



# Étude du chimérisme après allogreffe de cellules hématopoïétiques : recommandations de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC)

Valérie Dubois<sup>1</sup>, Mehdi Alizadeh<sup>2</sup>, Jean Henri Bourhis<sup>3</sup>, Pascaline Etancelin<sup>4</sup>, Olivier Farchi<sup>5</sup>, Christophe Ferrand<sup>6</sup>, Laure Goursaud<sup>7</sup>, Isabelle Mollet<sup>1</sup>, Virginie Renac<sup>7</sup>, Pauline Varlet<sup>5</sup>, Ibrahim Yakoub-Agha<sup>8</sup>, Jacques-Olivier Bay<sup>9</sup>

Reçu le 11 avril 2017

Accepté le 10 août 2017

Disponible sur internet le :  
8 novembre 2017

1. Laboratoire HLA, EFS Rhône Alpes, 1 et 3, rue du Vercors, 69007 Lyon, France
2. Laboratoire de recherche, EFS Bretagne, rue Pierre-Jean-Geneste, BP 1609, 35016 Rennes cedex, France
3. Institut Gustave-Roussy, service d'hématologie, 39, avenue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif cedex, France
4. Laboratoire génétique oncologique, centre H.-Becquerel, rue Edouard-Adam, 76000 Rouen, France
5. CHU de Lille, laboratoire HLA, boulevard Pr-Jules-Leclerc, 59037 Lille cedex, France
6. Laboratoire d'hématologie, ETS BFC, 1, boulevard Fleming, BP 1937, 25020 Besançon, France
7. Laboratoire HLA, EFS Bretagne, rue Pierre-Jean-Geneste, BP 1609, 35016 Rennes cedex, France
8. CHU de Lille, LIRIC Inserm U995, université de Lille 2, 59000 Lille, France.
9. CHU Clermont-Ferrand, site Estaing, service d'hématologie clinique adultes, 1, place Lucie-Aubrac, 63003 Clermont-Ferrand cedex 1, France

## Correspondance :

Ibrahim Yakoub-Agha, Maladies du Sang, CHRU de Lille, 59037 Lille CEDEX, France  
sfgm-tc@orange.fr, ibrahim.YAKOUBAGHA@CHRU-LILLE.FR

## Mots clés

Chimérisme  
PCR quantitative  
Maladie résiduelle  
Sang

## ■ Résumé

L'analyse du chimérisme est une étape importante pour le suivi de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Elle permet de quantifier chez les patients allogreffés l'origine donneuse ou receveuse d'une population cellulaire obtenue à partir d'un prélèvement sanguin ou médullaire. En complément des résultats de l'hémogramme, cette technique est indispensable pour vérifier la qualité de la prise du greffon. L'objectif de cet article est ainsi de proposer des recommandations quant aux techniques utilisées, à l'analyse des résultats obtenus et aux décisions thérapeutiques potentielles dans le cadre des allogreffes de CSH réalisées pour des pathologies malignes et non malignes.

**Keywords**

Chimerism  
Real time PCR  
Minimal residual disease  
Blood

**Summary****Chimerism analysis after hematopoietic cell transplantation: Guidelines from the Francophone Society of bone marrow transplantation and cellular therapy (SFGM-TC)**

*Chimerism analysis is an important step for the patient follow-up after hematopoietic stem cell transplantation. It is used to quantify the donor and the recipient part of a cell population issued from blood or bone marrow sample. In addition to hemogram, this technique is necessary to appreciate the quality of engraftment. The aim of this article is to propose some recommendation about methods, result analysis and therapeutic decision in hematopoietic stem cell transplantation for malignant or non-malignant diseases.*

**Introduction**

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) est devenue indispensable pour traiter certaines maladies hémato-logiques malignes, permettant des rémissions à long terme, voire la guérison. Les indications les plus fréquentes restent les leucémies aiguës et les syndromes myélodysplasiques.

Concernant les hémopathies malignes, les objectifs de l'allogreffe sont les suivants :

- remplacer l'hématopoïèse du receveur par celle d'un donneur, le greffon étant indemne de toute cellule tumorale ;
- induire chez le receveur une réponse allogénique antitumorale qui généralement s'exerce par l'intermédiaire des cellules immunocompétentes du greffon (lymphocytes T, cellules NK).

Ceci conduit à une élimination optimale des cellules malignes résiduelles qui, dans certaines situations, peuvent être détectées, définissant ainsi la maladie résiduelle (MRD). Cette détermination est importante car sa positivité est prédictive d'une rechute.

Avant la transfusion du greffon allogénique, il est nécessaire d'administrer un conditionnement. Apparus vers la fin des années 1990, des conditionnements dits non myéloablatifs ont été développés afin de diminuer la toxicité de l'allogreffe. Ces conditionnements non myéloablatifs sont associés à une reprise plus lente et progressive de l'hématopoïèse. L'évaluation du chimérisme est d'un intérêt tout particulier lorsque ce type de conditionnement est utilisé.

Bien que les donneurs compatibles *Human Leucocyte Antigen* (HLA) 10/10 restent le standard de traitement, des greffes « alternatives » se sont plus récemment développées à partir de donneurs non apparentés avec incompatibilités HLA, de donneurs familiaux haplo-identiques ou encore de cordons ombilicaux. La détermination du chimérisme est également importante dans le cadre du suivi de ces patients.

L'analyse du chimérisme permet de quantifier chez les patients allogreffés l'origine donneuse ou receveuse d'une population cellulaire obtenue à partir d'un prélèvement sanguin ou médullaire. En complément des résultats de l'hémogramme, cette technique est indispensable pour vérifier la qualité de la prise du greffon. Par ailleurs, la présence de cellules tumorales du

receveur peut être dans certaines situations déduites de la valeur du chimérisme.

Toute réalisation d'une étude du chimérisme nécessite au préalable l'identification de marqueurs spécifiques du donneur et du receveur. Ces marqueurs permettront de quantifier le chimérisme. Outre la technique ou la méthode utilisée, le matériel cellulaire analysé et l'interprétation des résultats (chimérisme mixte ou non), il est nécessaire de définir la conduite thérapeutique devant découler d'une valeur donnée de chimérisme. L'objectif de cet article est ainsi de proposer des recommandations quant aux techniques utilisées, à l'analyse des résultats obtenus et aux décisions thérapeutiques potentielles.

Un questionnaire a été envoyé à tous les centres greffeurs francophones, membres de la SFGM-TC. Le pourcentage de réponses obtenues a été de 60 % (23/38) : 14 centres greffeurs adultes, 4 centres greffeurs adultes ou pédiatriques et 5 centres greffeurs pédiatriques.

Le suivi des patients greffés est consensuel pour les pathologies malignes associant chimérisme et MRD (87 %). La cinétique de suivi pendant la première année après greffe montre que des évaluations à j30, j90, j180 et j360 sont réalisées de façon quasi systématique (87 à 96 % selon le point considéré), majoritairement sur sang total. Les études sur moelle ou cellules triées sont plus occasionnelles. Les deux tiers des centres ayant répondu réalisent un suivi au moins annuel après la première année. Dans le cadre de la prise de greffe, un chimérisme est considéré comme « total donneur ou complet » lorsqu'il est strictement supérieur à 95 % donneur par 22/23 centres, parmi lesquels 41 % mettent le seuil à 98 % donneur.

Dans les pathologies malignes, un chimérisme mixte associé à une MRD négative au cours des 6 premiers mois après greffe est reconstruit. Si confirmation, la baisse du traitement immunosuppresseur est habituelle. Par contre, la corrélation chimérisme mixte et MRD positive entraîne un arrêt le plus rapide possible de l'immunosuppression si elle est toujours en cours puis la réalisation d'injections de lymphocytes du donneur (DLI). Le chimérisme mixte est défini dans les réponses au questionnaire selon les critères propres à chaque centre.

TABLEAU I

Résumé des différentes techniques disponibles, leurs avantages et leurs inconvénients

| Technique d'évaluation du chimérisme | Avantages   | Inconvénients   |
|--------------------------------------|---|---|
| STR                                  | Grande diversité des marqueurs<br>Nombre d'allèles importants<br>Faible quantité d'ADN                              | Analyse en deux étapes<br>Sensibilité modérée (3-5 %)   |
| Q-PCR                                | Absence de contamination<br>Temps de réalisation court<br>Nombre de marqueurs élevés<br>Sensibilité élevée (0,05 %) | Quantité d'ADN importante   |
| PCR NGS                              | Analyses en série   | Lourdeur des manipulations<br>Nombreuses étapes techniques<br>Risque de contamination<br>Délai de rendu des résultats |
| PCR digitale                         | Faible quantité ADN   | Nombreuses étapes techniques  |

### Méthodologie de préparation de l'atelier

Cet atelier a été préparé et géré selon les recommandations établies par la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC) [1].

Un état des lieux a été réalisé à partir des réponses à un questionnaire provenant de 23 centres membres de la société. Une analyse de la bibliographie a été conduite par les membres du groupe. La revue de la littérature a été commentée et validée au cours de discussions clinico-biologiques pendant la durée de l'atelier. Une relecture des recommandations a été réalisée par des biologistes, des cliniciens greffeurs adultes et des cliniciens greffeurs pédiatres.

### Techniques d'analyse du chimérisme

Plusieurs techniques de biologie moléculaire sont utilisables pour déterminer et quantifier le chimérisme (tableau I). Elles se distinguent par les marqueurs utilisés (microsatellites, polymorphismes de type INDEL), les méthodes et leur niveau de sensibilité :

- la technique *Short Tandem Repeats* (STR) est basée sur l'analyse de régions répétées (micro-satellites) [2]. Elle est la méthode de référence pour l'identification des « traces » par la police scientifique. Les amorces utilisées pour l'amplification sont situées sur des régions constantes, adjacentes

des régions « polymorphes » dont le nombre de répétitions diffère. Cette différence dans le nombre de répétitions des STRs engendre une modification de la taille des produits de PCR pour chaque allèle. Le point fort de cette technique est représenté par la grande diversité des marqueurs, le nombre des allèles disponibles et la faible quantité d'ADN nécessaire par test. Ses points faibles sont l'analyse en deux étapes et la sensibilité modérée du test (3 à 5 % en fonction des laboratoires) ;

- une autre technique très utilisée est la PCR en temps réel (Q-PCR) [3]. Cette technique est basée sur l'analyse des polymorphismes de type insertions/délétions (INDEL). La quantification se fait en une seule étape dans une enceinte fermée. Les points forts de la technique sont représentés par l'absence de contamination, le temps de réalisation, le nombre de marqueurs utilisés et la sensibilité très élevée (0,05 %). Le point faible principal reste la quantité d'ADN nécessaire qui est plus importante que pour les approches à sensibilité réduite ;
- une approche assez récente est basée sur une PCR associée à une réaction de séquençage de nouvelle génération [4]. Le nombre de fois qu'une séquence est observée représente sa fréquence, normalisée par rapport à un marqueur mono allélique. Pour un prélèvement non chimère ce rapport doit être de 1. La sensibilité de cette méthode est de 1 %. Le point fort de la technique est représenté par la possibilité de combiner de nombreux prélèvements dans le même processus d'analyse. Les points faibles sont la lourdeur technique des manipulations, les multiples étapes nécessaires, le risque assez important de contamination et le délai de rendu des résultats ;
- une autre approche possible est représentée par la PCR digitale [5]. Le principe est de réaliser une PCR dans des gouttelettes. Chaque gouttelette peut être considérée comme un tube à essai indépendant des autres ce qui permettrait en théorie d'obtenir une sensibilité plus importante. La sensibilité obtenue avec cette approche est de 0,5 %. Le point fort de la technique est la faible quantité d'ADN nécessaire. Son point faible principal reste la multitude des étapes techniques nécessaires.

La qualité de l'échantillon est un critère primordial pour réaliser une bonne analyse du chimérisme, en particulier pour la technique de Q-PCR. Le délai entre le prélèvement et le traitement de l'échantillon doit être le plus court possible. L'idéal est de traiter l'échantillon dans la journée du prélèvement (extraction de l'ADN ou congélation de l'échantillon primaire). Après le prélèvement, les cellules granuleuses sont détruites rapidement et le pourcentage des différentes populations cellulaires est modifié, ce qui peut sur ou sous-estimer la valeur du chimérisme. Il existe certaines interférences avec des médicaments, par exemple le traitement par sérum antilymphocytaire (SAL) qui va détruire les lymphocytes T et fausser le résultat du

chimérisme, notamment en cas de tri CD3. Les informations concernant ce type de traitement doivent donc être transmises au laboratoire. En ce qui concerne le délai de rendu des résultats, il existe des situations urgentes pour lesquelles l'analyse du chimérisme conditionne la prise en charge thérapeutique et doit être disponible dans les 72 h suivant le prélèvement.

Il est important de préciser certains points pour que l'interprétation des résultats soit fiable, adaptée au statut réel de la maladie et reproductible d'un centre à l'autre. La valeur isolée d'un chimérisme, quel que soit le délai post-greffe, n'apporte qu'une information modérée et ne doit pas justifier d'une conduite thérapeutique. Il est donc nécessaire de disposer d'une cinétique sur plusieurs temps après greffe, ce qui permet d'évaluer soit l'effet allogénique (effet GVL : *Graft versus leukemia*), soit la présence de complications (rejet ou rechute).

Quelle que soit la technique utilisée, un chimérisme doit être considéré comme partiel, mixte ou incomplet dès lors que sa valeur est inférieure ou égale à 95 % donneur. La définition d'un chimérisme total ou complet est fonction de la sensibilité de la technique utilisée et peut varier de 95 et 99,9 % donneur.

Lors de la phase de prise de greffe, le chimérisme devrait être exprimé en pourcentage de cellules du donneur, l'objectif visé étant l'obtention d'un chimérisme « total donneur ». Lors du suivi de la maladie résiduelle, le chimérisme doit être rapporté en pourcentage de cellules du receveur dans le but de détecter précocement une rechute.

### Phase de prise de greffe : analyse sur sang total

Avec une cinétique croissante, un chimérisme supérieur à 95 % donneur, quelle que soit la technique utilisée, est considéré comme ne nécessitant pas d'intervention thérapeutique spécifique. Après l'évaluation au 3<sup>e</sup> mois après allogreffe (j100), la fréquence de suivi du chimérisme est laissée à l'appréciation du greffeur. Il est évident que l'obtention d'un chimérisme complet à j100 pour le suivi d'une pathologie maligne peut être suffisante, sauf si le chimérisme est effectué pour la détermination d'une MRD.

Un chimérisme entre 90 et 95 % donneur, quel que soit le moment de l'analyse, nécessite une réévaluation précoce. En cas de décroissance, il est nécessaire de vérifier s'il s'agit d'une MRD ou/et d'une éventuelle perte du greffon. Dans les deux cas, il faut moduler le traitement immunosuppresseur.

Un chimérisme inférieur à 90 % donneur nécessite dans la plupart des cas une intervention thérapeutique (diminution de l'immunosuppression ou DLI si cette immunosuppression est déjà interrompue). Dans tous les cas, une réévaluation à 30 jours est nécessaire.

### Phase de suivi de la maladie résiduelle

La détection de la rechute infraclinique fait appel à la détermination de marqueurs moléculaires, immunophénotypiques ou cytogénétiques. Le chimérisme peut participer à cette détection dans certaines maladies ayant une évolutivité médullaire avec

passage cellulaire systémique. Il ne peut pas renseigner sur la présence d'une maladie résiduelle dans le cas de localisation extramédullaire, ce qui est le cas pour la majorité des lymphomes.

Par contre, il a été démontré chez des patients atteints de leucémie aiguë que la valeur et la cinétique d'évolution du chimérisme déterminé à l'aide d'une technique sensible (au moins  $10^{-3}$  comme la Q-PCR) [6,7] peuvent témoigner d'une maladie résiduelle.

Outre l'existence d'une maladie résiduelle, la cinétique évolutive du chimérisme (exprimée en pourcentage de cellules du receveur) est corrélée au risque et à la rapidité de la rechute [6,8]. Cependant, la prédiction de la rechute reste meilleure en utilisant des marqueurs spécifiques de la MRD [9,10], en particulier les marqueurs immunophénotypiques et moléculaires. Combiner l'analyse du chimérisme aux marqueurs d'évaluation de la maladie résiduelle permet de distinguer une rechute d'une éventuelle perte de greffon [11]. Le chimérisme peut également être utilisé en l'absence de marqueurs de MRD.

Parfois, un patient peut présenter des anomalies de l'hémo-gramme associées à une perte de chimérisme survenant tardivement après interruption de l'immunosuppression. Si le risque de rechute de la pathologie initiale est considéré comme élevé et/ou en cas de maladie résiduelle détectable, il faudra envisager un traitement par injections de lymphocytes du donneur (DLI). Les modalités de leur administration ont été précisées dans un précédent atelier de la SFGM-TC [12].

Certains points méritent une mention particulière.

### Intérêt du tri cellulaire

#### En prise de greffe

L'intérêt de la quantification du chimérisme sur cellules triées CD3+ dans le cas d'allogreffe après conditionnement non myéloablatif ou d'intensité réduite pour apprécier précocement le risque de GVH aiguë ou chronique et le risque de rejet est controversé. Aucune recommandation absolue ne peut donc être donnée [13-15].

#### En suivi de la maladie résiduelle

Le tri cellulaire ciblé sur les cellules du clone malin peut augmenter la sensibilité de la détection du chimérisme [16] à condition d'avoir une quantité et une pureté des cellules suffisantes [17]. Le suivi du chimérisme sur cellules CD34+ semble plus prédictif de la rechute dans le cas des leucémies aiguës myéloïdes [18,19]. Cependant, aucune recommandation ne saurait être donnée.

#### Analyse sur sang et sur moelle

Un suivi du chimérisme est possible sur un prélèvement de moelle mais l'indication est laissée à l'appréciation du clinicien en fonction de la pathologie, du conditionnement ou de l'évolution clinique du patient. Aucune étude ne permet de poser l'indication de la réalisation d'un myélogramme dans le cadre du suivi de la prise de greffe.

### Coût des analyses

Les analyses de suivi post-allogreffe par le chimérisme ou la maladie résiduelle sont aujourd'hui des actes innovants hors nomenclature avec une tarification équivalente à BHN500. Un tri cellulaire engendre un coût supplémentaire équivalent à BHN700. Pour chaque couple donneur/receveur, il est nécessaire de définir préalablement les marqueurs moléculaires informatifs qui permettront le suivi ultérieur du chimérisme post-greffe équivalent à BHN1700. Une évaluation à travers la tarification des actes innovants (RIHN) est cependant en cours et la preuve de leur pertinence clinique avant d'être inscrites à la nomenclature des actes de biologie médicale doit encore être faite.

### Recommandations proposées pour le suivi des allogreffes de CSH pour des pathologies malignes

Les recommandations proposées pour le suivi des allogreffes de CSH pour des pathologies malignes sont :

- fréquence de suivi (hors cas particulier) : j30 ± 5, j60 ± 5, j90 ± 10, j180 ± 30, j360 ± 30 ;
- conduite à tenir pour la prise de greffe selon les résultats des analyses sur sang total :
  - si le chimérisme est strictement supérieur à 95 % donneur à j90, on peut considérer que la prise de greffe est atteinte avec un contrôle à j180 et j360,
  - si le chimérisme est inférieur ou égal à 95 % donneur à j90, on poursuit le suivi de façon plus rapprochée (rythme mensuel) afin d'en déterminer la cinétique évolutive. Ce n'est que cette dernière qui permettra secondairement d'appliquer des conduites thérapeutiques éventuelles ;
- attitude thérapeutique en cas de chimérisme mixte (basé sur une analyse en sang total) :
  - importance de la cinétique évolutive du chimérisme : cinétique ascendante donneur : la quantification du chimérisme est suivie tous les 30 jours jusqu'à un résultat strictement supérieur à 95 % ; cinétique descendante donneur : le traitement immunosuppresseur est réduit d'environ 20 % tous les 7 à 14 jours, avec des évaluations du chimérisme tous les 30 jours. Il est par contre indispensable, si des marqueurs spécifiques de maladie résiduelle sont évaluables, de faire la distinction entre perte de chimérisme par rechute de la maladie ou perte de chimérisme par perte du greffon ; valeur stable : attitude à définir en fonction du risque potentiel de rechute, mais une ré évaluation tous les 30 jours pour cinétique serait judicieux,
  - toute modification significative de traitement immunosuppresseur entraîne une nouvelle évaluation du chimérisme dans les 30 jours qui suivent,

- DLI selon les recommandations de l'atelier 2013, après évaluation du risque de rechute et uniquement lorsque l'immunosuppression est définitivement interrompue ;
- tri des cellules : les données de la littérature ne sont pas suffisantes pour définir des recommandations spécifiques. Il est donc recommandé une évaluation du chimérisme sur sang total ;
- suivi de la maladie résiduelle pour évaluer le risque de rechute : MRD associée au chimérisme en l'absence de marqueur performant et à condition d'utiliser une technique sensible type Q-PCR.

### Conclusion

L'état des lieux des pratiques et l'analyse de la bibliographie ont mis en évidence que le suivi de la prise de greffe sur sang total par l'analyse du chimérisme occupe une place primordiale dans la pratique quotidienne des hématologues greffeurs. La technique utilisée est de moindre importance pendant la période précoce post greffe tant que la cinétique évolutive du chimérisme est ascendante, période pendant laquelle elle reflète la prise de greffe.

Enfin, en l'absence de marqueurs spécifiques du suivi de la maladie résiduelle, l'évaluation du chimérisme à l'aide d'une technique sensible de type Q-PCR peut prédire le risque de rechute post allogreffe.

### Questions résiduelles

Les questions résiduelles sont les suivantes :

- quel est le suivi proposé pour les pathologies non malignes ?
- quelle technique utiliser (STR vs Q-PCR) et pour quelle pathologie ?
- quelle est la prise en charge thérapeutique en cas de chimérisme mixte ou partiel, après échec de l'arrêt de l'immunosuppression et l'application de DLI ? Ce point est à discuter pathologie par pathologie ;
- comment intégrer le chimérisme sur cellules triées dans le suivi de la maladie résiduelle ?
- quel est l'intérêt du suivi du chimérisme sur cellules CD3+, comparativement au suivi en sang total, pendant la phase de prise de greffe pour les greffes avec conditionnement atténué ?

**Remerciements** : les auteurs remercient J.H. Dalle, J. Gauthier, N. Milpied, C. Picard et P. Loiseau pour leur relecture attentive du document, leurs commentaires et leurs remarques.

**Déclaration de liens d'intérêts** : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

## Références

- [1] Tipton R, Yakoub-Agha I. Ateliers d'harmonisation des pratiques de la SFGM-TC. Bull Cancer 2016 [Internet; cited 2016 Nov 28; available from: <http://www.linkinohub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007455116302193>].
- [2] Thiede C, Florek M, Bornhäuser M, Ritter M, Mohr B, Brendel C, et al. Rapid quantification of mixed chimerism using multiplex amplification of short tandem repeat markers and fluorescence detection. Bone Marrow Transplant 1999;23(10):1055-60.
- [3] Alizadeh M, Bernard M, Danic B, Dauriac C, Birebent B, Lapart C, et al. Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. Blood 2002;99(12):4618-25.
- [4] Aloisio M, Licastro D, Caenazzo L, Torboli V, D'Eustacchio A, Severini GM, et al. A technical application of quantitative next generation sequencing for chimerism evaluation. Mol Med Rep 2016;14(4):2967-74.
- [5] Santurtún A, Riancho JA, Arozamena J, López-Duarte M, Zarrabeitia MT. Indel analysis by droplet digital PCR: a sensitive method for DNA mixture detection and chimerism analysis. Int J Legal Med 2016.
- [6] Jacque N, Nguyen S, Golmard J-L, Uzunov M, Garnier A, Leblond V, et al. Chimerism analysis in peripheral blood using indel quantitative real-time PCR is a useful tool to predict post-transplant relapse in acute leukemia. Bone Marrow Transplant 2014 [Internet; cited 2014 Nov 13; available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/bmt.2014.254>].
- [7] Qin X-Y, Li G-X, Qin Y-Z, Wang Y, Wang F-R, Liu D-H, et al. Quantitative chimerism: an independent acute leukemia prognosis indicator following allogeneic hematopoietic SCT. Bone Marrow Transplantation 2014;49(10):1269-77.
- [8] Candoni A, Toffoletti E, Gallina R, Simeone E, Chiozzotto M, Volpetti S, et al. Monitoring of minimal residual disease by quantitative *WT1* gene expression following reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia. Clin Transplant 2011;25(2):308-16.
- [9] Pochon C, Oger E, Michel G, Dalle J-H, Salmon A, Nelken B, et al. Follow-up of post-transplant minimal residual disease and chimerism in childhood lymphoblastic leukaemia: 90 d to react. Br J Haematol 2015;169(2):249-61.
- [10] Terwey TH, Hemmati PG, Nagy M, Pfeifer H, Gökbüget N, Brüggemann M, et al. Comparison of chimerism and minimal residual disease monitoring for relapse prediction after allogeneic stem cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia. Biol Blood Marrow Transplant 2014;20(10):1522-9.
- [11] Rossi G, Carella AM, Minervini MM, Savino L, Fontana A, Pellegrini F, et al. Minimal residual disease after allogeneic stem cell transplant: a comparison among multiparametric flow cytometry, Wilms tumor 1 expression and chimerism status (Complete chimerism versus Low Level Mixed Chimerism) in acute leukemia. Leuk Lymphoma 2013;54(12):2660-6.
- [12] Guillaume T, Porcheron S, Audat F, Bancillon N, Berceau A, Charbonnier A, et al. [Prophylactic, preemptive and curative use of donor lymphocyte infusion in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation: guidelines of the SFGM-TC]. Pathol Biol 2014;62(4):193-6.
- [13] Koreth J, Kim HT, Nikiforow S, Milford EL, Armand P, Cutler C, et al. Donor chimerism early after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation predicts relapse and survival. Biol Blood Marrow Transplant 2014;20(10):1516-21.
- [14] Rupa-Matysek J, Lewandowski K, Nowak W, Sawiński K, Gil L, Komarnicki M. Correlation between the kinetics of CD3+ chimerism and the incidence of graft-versus-host disease in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Transplant Proc 2011;43(5):1915-23.
- [15] Mellgren K, Arvidson J, Toporski J, Winiarski J. Chimerism analysis in clinical practice and its relevance for the detection of graft rejection and malignant relapse in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients. Pediatr Transplant 2015;19(7):758-66.
- [16] Bader P, Niethammer D, Willasch A, Kreyenberg H, Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? Bone Marrow Transplant 2005;35(2):107-19.
- [17] Hanson V, Adams B, Lord J, Barker A, Poulton K, Lee H. Assessment of the purity of isolated cell populations for lineage-specific chimerism monitoring post haematopoietic stem cell transplantation. Tissue Antigens 2013;82(4):269-75.
- [18] Lange T, Hubmann M, Burkhardt R, Franke G-N, Cross M, Scholz M, et al. Monitoring of *WT1* expression in PB and CD34(+) donor chimerism of BM predicts early relapse in AML and MDS patients after hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning. Leukemia 2011;25(3):498-505.
- [19] Rosenow F, Berkemeier A, Krug U, Müller-Tidow C, Gerss J, Silling G, et al. CD34(+) lineage specific donor cell chimerism for the diagnosis and treatment of impending relapse of AML or myelodysplastic syndrome after allo-SCT. Bone Marrow Transplant 2013;48(8):1070-6.