

# Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Numération CD34

Cellules souches CD34 **03C341**

*Décembre 2004*

Stéphanie ALBAREDE et Anne GUYARD (Afssaps)  
Bernard DRENOU (Hôpital Pontchaillou - Rennes)

Expédition : 30 septembre 2003

Clôture : 27 octobre 2003

Edition des compte-rendus individuels : 22 décembre 2003

Paramètres contrôlés : **03S1 – Numération CD34** (sang de cordon)  
**03S2 – Numération CD34** (sang périphérique)

Nombre de laboratoires concernés\* : 74

Nombre de laboratoires participants\*\* : 63

\* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer les analyses concernées par l'envoi

\*\*Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

## Résumé de l'opération

Les laboratoires devaient effectuer la numération des cellules souches CD34, en pourcentage et en valeur absolue, sur les deux échantillons 03S1 (sang de cordon stabilisé) et 03S2 (sang périphérique stabilisé). Au vu des résultats du sang 03S2, il leur était demandé de rendre un avis sur la pertinence de réaliser une collection de cytophérèse. Le bordereau-réponse comportait également des items à renseigner sur les méthodes utilisées.

Les résultats des 48 réponses exploitables fournies par les participants montrent pour le sang de cordon 03S1, une moyenne de 0,7% correspondant à une moyenne de 29 cellules CD34+ /  $\mu\text{l}$  et pour le sang périphérique 03S2, une moyenne de 0,15% soit 5 cellules CD34+ /  $\mu\text{l}$ . Concernant les « réponses au clinicien » sur le sang 03S2, la majorité des laboratoires (84 %) propose de ne pas réaliser de cytophèreses et 12 % des laboratoires répondent « variable, en fonction du contexte clinique » avec un résultat de CD34 toujours inférieur à 10 /  $\mu\text{l}$ .

Cette opération 03C341 fait le point sur les méthodes utilisées en 2003 : le double marquage CD45-CD34 et le fluorochrome phycoérythrine sont majoritairement utilisés, un tiers des laboratoires travaille en simple plateforme à l'aide de billes de calibration, les clones d'anticorps anti-CD34 HPCA2 et 581 sont employés à parts égales et la moitié des laboratoires passent un contrôle de qualité interne.

## Numération CD34 Echantillons 03S1 et 03S2

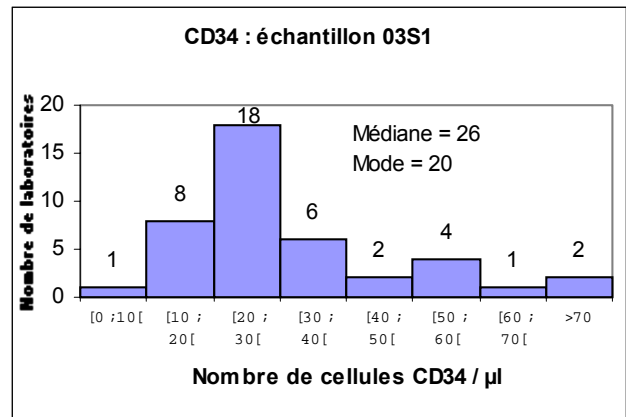
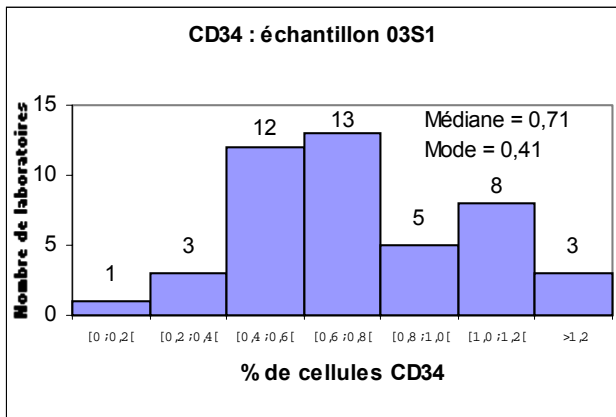
### Résultats des participants

Le tableau I et les figures 1 à 4 présentent les résultats des 48 réponses fournies par les participants, les tableaux II à VII, les méthodes, automates et réactifs utilisés.

**tableau I** : Résultats de la numération CD34 (obtenus sur des effectifs tronqués)

	Résultats en pourcentage de cellules CD34 par leucocytes totaux				Résultats en nombre absolu de cellules CD34 / $\mu\text{l}$			
	n	m	s	CV	n	m	s	CV
<b>03S1</b> : Sang de cordon	40	0,704	0,236	33,5	40	29,1	13,96	48,1
<b>03S2</b> : Sang périphérique	40	0,151	0,043	28,3	41	5,4	2,41	44,7

**figures 1 et 2** : histogrammes de l'ensemble des résultats de l'échantillon 03S1



figures 3 et 4 : histogrammes de l'ensemble des résultats de l'échantillon 03S2

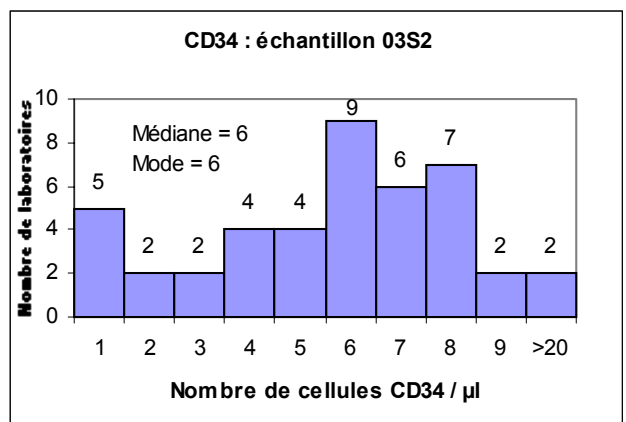
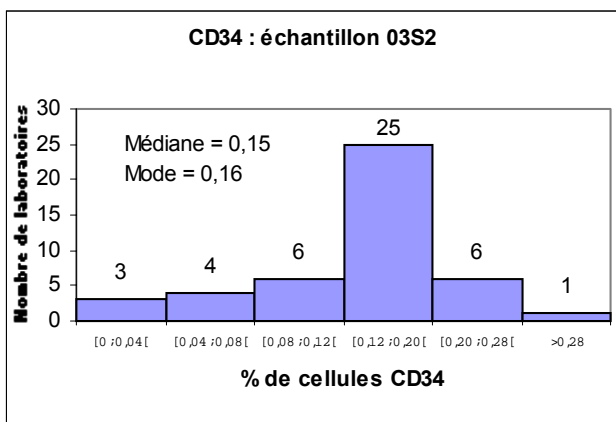


tableau II : Cytomètre de flux

Cytomètre de flux	Effectif
Beckman Coulter Epics XL	18
Beckman Coulter FC500	2
Becton Dickinson FACSCalibur	22
Becton Dickinson FACSscan	5
Becton Dickinson FACSsort	1

tableau III : Lyse

Lyse	Effectif
Becton Dickinson FACS Lysing	14
Immunotech Lyse et Fixation IOTest	5
Immunotech Optilyse B/C	1
Lyse NH4Cl	22
Beckman Coulter Immunoprep	3
Autres ou non précisé	3

**tableau IV** : Marquage

Marquage	Effectif
Simple marquage CD34	3
Double marquage CD45-CD34	41
Autres ou non précisé	4

**tableau V** : Elaboration des valeurs absolues

Elaboration des valeurs absolues		Effectif
Double plateforme ( <i>cytomètre et automate de numération</i> )	Multiplication du % CD34 par le nombre de leucocytes obtenu par l'automate de numération	26
Simple plateforme	Beckman Coulter Stemkit	10
	Becton Dickinson Pro count	6
	Multiplication du % CD34 par le nombre de leucocytes obtenu par comptage manuel	2
	Valeurs absolues non fournies	4

**tableau VI** : Anticorps anti-CD34 : clone et fluorochrome

Clone	Fluorochrome	Distributeur	Effectif
581	Phycoérythrine	Beckman Coulter	17
581	Phycoérythrine	Autres ou non précisé	3
HPCA2 (8G12)	Phycoérythrine	Becton Dickinson	22
HPCA2 (8G12)	Autres ou non précisé	Becton Dickinson	2
HPCA2 (8G12)	FITC	Becton Dickinson	1
Qbend 10	Phycoérythrine	Beckman Coulter	1
Autres	Phycoérythrine	Beckman Coulter	2

**tableau VII** : Contrôle de qualité interne

CQI	Effectif
Hycl Status Flow pro	15
Beckman Coulter Stem Trol	5
Autres	4
Pas de CQI contenant des CD34	24

## Cas clinique - échantillon 03S2

A la question « Estimez-vous le prélèvement 03S2 satisfaisant dans un objectif de collection de cytophérése? », les biologistes pouvaient répondre « non, certainement », « oui, certainement » ou « variable, en fonction du contexte clinique ». La répartition des 43 réponses (tableau VIII) montre une majorité de « non ». Chacune des réponses « non » ou « variable » correspond à une numération de cellules CD34+ inférieure à 10 /  $\mu$ l.

**tableau VIII** : Réponse au clinicien concernant l'échantillon 03S2

Réponse	Effectif	%	Nombre de cellules CD34+ / $\mu$ l
Non, certainement	36	83,7	< 10
Oui, certainement	2	4,7	-
Variable, en fonction du contexte clinique	5	11,6	< 10

## Commentaires

Au terme de la clôture de l'opération 03C341 qui a comporté 74 envois comprenant chacun un sang de cordon (échantillon 03S1) et un sang périphérique (échantillon 03S2), 63 réponses ont été enregistrées dont 48 résultats.

### 1 - Résultats

#### 1 -1 - Analyses descriptives

Comme par le passé, les sociétés Beckman Coulter d'une part et Becton Dickinson d'autre part se partagent les appareillages avec respectivement 20 et 28 utilisateurs de cytomètres.

Il en va de même pour les différents réactifs :

- Lyse : en plus des réactifs de ces deux distributeurs, 22 laboratoires annoncent utiliser une lyse NH4Cl.
- Marquage : le double marquage CD45-CD34 est le fait de la majorité des laboratoires, seuls trois laboratoires travaillent en simple marquage CD34.
- Les valeurs absolues sont encore majoritairement élaborées à l'aide d'une règle de trois entre nombre de leucocytes déterminé par un automate et pourcentage obtenu en cytométrie (26 laboratoires). Cependant 16 laboratoires utilisent Stem-Kit (Beckman Coulter) ou Procount (Becton Dickinson).
- Les anticorps monoclonaux sont majoritairement l'HPCA2 de Becton Dickinson (25 laboratoires) ou le clone 581 de Beckman Coulter (20 laboratoires) ; le CD34 est le plus souvent couplé à la phycoérythrine (45 réponses sur 48).
- Vingt quatre laboratoires déclarent utiliser un contrôle de qualité interne ; il s'agit 15 fois du Statusflow Pro (Hycel) et 5 fois du Stem Trol (Beckman Coulter). Vingt quatre laboratoires soit 50 % n'utilisent pas de tels contrôles.

#### 1 - 2 - Résultats obtenus

Sur les 40 déterminations du pourcentage et du nombre absolu de cellules CD34, les résultats sont assez homogènes :

- pour le sang de cordon 03S1, on note une moyenne de 0,7% correspondant à une moyenne de 29 cellules CD34+ /  $\mu$ l
- pour le sang périphérique 03S2, la moyenne de 0,15% correspond à une moyenne de 5 cellules CD34+ /  $\mu$ l.

L'ensemble de ces résultats conduit à des coefficients de variation assez élevés de 33,5 % et de 28,3 % en pourcentage respectivement pour le sang de cordon et pour le sang périphérique et de 48,1 % et de 44,7 % pour les mêmes échantillons en valeur absolue.

Il n'y a pas de différence significative entre les différentes techniques.

#### 1 - 3 - La question

Concernant les « réponses au clinicien », la majorité des laboratoires (84 %) propose de ne pas réaliser de cytophères et 12 % des laboratoires répondent « variable, en fonction du contexte clinique » avec un résultat de CD34 toujours inférieur à 10 /  $\mu$ l.

## 2 - Discussion - Conclusions

Ce contrôle met en évidence une homogénéisation des pratiques entre les différents laboratoires par rapport aux premières opérations du Contrôle National Qualité qui ont débuté en 1997. Si l'on excepte les particularités au niveau de rares sites (utilisation d'un trieur, utilisation du simple marquage CD34, utilisation de fluorochrome différent de la phycoérythrine), trois points d'interrogation méritent néanmoins d'être soulignés :

- Sur le plan technique, le fait que peu de laboratoires (16) utilisent la détermination de la valeur absolue en simple plateforme est-il préjudiciable à la valeur des résultats obtenus? En effet, l'utilisation d'une procédure en double plateforme ne correspond pas aux règles de pratique communément admises. Suite à une analyse complémentaire des données de l'échantillon 03S1 (sang de cordon), il apparaît, dans le cadre de cette opération de contrôle, que les résultats diffèrent de façon significative ( $p = 0,01$ ) entre les centres qui utilisent une double plateforme (46,6 /  $\mu$ l) et ceux qui utilisent une simple plateforme (30,8 /  $\mu$ l).

- L'absence d'utilisation d'un contrôle interne, qui fait des partie des recommandations du GBEA, influence-t-il également la qualité du rendu des résultats? Dans les limites de cette opération de contrôle, il n'y a pas de différences entre les laboratoires utilisant ou non un tel contrôle.

- Concernant la réalisation des cytophèses, la réponse négative à la question, majoritaire (84 %), n'est-elle pas un peu « péremptoire » ne laissant pas la place à une discussion clinico-biologique? En effet, si pour des raisons économiques évidentes avec un chiffre moyen de CD34 à 5 cellules /  $\mu$ l (moyenne des participants sur l'échantillon de sang périphérique), il n'est pas licite la plupart du temps d'effectuer une cytophèse, il apparaît toujours intéressant d'envisager la possibilité de réaliser un tel prélèvement dans des situations cliniques particulières, certes rares, mais où l'autogreffe est une procédure thérapeutique qui pourrait apparaître majeure.