



## Améliorer les analyses de qualité réalisées sur les cellules souches destinées à la greffe

La greffe de cellules souches permet de traiter plus de 80 maladies, dont les cancers touchant les cellules sanguines, comme la leucémie. Riche en cellules souches, le sang de cordon – le sang contenu dans le cordon ombilical des bébés après leur naissance – est une ressource importante pour les personnes ayant besoin d’une greffe de cellules souches. La Banque de sang de cordon de la Société canadienne du sang est une banque nationale qui recueille, traite et congèle des unités de sang de cordon, et les met à la disposition des patients canadiens et étrangers qui ont besoin d’une greffe de cellules souches et recherchent un donneur compatible.

La qualité des cellules souches contenues dans les unités de sang de cordon doit être testée avant que celles-ci puissent être greffées. Pour ce faire, la Banque de sang de cordon utilise des échantillons – ou segments – de ces unités. Il s’agit de petites portions des unités qui peuvent être décongelées séparément. Les résultats des analyses permettent de décider si les cellules souches contenues dans les unités peuvent être greffées. Ces analyses comprennent la numération d’un certain type de cellules, ainsi que la viabilité de ces cellules, c’est-à-dire le pourcentage de cellules capables de se développer et de donner des cellules saines qui remplaceront les cellules endommagées du patient. Ces facteurs sont déterminés par un certain nombre de normes et de règlements.

L’étude dont il est question ici consistait à améliorer les analyses effectuées sur les échantillons d’unités de sang de cordon avant la greffe, c’est-à-dire de mettre au point une approche standardisée qui permette de réduire la perte de cellules tout en maintenant leur viabilité, afin que les unités de sang de cordon répondent au mieux aux critères de qualité et qu’elles puissent être utilisées pour des greffes.

---

**EN BREF : Grâce à l’amélioration des analyses des échantillons de sang de cordon décongelés, les chercheurs ont pu obtenir des résultats qui reflètent mieux la qualité des unités de sang de cordon. Cela pourrait donc augmenter le nombre d’unités disponibles pour la greffe.**

---

## Comment les chercheurs ont-ils procédé?

Pour mesurer la viabilité des cellules, les chercheurs ont utilisé la technique de cytométrie en flux, qui permet de détecter et de comptabiliser les cellules. On utilise pour cela l'immunomarquage pour identifier, à l'aide d'anticorps, les marqueurs exprimés à la surface des cellules ou au niveau des propriétés physiques des cellules, comme la taille ou l'intégralité de la membrane cellulaire. Pour être considérées comme viables, les cellules CD34+ et CD45+ de l'échantillon congelé doivent avoir un taux de viabilité supérieur ou égal à 70 % et à 40 %, respectivement. Le but de l'étude était donc de trouver un mode de préparation des cellules et des conditions de réalisation de la cytométrie en flux qui optimiseraient le taux de viabilité des cellules CD34+ et CD45+ – et plus particulièrement, celui des cellules CD45+, puisque celui des cellules CD34+ est généralement élevé et répond la plupart du temps aux critères de viabilité.

## Quelles sont les conclusions?

- La viabilité des cellules CD45+ a pu être améliorée lorsque l'immunomarquage a été réalisé 20 minutes après la décongélation des segments (comparé à 30 minutes).
- La préparation des échantillons comprend une étape de destruction (ou lyse) des globules rouges, au cours de laquelle on fait éclater la membrane des globules rouges contenus dans l'échantillon. Le raccourcissement de cette étape, voire sa suppression, a permis d'améliorer la viabilité des cellules CD45+. Bien que cette mesure ait également eu pour effet de diminuer le taux de viabilité des cellules CD34+, les chercheurs ont considéré qu'il s'agissait d'un problème technique qui pouvait être résolu en ajustant les paramètres de la cytométrie en flux.
- Grâce au raccourcissement de l'étape de lyse des globules rouges, et à sa réalisation à température ambiante ou à basse température, les chercheurs ont pu améliorer le taux de viabilité des cellules CD45+ sans aucune répercussion sur le taux de viabilité des cellules CD34+.

## Comment utiliser les résultats de cette étude?

Cette étude montre que les cellules CD45+ contenues dans le sang de cordon congelé sont sensibles à la lyse des globules rouges. Grâce au raccourcissement de cette étape, on a pu améliorer la viabilité des cellules CD45+, ce qui reflète davantage la qualité des unités de sang de cordon recueillies auprès des donneurs. Cela permettrait de réduire le nombre d'unités de sang de cordon qui ne répondent pas aux critères de qualité pour une greffe et, donc, d'augmenter le nombre d'unités de sang cordon disponibles pour la greffe.

Bien qu'il existe des normes bien définies régissant les banques de sang de cordon, les méthodes et les outils d'analyse de la qualité des échantillons de sang de cordon congelé avec la cytométrie en flux ne sont pas homogènes au sein des différents laboratoires. La Banque de sang de cordon de la Société canadienne du sang participe à des études internationales qui visent à résoudre ce manque d'homogénéité par l'établissement de recommandations et la collecte de données scientifiques qui permettront de revoir et de normaliser les processus.

**À propos de l'équipe de recherche :** Cette étude a été dirigée par **Nicolas Pineault**, chercheur en développement à la Société canadienne du sang et professeur au département de biochimie, de microbiologie et d'immunologie à l'Université d'Ottawa (Ont.). **Roya Pasha** est assistante de recherche principale dans le laboratoire de M. Pineault, et **Mike Halpenny** est responsable de la gestion de la Banque de sang de cordon de la Société canadienne du sang et de la fabrication des cellules souches, également à Ottawa.

**Le contenu de ce **Concentré de recherche** est tiré des publications suivantes :**

[1] Pasha R, Halpenny M, Pineault N. Overcoming the deceptively low viability of CD45+ cells in thawed cord blood unit segments. *Vox Sang.* 2019 Nov;114(8):876-883. doi: 10.1111/vox.12844.

[2] Fournier D, Lewin A, Simard C, Trépanier P, Néron S, Ballerini L, Codinach M, Elmoazzen H, Halpenny M, Kogler G, Liedtke S, Louis I, Azqueta Molluna C, Pineault N, Prasath A, Querol S, Saccardi R, Sutherland DR, Thérien C, Urbani S. Multi-laboratory assay for harmonization of enumeration of viable CD34+ and CD45+ cells in frozen cord blood units. *Cytotherapy.* 2019 Dec 27. pii: S1465-3249(19)30870-9. doi: 10.1016/j.jcyt.2019.10.009.

**Remerciements :** Cette étude a reçu une aide financière de la Société canadienne du sang, elle-même financée par le gouvernement fédéral (Santé Canada) et les ministères de la Santé provinciaux et territoriaux du Canada. Les opinions exprimées dans le présent document ne reflètent pas nécessairement celles de la Société canadienne du sang ou des gouvernements fédéral, provinciaux ou territoriaux du Canada. La Société canadienne du sang remercie les donateurs de sang qui ont rendu cette étude possible.

**Mots clés :** sang de cordon, cellules souches, greffe, analyses, qualité, test

**Vous voulez en savoir plus?** Contactez M. Pineault, par courriel, à [Nicolas.pineault@blood.ca](mailto:Nicolas.pineault@blood.ca).