

Régions

TECHNIQUE DE L'IMMUNOADSORPTION

Dr F. KRİAA — Ph. LABROCHERIE, C.I., — D. WEISS, I.D.E.

Unité d'immunoabsorption

Service de Néphrologie, Hémodialyse et Transplantation du C.H.U. de Bicêtre

DÉFINITION

L'immunoabsorption est une technique d'extraction extracorporelle des immunoglobulines de type G par adsorption de ces dernières sur des colonnes de Sépharose recouvertes de protéine A.

Ce traitement s'adresse :

— aux patients hyperimmunisés dont le profil immunitaire est un obstacle à la transplantation ;

(A noter que pour optimiser les résultats du traitement, le patient doit être transplanté dans les trois semaines qui suivent les séances d'immunoabsorption. Si le patient n'a pu bénéficier de la transplantation dans ce délai, un nouveau cycle de séances est alors repris.).

— Aux patients qui présentent une récurrence de protéinurie après transplantation rénale (hyalinose segmentaire et focale récidivante...);

— aux patients atteints d'une pathologie auto-immune par prolifération d'auto-anticorps ;

— aux patients atteints de certaines pathologies hématologiques (syndrome de Glanzmann, hémophilie, purpura thrombopénique idiopathique...);

— aux patients atteints d'autres pathologies (polyarthrite rhumatoïde, lupus...).

Ce traitement est très coûteux en matériel. Un traitement de 6 séances revient approximativement à 70 000,00 F. Le plus coûteux sont les colonnes de Sépharose qui représentent plus de 70 % du coût total. Cependant, ces colonnes sont réutilisables. Il est possible de les conserver et de les réutiliser pour un même patient dans la limite d'un an.

LA TECHNIQUE DE L'IMMUNOADSORPTION

Elle repose sur deux principes :

La plasmaphérèse et l'immunoabsorption.

La plasmaphérèse

Le plasma est séparé du sang du patient par centrifugation. Les éléments figurés sont immédiatement restitués au patient.

Le plasma est dérivé vers une paire de colonnes de sépharose afin d'y être traité. Ces colonnes ressemblent à un capillaire de dialyse, en plus petit.

L'adsorption des immunoglobulines

Les fibres des colonnes sont enduites de protéine « A ». Cette protéine est extraite de la membrane du staphylocoque COWANS. Elle est fixée sur un support biologique, la Sépharose. La protéine « A » a la particularité de capter, de façon prioritaire, les immunoglobulines de type G. Une fois liées à cette protéine, les immunoglobulines sont éluées par une solution acide (pH 2,2). Ensuite, une phase de tamponnage au bicarbonate (pH 7,4), permet de restituer le plasma traité au patient.

Rythme des séances

En moyenne 6 séances de 4 à 6 heures sont réalisées, un jour sur deux, en alternance avec les séances de dialyse. Le nombre et le rythme des séances est variable et adapté à chaque patient en fonction de son poids, des résultats biologiques (immunoélectrophorèse, protéinurie...),

de l'état clinique du patient et du volume estimé d'immunoglobulines à éliminer. Le calcul de ce volume est effectué selon la formule suivante :

Le volume de plasma représente 5 à 6 % du poids du patient. Supposons qu'un patient de 70 kg a environ 3 200 ml de plasma et une concentration d'IgG mesurée à 10 mg/ml. Le patient a donc une quantité totale de : $3\ 200 \times 10 = 32\ g$ d'IgG.

Si l'on veut abaisser la concentration initiale d'environ 70 % (de 10 mg/ml à 3 mg/ml), il faut enlever 22,5 g. Les colonnes ayant une capacité de fixation de 1 250 mg/cycle, il faut effectuer 18 cycles d'éluion ($22\ 500/1\ 250 = 18$). Un cycle d'éluion durant une dizaine de minutes, 18 cycles de 10 min = 180 min, soit 3 heures.

En fonction de l'état du patient, des incidents possibles, des phases de préparation, branchement et débranchement, la séance dure en réalité de 4 à 6 heures, en moyenne.

Déroulement de la séance

Le patient doit bénéficier d'une voie d'abord fiable et accessible. La plupart des patients traités sont porteurs d'une fistule artério-veineuse, car sont hémodialysés. L'accès à la fistule est réalisé avec une aiguille à fistule classique, 16 gauges.

Sinon, un cathéter à double lumière est posé pour la conduite des séances, et ce afin de pouvoir respecter un débit d'au moins 70 ml/min qu'impose la plasmaphérèse.

Le sang du patient est dérivé vers le générateur de plasmaphérèse (SPECTRA™ des laboratoires COBE). Le plasma y est séparé par centrifugation puis dirigé vers le générateur d'immunoabsorption pour y être traité. Les éléments sanguins sont immédiatement restitués au patient.

Le générateur d'immunoabsorption, le CITEM 10™ (Sté EXCORIM, filiale des la-

boratoires GAMBRO), est équipé de trois pompes rotatives qui fonctionnent de façon alternative. Une pompe à plasma, une pompe à solution acide et une pompe à solution bicarbonate. Le générateur CITEM 10™ est relié à une imprimante afin de pouvoir lire et conserver, sur papier, l'évolution des valeurs et des paramètres durant la séance.

Deux colonnes de protéines A sont disposées sur ce générateur à la manière des capillaires de dialyse. Le traitement du plasma se déroule selon le schéma suivant :

Le plasma produit par la plasmaphérèse arrive dans une poche. De cette poche part une tubulure vers la pompe à plasma. Cette pompe alimente la première colonne en plasma non traité. Au contact de la Sépharose, les immunoglobulines, constituées de chaînes polypeptidiques légères, sont captées par la protéine A. La pompe à éluant injecte l'acide dans cette colonne afin de décoller les immunoglobulines fixées sur la membrane.

Une fois le temps d'éluion écoulé, les immunoglobulines sont dirigées vers une poche dite « poche à fractions ». Le plasma acide est dirigé vers un sac à déchets qui est jeté une fois plein. La pompe à bicarbonate rince la colonne afin de restaurer un pH biologique à la quantité résiduelle de plasma restante. Lors de la restitution, le plasma est contrôlé par la sonde de contrôle du pH et est ensuite dirigé vers le générateur à plasmaphérèse pour restitution au patient, via le générateur de plasmaphérèse.

Cette sonde est primordiale, car elle assure le contrôle du coefficient d'acidité du plasma restitué au patient.

Un système complexe de double, voire triple tubulure, associé à une batterie de clamps alternatifs, permet de traiter en continu le plasma du patient. Chaque colonne est ainsi alimentée de façon alternative en plasma puis en éluant et en solution tampon. Lorsque la première

colonne est en cycle d'éluion, la seconde est en cycle d'adsorption. Un cycle complet dure dix minutes par colonne.

La consommation est de 3,5 litres de solution acide, et de 12 litres de solution bicarbonate pour une séance de 6 heures.

La circulation plasmatique au niveau du CITEM 10 est complexe et nécessite la mise en place de nombreuses tubulures, de nombreux clamps et capteurs.

Pour donner une idée de la complexité du circuit extracorporel installé, il faut approximativement 45 min à un infirmier rompu à cette technique, pour préparer les deux générateurs.

Au début de la séance, les paramètres à saisir au niveau du générateur d'immuno-adsorption sont :

- la date,
- le code du patient,
- son poids,
- sa taille,
- l'hématocrite,
- le sexe du patient,
- la durée de la séance.

Une fois acquis, ces paramètres sont validés. Sont ensuite saisis :

- la durée du cycle d'éluion et tamponnage,
- le calibrage des détecteurs de plasma,
- le calibrage des détecteurs de fraction Ig,
- le calibrage de l'électrode à pH.

À noter que le médecin effectue un contrôle rigoureux de l'ensemble du système avant le début de la séance. Ce contrôle porte sur la conformité de l'installation du circuit extracorporel, sur la conformité des données programmées et des résultats des valeurs affichées.

LE RÔLE DE L'INFIRMIER EN IMMUNOADSORPTION

Au vu de la complexité du matériel utilisé, le rôle technique est prédominant.

Préparation des générateurs

L'installation du circuit extracorporel nécessite une demi-heure. L'installation débute par le générateur à plasmaphérèse.

Plus compliquée est l'installation du circuit de traitement du plasma. Ce circuit se compose de tubulures souples pour les trois pompes, de plusieurs clamps, d'une sonde de mesure du pH, à quoi s'associe un circuit de recirculation du plasma dans un système de double poche, un circuit d'élimination des immunoglobulines et un circuit de restitution du plasma épuré.

A l'installation du circuit extracorporel s'associe le raccordement des tubulures devant acheminer la solution acide et la solution tampon vers les colonnes.

La manipulation des colonnes de Sépharose se fait avec une grande précaution. Ces colonnes, qui sont réutilisables pendant un an, sont conservées à l'aide d'un produit toxique. Il s'agit de mercurothio-late à 10 %. L'installation de ces colonnes doit donc se faire avec beaucoup de précautions. De ce fait, l'ensemble de ce circuit est soigneusement rincé à l'aide d'une solution de sérum physiologique.

Le calibrage et le contrôle de la conformité des paramètres et de l'installation sont assurés par le médecin responsable de l'unité d'immuno-adsorption.

Début de séance

Une fois toutes les vérifications effectuées, la séance peut commencer.

Un bilan sanguin est prélevé. En plus du bilan standard (NFS, iono, hémostase...) sont demandées les analyses suivantes :

- albuminémie,
- électrophorèse de protides,
- protéinurie,
- dosage des IgG, IgA, IgM.

Le branchement et la mise en fonctionnement des deux générateurs ainsi que le début de la séance se font en présence du

Schéma du circuit sanguin pour la plasmaphérèse

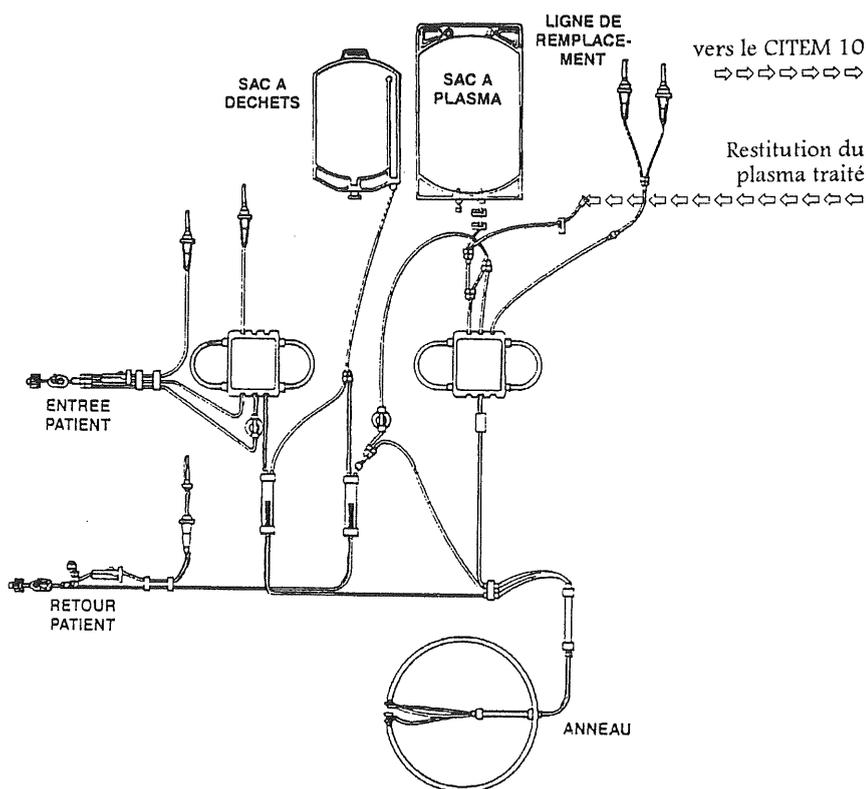


Figure 1. – Jeu de tubes à sang EP

Entrée patient : une tubulure circuit sang (1), une pour la solution anticoagulante (2), une pour une poche de sérum physiologique pour la restitution en fin de séance (3).

Retour patient : tubulure circuit sang (1), tubulure sérum physiologique (2).

Anneau : anneau de centrifugation du sang pour la production du plasma

P : les quatre pompes rotatives pour l'injection dans le circuit de la solution anticoagulante, des éléments figurés restitués, pour la production du plasma et une pompe pour la restitution du plasma traité vers le patient.

Les sacs à déchets et plasma ne sont pas utilisés puisque le plasma est dérivé vers le CITEM 10 pour y être traité avant d'être restitué au patient.

médecin. L'accès vasculaire est réalisé avec deux aiguilles à fistule. La séance débute par la phase de production de plasma par séparation dans le plasma-filtre.

Une fois le plasma produit, il faut procéder au calibrage plasmatique des détecteurs du CITEM 10™.

L'anticoagulation du circuit extracorporel se fait avec du citrate (Flex de solution ACD dite Formule A) pour les deux générateurs.

La surveillance pendant la séance

• La surveillance de la plasmaphérèse

- Mesures de la pression veineuse,
- Surveillance de la production du plasma,
- Contrôle du débit de la poche d'anticoagulant,
- Surveillance des accès vasculaires,
- Surveillance des pressions d'accès,

– Surveillance du débit de restitution du plasma.

• La surveillance de l'immunoabsorption

Surveillance et validation des différents détecteurs. Les valeurs sont fréquemment calibrées (après un repas, le plasma se chargeant de graisses, il devient lactescent, ce qui entraîne des modifications des différentes valeurs saisies au début de la séance).

L'infirmier doit sans cesse contrôler et valider les paramètres affichés sur le tableau du CITEM 10, de même que les différents paramètres transcrits sur l'imprimante. Toutes les 10 minutes, l'infirmier doit contrôler sur l'écran du CITEM 10™ les valeurs analysées par les différents capteurs. Il faut noter les coefficients d'efficacité des colonnes et si besoin est, surveiller et réétalonner de façon à ce que les colonnes soient efficaces à 100 %. Toute valeur inférieure à 95 % sur l'une de ces colonnes nécessite un recalibrage.

Ensuite, la surveillance consiste à changer les flacons d'acide et de tampon à raison d'un flacon d'acide pour deux ou trois de tampon. Ces changements s'effectuent toutes les vingt minutes en moyenne.

• La surveillance du patient

La surveillance tensionnelle est pointilleuse car la déplétion protidique peut générer des hypotensions sévères.

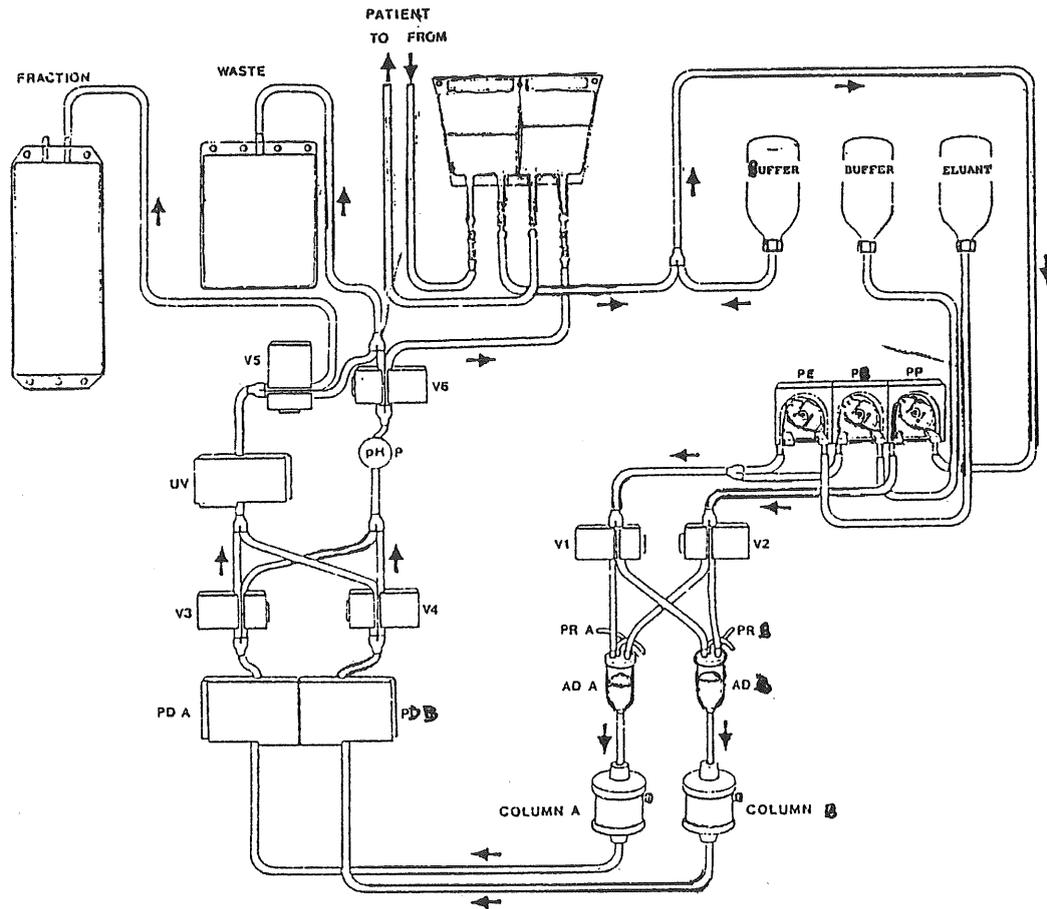
Le contrôle de la prise de poids est importante car la séance d'immunoabsorption ne génère pas de déplétion hydrique ; au contraire, l'injection de solution de bicarbonate dans le plasma engendrera une prise de poids contraire aux principes diététiques de l'hémodialyse.

La surveillance du patient porte aussi sur les signes induits par les troubles suivants :

- réactions allergiques (notamment au citrate),
- refroidissement du patient,
- signes d'hypocalcémie,

Régions

Schéma du circuit d'immunoabsorption, monté sur le CITEM 10 (hors circuit de plasmaphérèse)



Buffer = tampon. **Éluant** = acide. **PE** = pompe à éluant. **PP** = pompe à plasma. **PB** = pompe à buffer.

V1 et **V2** : clapets alternatifs permettant d'envoyer de l'acide ou du tampon dans les colonnes en fonction du cycle en cours. Ces clapets sont placés juste après la division de chaque tubulure et clampent à droite ou à gauche en fonction du cycle en cours. (Ex : *V1* clampent la tubulure de gauche qui alimente la colonne A et c'est la colonne B qui recevra de l'éluant venant de la pompe PE. *V2* clampent la tubulure de droite et permet d'alimenter la colonne A en plasma).

PRA et **PR B** = pression avant colonne A ou B.

AD : piège à bulles.

PDA et **PDB** : détecteurs à plasma.

V3 et **V4** : clapets fonctionnant comme **V1** et **V2**. Permettent d'orienter le plasma à éliminer ou à restituer vers le patient.

V5 et **V6** : permettent d'orienter le plasma vers le patient après la sonde à **pH**.

- convulsions,
- hypotension,
- hématomes.

La consommation en solutions acides et bicarbonates impose des changements fréquents des flacons. Ces changements sont effectués par l'infirmier.

Toute la séance se déroule sous le contrôle de l'infirmier ; le médecin doit

rester à proximité de l'unité pour pouvoir intervenir à tout moment.

La restitution se fait en présence du médecin. Le plasma circulant au niveau du CITEM 10 est restitué en premier, la circulation de la plasmaphérèse ensuite.

Un bilan sanguin identique à celui du branchement est prélevé. La compression

des points de ponction ou le pansement du cathéter est assuré par l'infirmier.

L'intégralité des constantes et des événements sont retranscrits sur le cahier de surveillance.

L'infirmier assure ensuite le démontage des circuits, le conditionnement des colonnes à l'aide du mercurothiolate 10 %

Régions

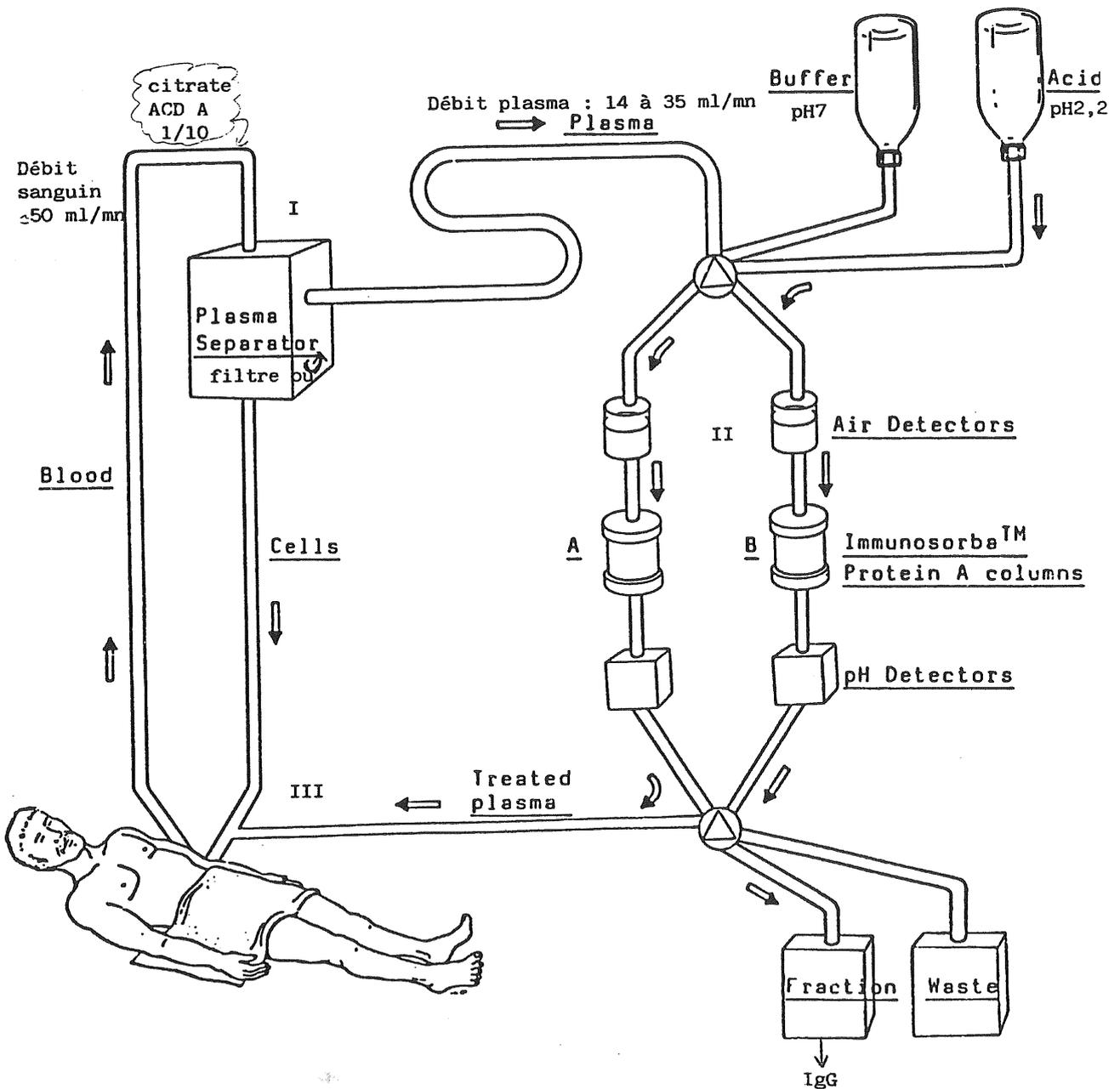
qui seront conservées dans un réfrigérateur en attendant la prochaine séance.

Il n'y a pas de désinfection des générateurs, la circulation restant interne au circuit extracorporel, seul un nettoyage minutieux des deux générateurs est assuré par l'infirmier.

En conclusion, cette technique complexe donne relativement de bons résultats pour les patients relevant de la néphrologie, autant en tant que technique de préparation à la transplantation que pour traiter certaines récidives de la pathologie initiale. C'est le cas, par exemple, des récidives des hyalinoses

segmentaires et focales sur le greffon. Cependant le coût élevé est un frein à la prise en charge d'un plus grand nombre de patients. Il n'en reste pas moins vrai que cette technique semble être promise à un avenir certain et devrait faire évoluer favorablement la qualité de la transplantation rénale.

Schéma de la circulation du plasma lors du traitement



Elution grâce à un gradient de pH allant de 7 à 2,2