindsay JO, Foulds GA, Rutella S, Gribben JG, Alexander T, et al. Immune Reconstitution After Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Crohn’s Disease: Current Status and Future Directions. A Review on Behalf of the EBMT Autoimmune Diseases Working Party and the Autologous Stem Cell Transplantation In Refractory CD—Low Intensity Therapy Evaluation Study Investigators. *Front Immunol* [Internet]. 2018 Apr 4 [cited 2020 Sep 30];9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5893785/>
38. Clerici M, Cassinotti A, Onida F, Trabattoni D, Annaloro C, Della Volpe A, et al. Immunomodulatory effects of unselected haematopoietic stem cells autotransplantation in refractory Crohn’s disease. *Dig Liver Dis*. 2011 Dec;43(12):946–52.

39. Bourhis L, Corraliza A, Auzolle C, Ricart E, Hawkey C, Lindsay J, et al. Resetting of the Mucosal T Cell Repertoire after Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Refractory Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2017 Apr 1;152:S613–4.
40. D'Cruz DP, Khamashta MA, Hughes GR. Systemic lupus erythematosus. *The Lancet*. 2007 Feb 17;369(9561):587–96.
41. Alexander T, Thiel A, Rosen O, Massenkeil G, Sattler A, Kohler S, et al. Depletion of autoreactive immunologic memory followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory SLE induces long-term remission through de novo generation of a juvenile and tolerant immune system. *Blood*. 2009 Jan;113(1):214–23.
42. de Oliveira GLV, Malmegrim KCR, Ferreira AF, Tognon R, Kashima S, Couri CEB, et al. Up-regulation of fas and fasL pro-apoptotic genes expression in type 1 diabetes patients after autologous haematopoietic stem cell transplantation. *Clin Exp Immunol*. 2012 Jun;168(3):291–302.
43. Wu Q, Pesenacker AM, Stansfield A, King D, Barge D, Foster HE, et al. Immunological characteristics and T-cell receptor clonal diversity in children with systemic juvenile idiopathic arthritis undergoing T-cell-depleted autologous stem cell transplantation. *Immunology*. 2014 Jun;142(2):227–36.
44. Alexander T, Bondanza A, Muraro PA, Greco R, Saccardi R, Daikeler T, et al. SCT for severe autoimmune diseases: consensus guidelines of the European Society for Blood and Marrow Transplantation for immune monitoring and biobanking. *Bone Marrow Transplant*. 2015 Feb;50(2):173–80.
45. Tipton R, Yakoub-Agha I. [How we harmonize HSCT clinical practices among the SFGM-TC centers]. *Bull Cancer*. 2016 Nov;103(11S):S193–7.
46. Assassi S, Radstake TR, Mayes MD, Martin J. Genetics of scleroderma: implications for personalized medicine? *BMC Medicine*. 2013 Jan 11;11(1):9.
47. Assassi S, Wang X, Chen G, Goldmuntz E, Keyes-Elstein L, Ying J, et al. Myeloablation followed by autologous stem cell transplantation normalises systemic sclerosis molecular signatures. *Ann Rheum Dis*. 2019 Oct;78(10):1371–8.
48. Dolcino M, Pelosi A, Fiore PF, Patuzzo G, Tinazzi E, Lunardi C, et al. Gene Profiling in Patients with Systemic Sclerosis Reveals the Presence of Oncogenic Gene Signatures. *Front Immunol [Internet]*. 2018 [cited 2021 Jan 21];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.00449/full>
49. Murgia F, Svegliati S, Poddighe S, Lussu M, Manzin A, Spadoni T, et al. Metabolomic profile of systemic sclerosis patients. *Sci Rep*. 2018 May 16;8(1):7626.
50. Michel L, Farge D, Baraut J, Marjanovic Z, Jean-Louis F, Porcher R, et al. Evolution of serum cytokine profile after hematopoietic stem cell transplantation in systemic sclerosis patients. *Bone Marrow Transplant*. 2016 Aug;51(8):1146–9.
51. Cryopréservation de tissus, cellules et liquides biologiques issus du soin [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cited 2020 Nov 10]. Available from: https://www.has-sante.fr/jcms/c_923153/fr/cryopreservation-de-tissus-cellules-et-liquides-biologiques-issus-du-soin
52. Arrêté du 12 avril 2018 fixant la liste des recherches mentionnées au 2° de l'article L. 1121-1 du code de la santé publique [Internet]. Available from: <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000036805796/2021-01-29/>
53. Snowden JA, McGrath E, Duarte RF, Saccardi R, Orchard K, Worel N, et al. JACIE accreditation for blood and marrow transplantation: past, present and future directions of an international model for healthcare quality improvement. *Bone Marrow Transplant [Internet]*. 2017 Mar 27; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2834641

54. Snowden JA, Badoglio M, Labopin M, Giebel S, McGrath E, Marjanovic Z, et al. Evolution, trends, outcomes, and economics of hematopoietic stem cell transplantation in severe autoimmune diseases. *Blood Adv.* 2017 26;1(27):2742–55.

Table 1. Recommandations pour le suivi immunologique en soin courant des patients traités par ACH pour MAI*

* Sont détaillés les examens spécifiques réalisés pour les patients atteints de Sclérodémie Systémique, Sclérose en Plaques, Polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique, et Maladie de Crohn (MC), correspondant aux MAI les plus couramment traitées par ACH dans leurs formes sévères.

** M0 : dans les 3 mois précédant la mobilisation

Abbréviations : Anti-RNP : anti-ribonucléoprotéine, CMF : cytométrie en flux, MAIT= Mucosal-associated invariant T cells, PBMC : Cellules mononucléées du sang périphérique

		Sclérodémie Systémique	Sclérose en Plaques	Polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique	Maladie de Crohn
Sang périphérique <i>M0**, M3, M6, M12, tous les 6 mois jusqu'à 5 ans</i>	PBMC	Immunophénotypage (CMF) minimal : LT (CD3, CD4, CD8), LB (CD19), NK (CD16, CD56), macrophages (CD14)			
	Sérum	IgG, IgA, IgM			
		Auto-anticorps: Antinucléaires, anti-RNP, anti-centromères, anti-topoisomerase-I, anti-RNA polymerase III			
Selles <i>M0**, M3, M6, M12, tous les 6 mois jusqu'à 5 ans</i>				Calprotectine	
Biopsies iléo-colique <i>M0**, M6-12, + selon suivi de routine</i>				Histologie + immunohistochimie (typage infiltrat inflammatoire)	

Table 2. Recommandation pour l'établissement d'une collection biologique issue de patients traités par ACSH pour MAI

¹ M0 correspond au temps de collection lors de l'évaluation basale du patient, dans les 3 mois précédant la mobilisation.

² La rechute ou la progression est défini comme le moment où un nouveau traitement immunosuppresseur est réintroduit, en dehors d'un traitement d'entretien.

³ Echantillons résiduels ou additionnels à un examen nécessaire au suivi clinique du patient.

Abréviations : DMSO : diméthylsulfoxyde, EDTA : Éthylènediaminetétraacétique, LB : lymphocytes B, LT : lymphocytes T, PBMC : Cellules mononucléées du sang périphérique,

<i>Prélèvement</i>	<i>Rythme de collection</i>	<i>Contenant/Volume</i>	<i>Echantillons dérivés</i>	<i>Molécules analysables</i>	<i>Volume/quantité échantillons dérivés</i>	<i>Stockage</i>
Sang	M0 ¹ , M6, M12, M24, M36, M48, M60 + en cas de rechute ou progression ²	Tube sec : 7ml	Serum	Molécules sécrétées : protéines, cytokines, facteurs de croissance, auto-anticorps, miARN	2-4 aliquots (1ml/tube)	Azote liquide
		Tube EDTA : 28ml	Plasma		2-4 aliquots (1ml/tube)	Azote liquide
		- 1/4 : plasma + culots secs leucocytaires	Culots secs leucocytaires	ADN (TREC, KREC, génétique, épigénétique) Protéines intra-cellulaires (protéomique)	2-4 aliquots (2-4.10 ⁶ cellules/tube)	Azote liquide
		- 3/4 : PBMC DMSO	PBMC DMSO	Cellules (Cytométrie, Répertoire TCR), ARN (Répertoire TCR, Transcriptomique, miARN)	4-10 aliquots (8-10.10 ⁶ cellules/tube)	Azote liquide
Liquide cérébro-spinal ³ (SEP et PIDC)	M0 ¹ , M12, M24, M36	Tube sec stérile : 10 gouttes de LCR	Centrifugation et conservation protéiques	Protéomique, Biomarqueurs neuronaux : Bandes oligoclonales (SEP), Dissociation albumino-cytologique (PIDC)	2 aliquots	Azote liquide
Selles (MC)	M0 ¹ , M6, M12, M24, M36	Pot de selles : quelques mg		Séquençage shotgun du microbiote		-80°C
Biopsies iléo-coliques ³ (MC)	M0 ¹ , M6-12, +selon suivi de routine	Cryotubes – 2 biopsies		Transcriptomique		-80°C

Table 3. Données minimales des échantillons biologiques à recueillir et à associer avec les données cliniques du patient

<i>Date</i>	<i>Serum</i>	<i>Plasma</i>	<i>Culots secs leucocytaires</i>	<i>PBMC DMSO</i>
JJ/MM/AAAA	Nombre initial de tubes aliquotés	Nombre initial de tubes aliquotés	Nombre initial de tubes aliquotés	Nombre initial de tubes aliquotés
	Volume/aliquot (ml)	Volume/aliquot (ml)	Nombre de cellules/aliquot (10 ⁶)	Nombre de cellules/aliquot (10 ⁶)
	Nombre de tubes cédés (ie pour une étude)	Nombre de tubes cédés (ie pour une étude)	Nombre de tubes cédés (ie pour une étude)	Nombre de tubes cédés (ie pour une étude)