

# Mélange de Concentré de Granulocytes Issus de Sang Total (MCGST)



## UN NOUVEAU CONCENTRE DE GRANULOCYTES

**Sabine CLEMENT**

EFS- Auvergne Rhône-Alpes

efs.sante.fr Responsable préparation, plateau technique de DECINES

ETABLISSEMENT FRANCAIS DU SANG – JOURNÉES TACT – 10-11/10/19 ANNECY

# LA SITUATION ACTUELLE



## L'ORGANISATION DU PRÉLÈVEMENT

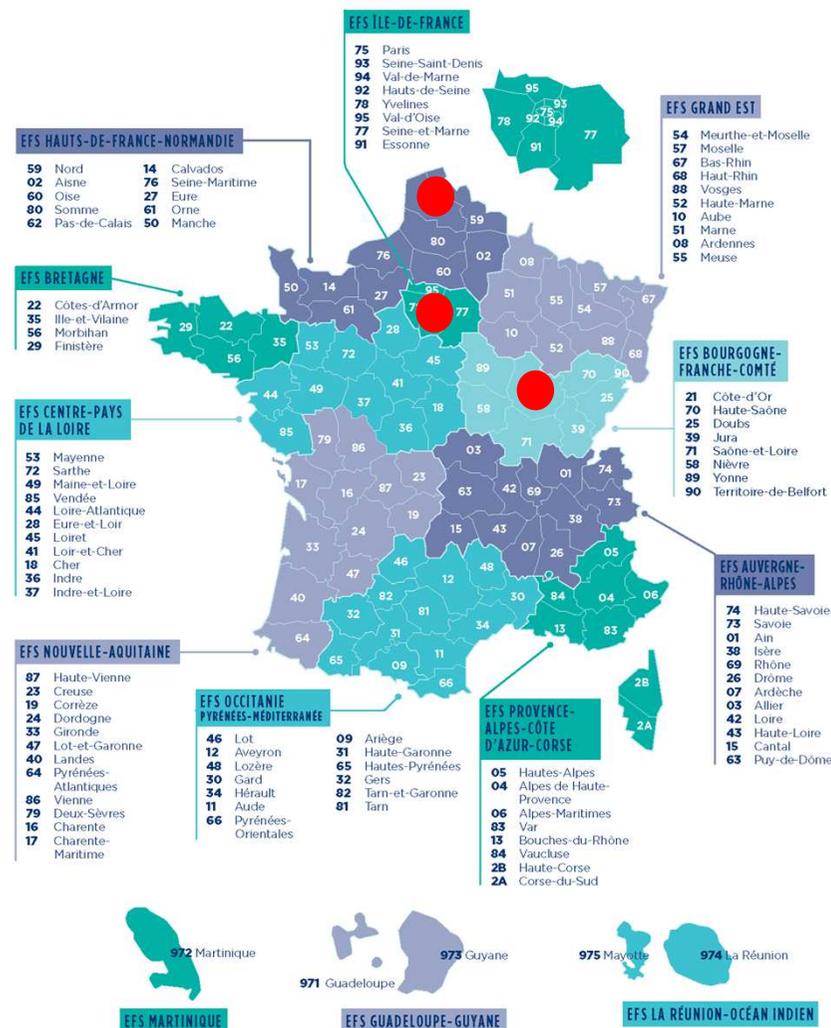
Don unitaire de granulocytes par Aphérèse

➔ 3 sites prélèvent encore (2018) :

- Besançon (n=68)
- Lille (n=64)
- Paris (n=202)

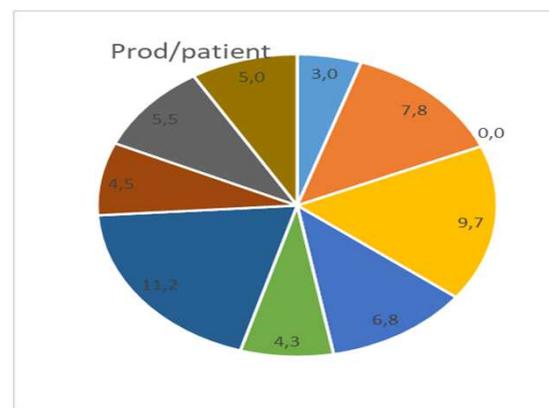
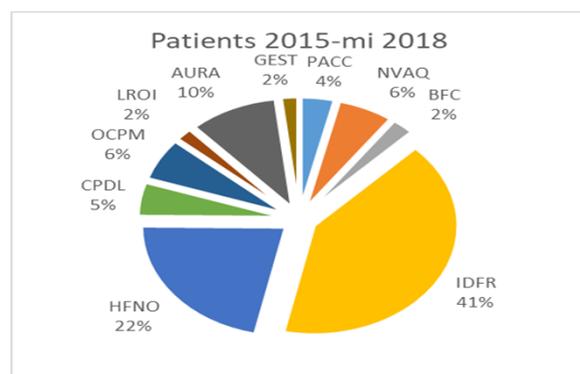
➔ PSL rare, Prélèvement « technique »  
difficultés pour conserver l'habilitation  
des sites

## LES 13 ÉTABLISSEMENTS DE L'EFS



# REPARTITION DES CESSIONS

GB	2015		2016		2017		1er semestre 2018		Total 2015-2018	
	Etablissement	Patients transfusés	Produits consommés	Patients transfusés						
A-EFS PACA-CORSE	3	14			3	9			6	23
C-EFS NOUVELLE AQUITAINE	4	17	2	3	3	15	1	16	10	51
E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	2	5	2	8			0	0	4	13
I-EFS ILE DE FRANCE	20	97	16	67	21	176	9	115	66	455
L-EFS HAUTS DE FRANCENORMANDIE	8	24	10	36	11	53	6	62	35	175
O-EFS CENTRE-PAYS DE LA LOIRE	2	20	3	7	2	10	1	3	8	40
P-EFS OCCITANIE	2	15	3	3	5	33	0	23	10	74
S-EFS LA RÉUNION-OCÉAN INDIEN			1	6	2*	9			3	15
V-EFS AUVERGNE-RHÔNE-ALPES	3	19	2	11	7	24	4	37	16	91
Y-EFS GRAND EST	2	6					1	5	3	11
<b>total :</b>	<b>46</b>	<b>217</b>	<b>39</b>	<b>141</b>	<b>52</b>	<b>329</b>	<b>22</b>	<b>261</b>	<b>159</b>	<b>948</b>



98,6% des produits prélevés sont délivrés

# REPARTITION DES CESSIONS



## FLUX DE CGA INTER-ETS

- Date Début : 01/01/2018  
 - Date Fin (non incluse) : 01/01/2019  
 Etablissements : (Facultatif)

ETS de départ		ETS d'arrivée		GLOBULE BLANC	Total			
				GB				
E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	TS3401	EFS MONTPELLIER	4	65	55,08%		
E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	TSS401	EFS GRAND EST	7				
E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	TS6701	EFS STRASBOURG	3				
E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	TS6903	EFS Rhône-Alpes - E. Herriot	3				
E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	E-EFS-BOURGOGNE-FRANCHE-COMTE	TS6904	EFS Site de Lyon Sud	48				
E-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS0601	EFS PACA - SAINT LAURENT	2	52	44,07%		
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS3100	EFS OCPM - PLATEAU TECHNIQUE	1				
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS3101	EFS OCPM - TOULOUSE	5				
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS3323	EFS NVAQ - PESSAC	1				
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS3399	EFS NVAQ - BORDEAUX	16				
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS4401	EFS CPDL - NANTES	5				
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS4902	EFS CPDL - ANGERS	3				
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TSS401	EFS GEST - NANCY	1				
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS5420	EFS GEST - NANCY BRABOIS	10				
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS6907	EFS AURA - LYON SUD	3				
I-EFS ILE DE FRANCE	-RUNGIS	TS6999	EFS AURA - CH LYON SUD	5				
L-EFS HAUTS DE FRANCENORMANDIE	-LILLE TREVISE-BELFORT	EFSNEC	EFS ILE DE FRANCE NECKER	1			1	0,85%
<b>Total</b>				118			118	100,00%

% CGA exportés

**BFC** 96%

**IDF** 26%

**HFNO** 2%

# CARACTÉRISTIQUES DU CGA



## DÉFINITION (DECISION DU 01/04/19)

**Concentré de Granulocytes d'Aphérèse (CGA) :**

Suspension de granulocytes obtenue aseptiquement par aphérèse en flux continu chez un donneur jugé apte médicalement et préalablement stimulé.

Son prélèvement n'est programmé qu'en cas de prescription pour un patient prédéfini.

# CARACTÉRISTIQUES DU CGA



## SPÉCIFICATIONS DU PSL

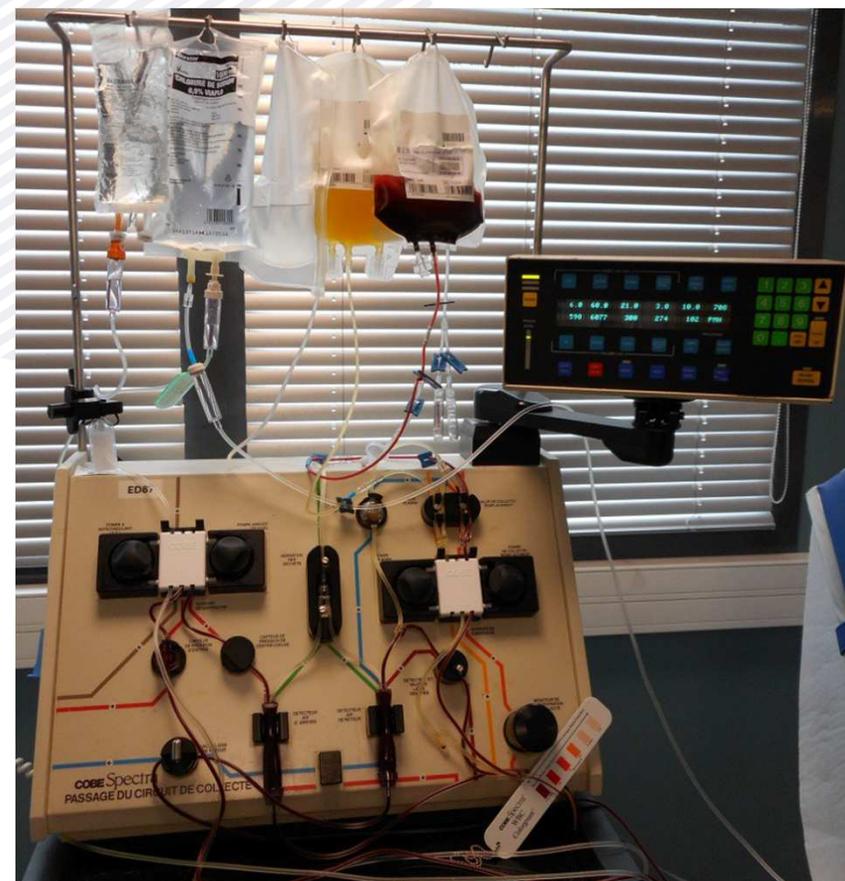
### Concentré de Granulocytes issu d'Aphérèse

- Volume (tout compris) ≤ 650 ml
- Contenu minimal en granulocytes du CGA  $2 \cdot 10^{10}$  Granulocytes/Unité
- Hématocrite 5 à 25 %
- Conservation
  - ↳ Température +20 à +24 °C
  - ↳ Durée 12 heures à compter de la fin du prélèvement (6 heures si ouverture intentionnelle de la poche pour une transformation particulière)

# OBTENTION D'UN CGA

## PRÉLÈVEMENT PAR CYTAPHÉRÈSE

- Stimulation du donneur la veille du don  
Corticoïdes
- Aphérèse sur séparateur flux continu  
Durée = 3h  
Anticoagulant = héparine  
Bi-poncture
- Soluté macromoléculaire de décantation  
Hydroxyethylamidon (HEA)



# OBTENTION D'UN CGA

➔ PRÉPARATION

Plasma →

Globules Blancs →

Globules Rouges →



# OBTENTION D'UN CGA

## ➡ PRÉPARATION / TRANSFORMATION

- Désérythrocytation (en cas d'incompatibilité Rh, K)  
possible au prélèvement, par méthode manuelle (Ht  $\leq$  5%)
- Préparation pédiatrique ( $\geq$  50 ml)
- Réduction de volume (80 % des PNN du produit d'origine)
- Déplasmatisation (protéines plasmatiques  $\leq$  0,5 g/l)
- Irradiation **OBLIGATOIRE**



# INDICATIONS TRANSFUSION CGA



## 3 CONDITIONS IMPERATIVES

- Indication posée après concertation entre médecin prescripteur hospitalier et médecin conseil transfusionnel EFS.
  - Transfusion à visée curative exclusivement.
  - CGA = indication de dernière ligne.
- ◆ Bilan hématologique du patient
    - Anomalie quantitative des PNN → neutropénie centrale durable
    - Anomalie qualitative des PNN → granulomatose septique chronique
  - ◆ Etat infectieux sévère
    - Résistant à une chimiothérapie anti-infectieuse adaptée >48h
  - ◆ Pronostic vital du patient non engagé

# CONTEXTE



## BESOIN D'UNE ALTERNATIVE AU CGA ⇒ LES RAISONS DU CHANGEMENT

### *Le don unitaire de granulocytes par aphérèse :*

Impasse réglementaire

Produit Sanguin Labile

- Répertorié
- Autorisé
- Caractérisé

Mais impose l'usage hors AMM et sans bénéfices :

- D'un corticoïde
- De l'héparine
- De l'hydroxyéthylamidon

### *Mélange de Concentré de Granulocytes issus de Sang Total :*

Sélection et concentration de granulocytes d'un pool de donneurs

Déjà en usage à l'étranger

Nouveau PSL autorisé par l'ANSM

⇒ **Apparaît comme une alternative pertinente....**

# UN CHANGEMENT RADICAL



## DÉFINITION (DECISION DU 01/04/19)

### Mélange de Concentré de Granulocytes issus de Sang Total (MCGST) :

Le **mélange de concentré de granulocytes** issus de sang total de dons différents de **même groupe sanguin ABO** est une suspension de granulocytes obtenue **aseptiquement à partir de plusieurs unités adultes de sang total homologue (20 au maximum)**.

# COMPARATIF ASPECTS « DONNEUR »



## LES RISQUES POUR LE DONNEUR

- 😊 **Avantage**
- 😐 **Neutre**
- 😞 **Point faible**

### Aujourd'hui CGA

- **Pression du don** 😞  
Donneurs peu nombreux  
Disponibilité immédiate
- **Risque lié au conditionnement** 😞  
Corticoïdes
- **Risque lié au don lui-même** 😞  
Cytaphérèse >3h  
Technicité du don (habilitation personnel)  
Bi-puncture  
Héparine, HEA

### Demain MCGST

- **Dons disponibles en quantité** 😊  
nombreux (2,5 millions de dons)
- **Don de sang total simple** 😊  
10 min  
pas de retour au donneur

### MCGST



**Simplification du processus de prélèvement**  
**Réduction du risque donneur**

# COMPARATIF ASPECTS « PATIENT »



## LES RISQUES POUR LE PATIENT

### Aujourd'hui

#### CGA

- **Disponibilité produit**
  - Rupture approvisionnement (dimanche) 😊
  - Faible nombre de donneurs 😞
  - Dépendance disponibilité des donneurs 😞
  - Péremption courte (12h) 😞
- **Sélection donneur**
  - Adaptation fine au donneur (ABO, phénotype, CMV...) 😊
- **Produit unique (variabilité d'un CGA à un autre)**
- **Dépendance d'un fournisseur**

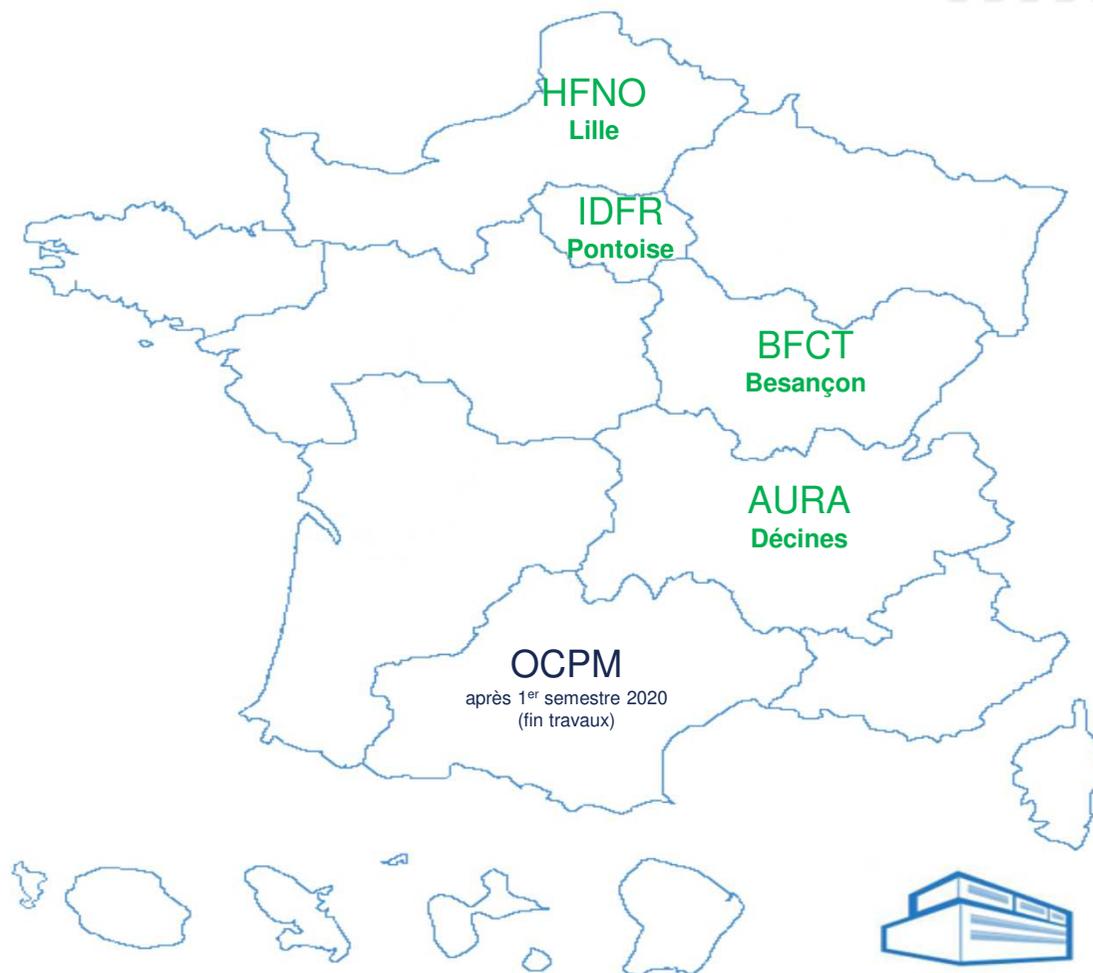
### Demain

#### MCGST

- **Disponibilité du produit**
  - Rupture approvisionnement (lundi) 😊
  - Dons disponibles en quantité 😊
  - Réactivité vs prescription 😊
  - Péremption « prolongée » 48h 😊
- **Sélection donneurs**
  - 20 donneurs différents 😞
  - Pas d'adaptation possible (phéno...) 😞
- **Produit standardisé** 😊
- **Risque immunologique** 😞
- **Risque infectieux théorique** 😞

- 😊 **Avantage**
- 😊 **Neutre**
- 😞 **Point faible**

# SCHEMA ORGANISATION PRODUCTION MCGST



Besoin = 300 à 350 MCGST  
à répartir entre 4 régions (5 à terme)

EFS préparation	EFS cession	Back-up
IDFR (Pontoise)	IDF BRET CPDL NVAQ OCPM DOM	HFNO
HFNO (Lille)	HFNO	IDF
BFCT (Besançon)	PACA GEST	AURA
AURA (Décines)	AURA	BFCT

# PROCESS DE PRÉPARATION DES MCGST



## LE PRÉLÈVEMENT

● Prélèvement de donneurs de sang total



● Dispositif quintuple



# PROCESS DE PRÉPARATION DES MCGST



## TRI DES POCHEs A RÉCEPTION EN PRÉPARATION

- Sélection de 25 à 30 poches de sang total selon les critères ci-dessous
  - ABO D identiques
  - Numération en GB totaux du don précédent ( $>5000/\mu\text{L}$ )
  - Dispositif quintuple



Liste des 25 à 30 dons à transmettre au plateau de QBD concerné (test VHE, information dons pour lesquels résultats QBD attendus en urgence)

# PROCESS DE PRÉPARATION DES MCGST



## CENTRIFUGATION ET SÉPARATION DU SANG TOTAL:



Matériel identique (centrifugeuses, presses semi-automatisées)  
Programmes de centrifugation et de séparation spécifiques pour CLP à inclure dans pool MCGST

Produits obtenus en fin de séparation

**CGR**

**Plasma**

**Couche Leuco-plaquettaire** (différente CLP utilisée pour les MCP)

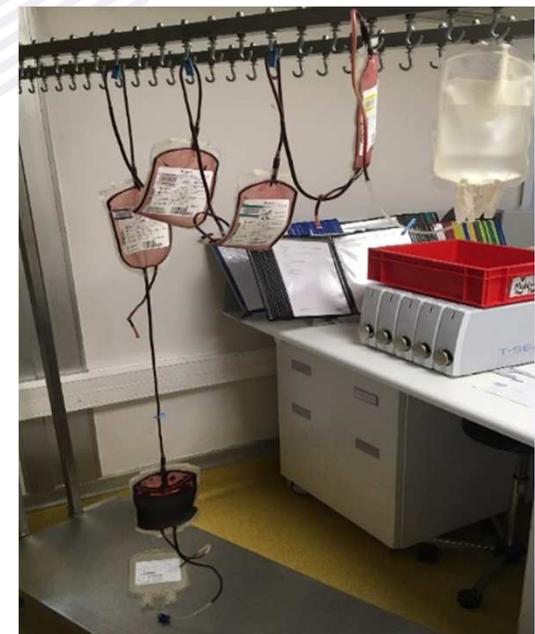
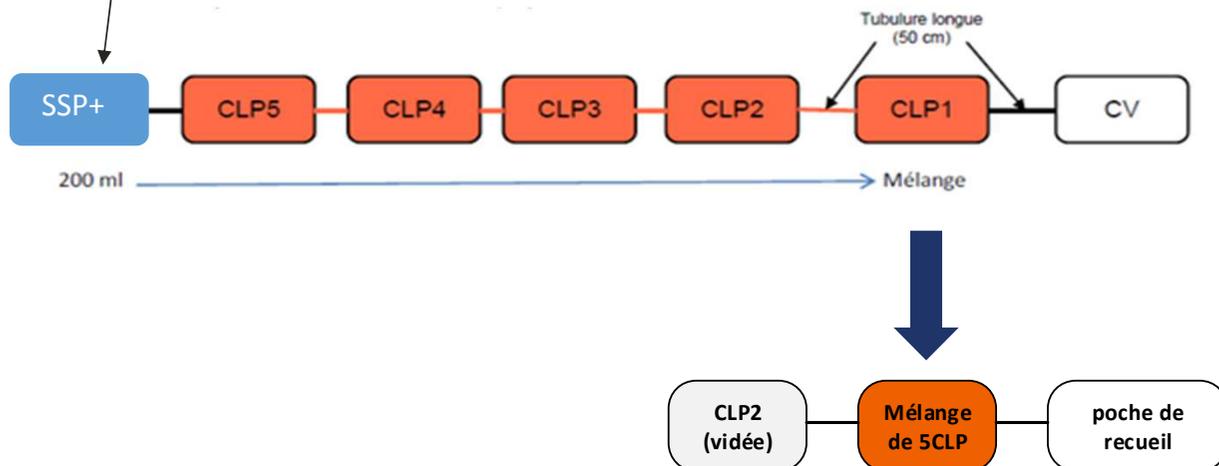
# PROCESS DE PRÉPARATION DES MCGST

## PRÉPARATION DES MÉLANGES DE 5 CLP = SUPER CLP

Pour un MCGST → 4 mélanges de 5 CLP nécessaires

Solution de conservation de plaquettes

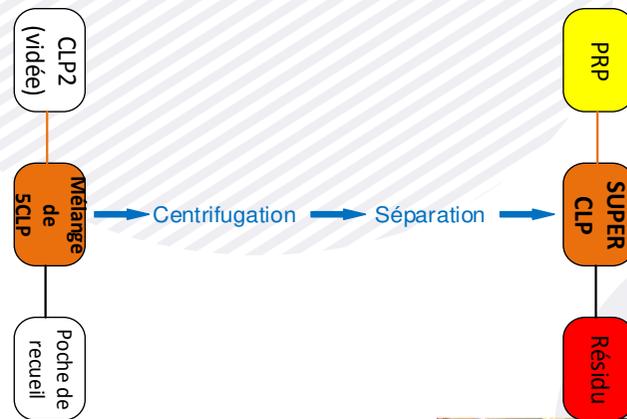
⇒ Améliore qualité de la séparation secondaire



# PROCESS DE PRÉPARATION DES MCGST

## PRÉPARATION DES MÉLANGES DE 5 CLP = SUPER CLP (SUITE)

Mélange de 5CLP  
+ SSP+



Centrifugation



Séparation



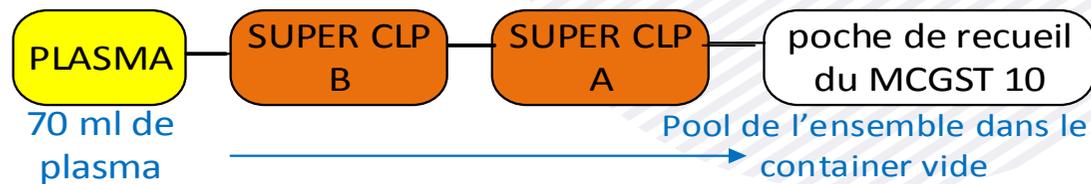
Super CLP

# PROCESS DE PRÉPARATION DES MCGST



## PRÉPARATION DES MCGST10

Pour un MCGST → 2 MCGST10 nécessaires



+



+



=



70ml de plasma  
(Homme; Hémol -)

Super CLP n°1

Super CLP n°2

MCGST 10

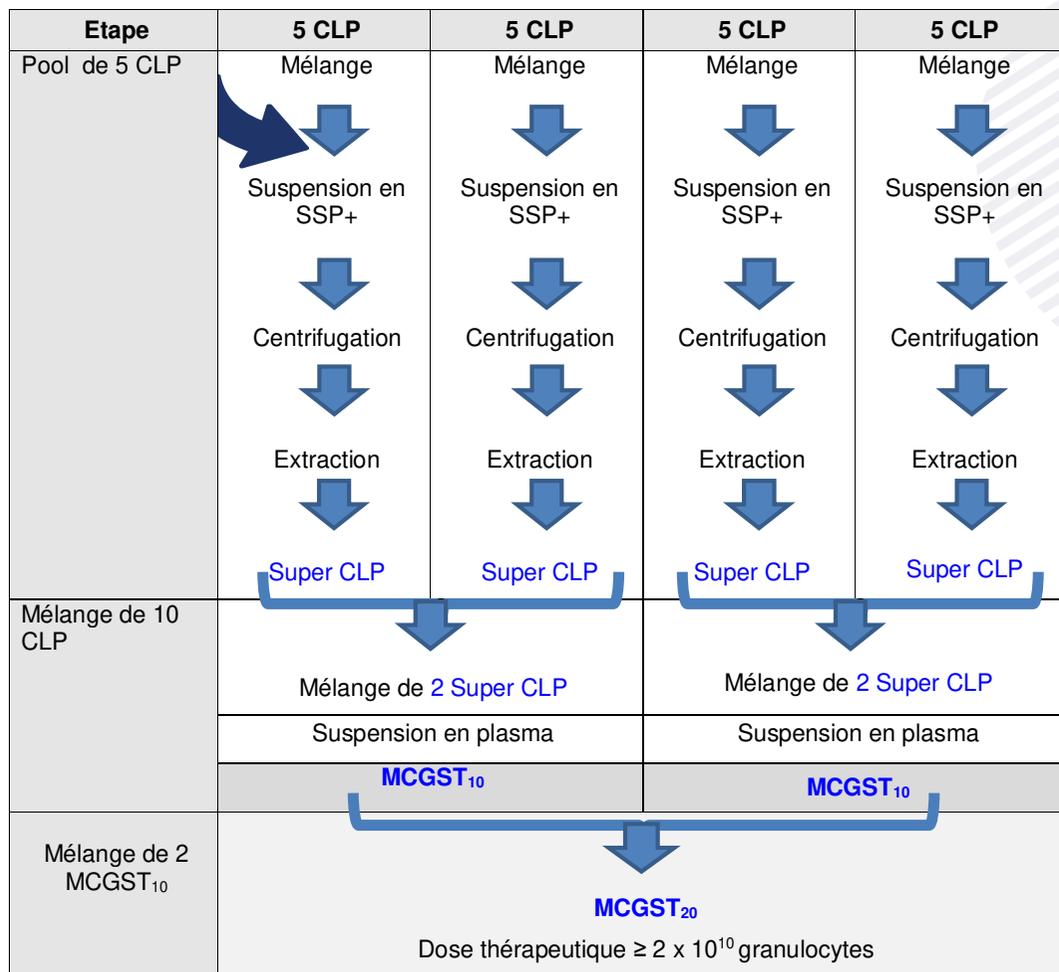
# PROCESS DE PRÉPARATION DES MCGST

## PRÉPARATION DU MCGST20

$$\boxed{\begin{array}{c} \text{MGCST10} \\ \text{n}^{\circ}1 \end{array}} + \boxed{\begin{array}{c} \text{MGCST10} \\ \text{n}^{\circ}2 \end{array}} = \boxed{\text{MCGST20}}$$

- Produit fini = MCGST20
  - Echantillonnage pour numération GB
  - Irradiation obligatoire
- Le MGCST10 peut constituer une unité pédiatrique

# SYNTHESE PROCESS DE PRÉPARATION DES MCGST



## Chronologie du process MCGST

J0		J1		J2	
Matin	Après midi	Matin	Entre 12 et 13h	Matin	Après midi
Collecte ST	Collecte ST	Séparation et obtention CLP	Préparation MCGST <sub>20</sub>		

**Durée de péremption = 48h**  
 à partir de l'heure de prélèvement la plus ancienne

# CARACTÉRISTIQUES DU MCGST



## SPÉCIFICATIONS DU PSL

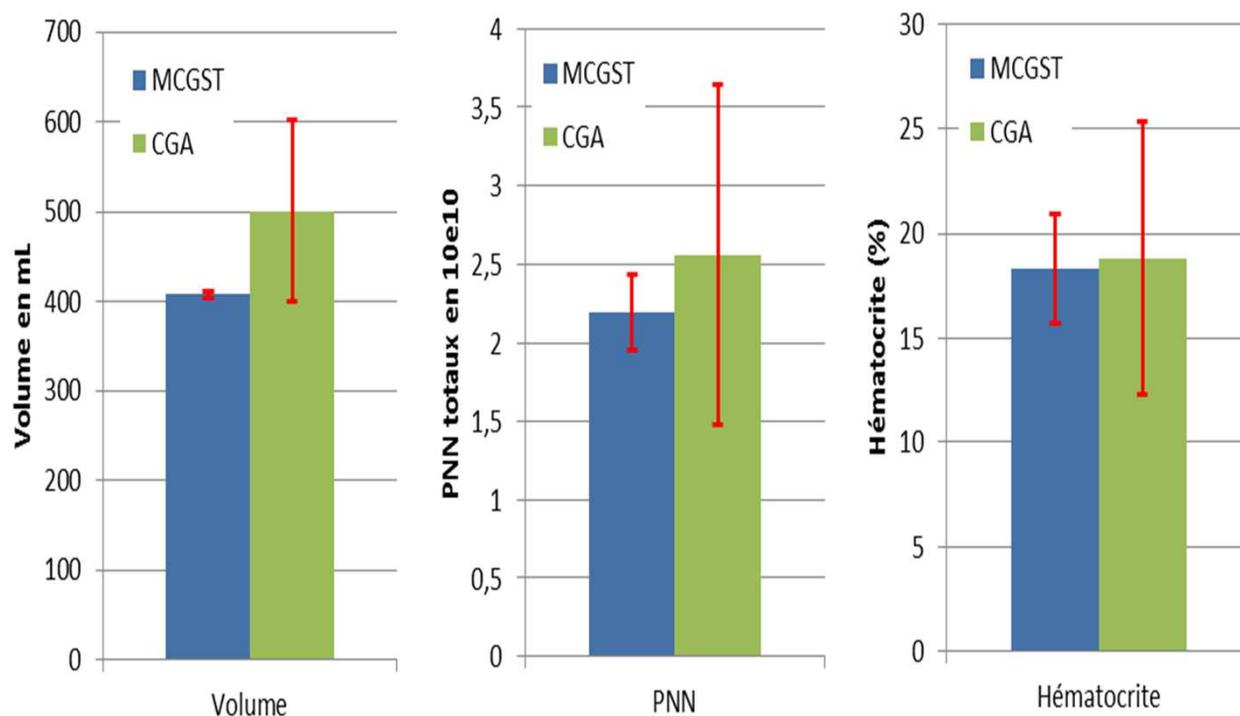
### Mélange de Concentré de Granulocytes issus de Sang Total

- Volume (tout compris) ≤ 650 ml
- Contenu minimal en granulocytes du CGA  $2 \cdot 10^{10}$  Granulocytes/Unité
- Hématocrite 5 à 25 %
- Conservation
  - ↳ Température +20 à +24 °C
  - ↳ Durée 48 heures à compter de la date et heure du prélèvement le plus ancien

# RESULTATS VALIDATION EFS IDF



COMPARATIF CGA (2017 : N=255) / MCGST (2018 : N=18)



Taux plaquettes  
MCGST  $\cong 4,7 \cdot 10^{11}$  plaquettes/U  
CGA  $\cong 2 \cdot 10^{11}$  plaquettes/U

# RESULTATS VALIDATION EFS IDF



## CARACTÉRISTIQUES IN VITRO\* DES MCGST

- **Viabilité\*** : % de cellules viables observées par cytométrie en flux
- **Fonctionnalité\*** : exploration de deux fonctions des neutrophiles par cytométrie en flux :
  - l'amorçage de l'explosion oxydative :  
⇒ un rapport  $>1$  signifie une sensibilité à l'activation (PNN sont fonctionnels).
  - l'expression des molécules d'adhérence :  
⇒ l'écart de l'index par rapport à 1 est un indicateur de la mobilité.

\*Collaboration avec l'unité INSERM-U1149, CNRS-ERL8252 de Bichat

# RESULTATS VALIDATION EFS IDF



## CARACTÉRISTIQUES IN VITRO\* DES MCGST (SUITE)

La viabilité et la fonctionnalité des MCGST à 24h:

MCGST <sub>20</sub>	Viabilité	Fonctionnalité		Expression molécules d'adhérence					
	% de cellules viables	DHE Index TNF	DHE Index LPS	CD11b Index LPS	CD11b Index TNF	CD11b Index FMLF	CD62L Index LPS	CD62L Index TNF	CD62L Index FMLP
Nombre	17	17	17	17	17	17	17	16	16
Moyenne	<b>95,1</b>	<b>1,36</b>	<b>1,30</b>	<b>2,16</b>	<b>2,27</b>	<b>1,71</b>	<b>0,25</b>	<b>0,23</b>	<b>0,29</b>
Ecart-type	5,6	0,25	0,19	0,81	0,82	0,42	0,30	0,26	0,23
Médiane	96,5	1,40	1,30	2,23	2,44	1,79	0,10	0,09	0,21
Min	75,0	1,02	1,00	1,07	1,02	1,03	0,06	0,05	0,09
Max	99,1	2,06	1,77	3,38	3,40	2,29	1,04	0,82	0,83

# RESULTATS VALIDATION EFS IDF



## CARACTÉRISTIQUES IN VITRO\* DES MCGST

### La viabilité et la fonctionnalité des MCGST à 48h

MCGST <sub>20</sub>	Viabilité	Fonctionnalité		Expression molécules adhérence					
	% de cellules viables	DHE Index TNF	DHE Index LPS	CD11b Index LPS	CD11b Index TNF	CD11b Index fMLF	CD62L Index LPS	CD62L Index TNF	CD62L Index fMLF
Nombre	17	17	17	17	17	17	17	17	17
Moyenne	<b>85</b>	<b>1,38</b>	<b>1,39</b>	<b>1,24</b>	<b>1,26</b>	<b>1,17</b>	<b>0,55</b>	<b>0,53</b>	<b>0,49</b>
Ecart-type	7	0,18	0,15	0,11	0,14	0,11	0,19	0,18	0,18
Médiane	<b>86</b>	<b>1,42</b>	<b>1,38</b>	<b>1,24</b>	<b>1,23</b>	<b>1,16</b>	<b>0,56</b>	<b>0,51</b>	<b>0,47</b>
Min	69	1,01	1,16	1,08	1,03	0,98	0,19	0,20	0,20
Max	95	1,71	1,74	1,49	1,72	1,44	0,88	0,88	0,78

⇒ viabilité et fonctionnalité sont préservées

⇒ index de mobilité normaux à J1 / légèrement dégradés à J2 (en restant normaux)

# CONCLUSION



**REPLACER LE CGA → Suivi à la mise en œuvre des MCGST nécessaire**

## **Le CGA arrêt progressif :**

- Risque « donneur »
- Risque « fournisseur »
- Risque juridique
- Fragilité organisationnelle

⇒ **Variable d'un don à l'autre :**

- plus riche en Granulocytes
- mieux adapté au besoin du malade

Il est le plus protecteur des risques immunologiques et infectieux

## **Le MCGST est autorisé :**

- ≈ Pas de risque « donneur »
- ≈ Pas de risque « fournisseur »
- ≈ Pas de risque juridique
- Solidité organisationnelle

⇒ **PSL standard**

## **Risque immunologique :**

Il est surtout redouté pour les malades immunocompétents.

## **Risque infectieux :**

Théorique, lié à la multiplication des donneurs, mais à pondérer au vu du risque résiduel actuel

# CAS CLINIQUE 1



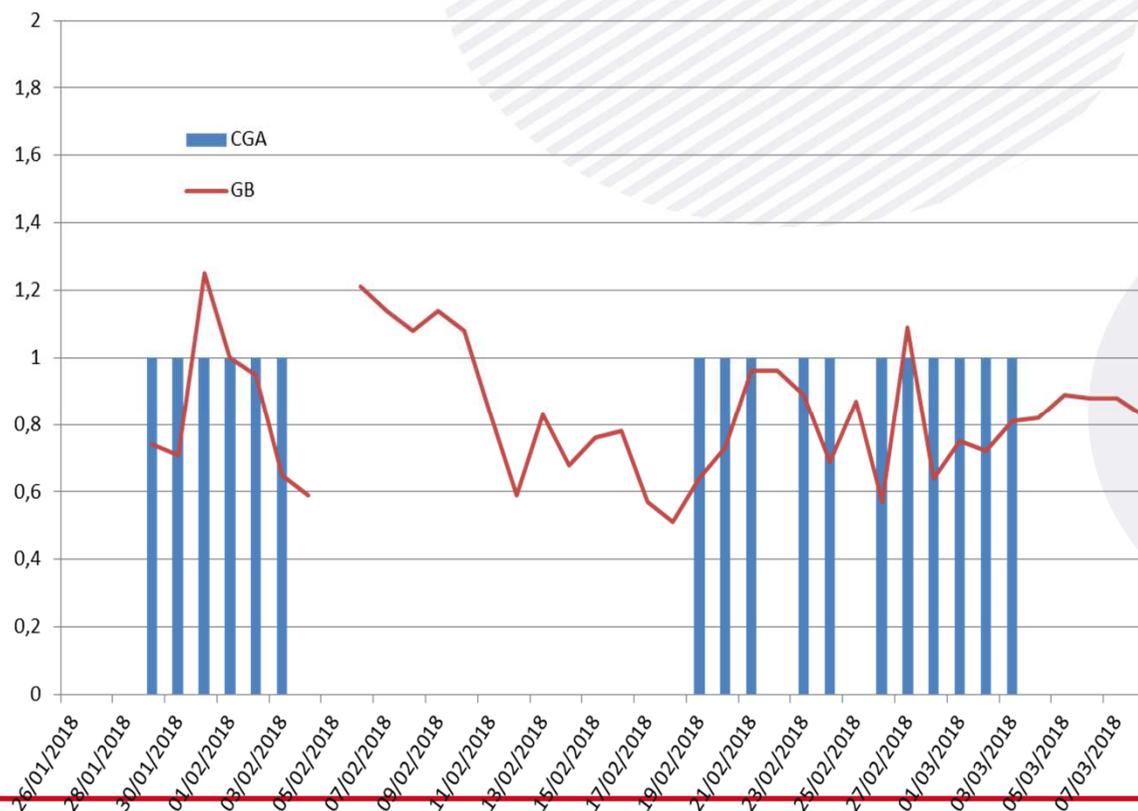
## Patient de 43 ans

- . Diagnostic de Leucémie à Grands Lymphocytes en 2008
  - . Neutropénie importante, devenue chronique
  - . Plusieurs épisodes de cellulite avec infiltration de la paroi rectale et micro-abcès péri-rectaux.
  - . Transfusions de 6 CGA en janvier 2018 avec nette amélioration locale.
  - . Traitement immuno-suppresseur en février 2018, mais sans efficacité.
  - . Récidive Cellulite nécrotico-extensive torpide
  - . Nouvelle indication de CGA en février : 11 CGA
  - . Nouvelle indication fin mai : 4 CGA
- ⇒ mise à plat chirurgicale possible

# CAS CLINIQUE 1



## Suivi transfusions de CGA



# CAS CLINIQUE 1



Evolution clinique cellulite nécrotico-extensive



Avant transfusion CGA



Après transfusion CGA et reprise chirurgicale

# CAS CLINIQUE 1



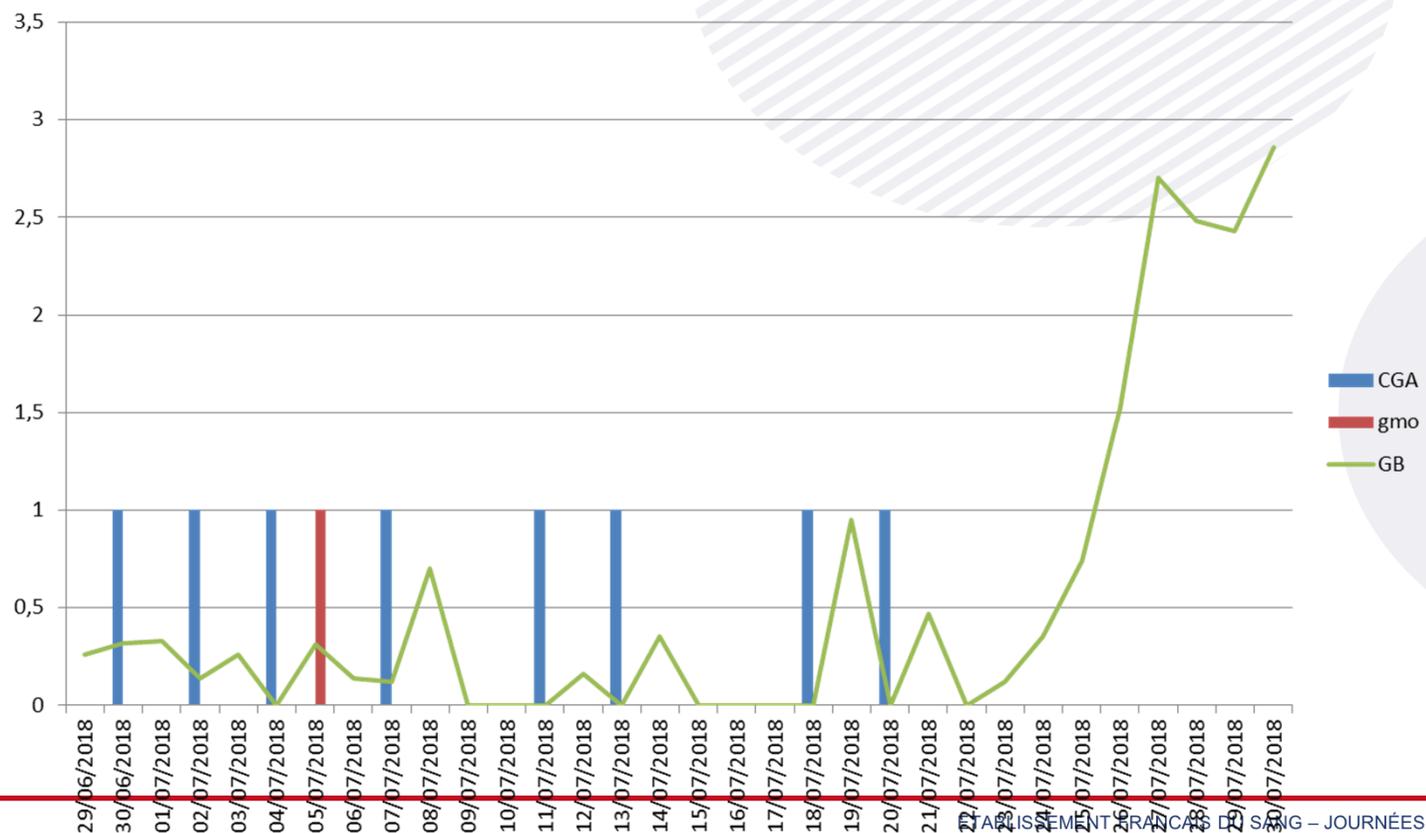
## Décision greffe de CSH

- Sans nouvelle perspective thérapeutique, décision de réaliser une greffe de cellules Souches Hématopoïétiques « de sauvetage » pour éviter une rechute de sa maladie hématopoïétique
- Greffe programmée le 05/07/18, entrée dans le service le 27/06/18
- Persistance de la cellulite, améliorée mais pas guérie → absence de cicatrisation.
- Patient toujours sous antibiothérapie large spectre mais avec des germes hospitaliers multi résistants (K. Pneumoniae, Pseudomonas, Enterobacter, ...)
- Réunion de concertation avec référents EFS et cliniciens
- Validation de l'indication de CGA pendant la période de la greffe, avec un planning comportant une transfusion de CGA un jour sur deux, jusqu'à la sortie d'aplasie.
- Prélèvements réalisés en priorité par le site de Besançon, avec complément par les sites de IdF.

# CAS CLINIQUE 1



## EVOLUTION NUMERATION/FORMULE



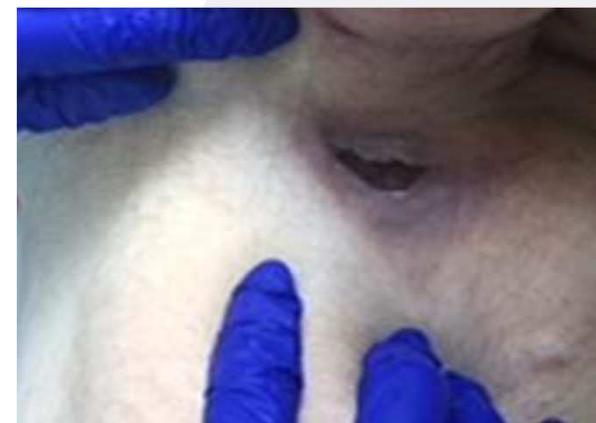
# CAS CLINIQUE 1

## ↪ EVOLUTION CLINIQUE DU PATIENT

L'évolution a été très favorable

- prise de greffe, sortie d'aplasie et sortie du service le 09/08
- revu en hôpital de jour avec une disparition des lésions de cellulite
- revu le 29/10 (J116) , va parfaitement bien, disparition des lésions

➔ Aura reçu 29 CGA



## CAS CLINIQUE 2



### Patiente de 6 ans

- . Diagnostic de Leucémie Aigüe Myéloïde, faisant découvrir secondairement une maladie de Fanconi
  - . Aplasie profonde persistante après la 2<sup>ème</sup> cure de chimiothérapie
  - . Prévion d'une consolidation par allogreffe de moelle osseuse
  - . Développement d'une aspergillose pulmonaire invasive, réfractaire à une bi-thérapie
    - ⇒ Retard à la greffe
    - ⇒ Aplasie très prolongée voir définitive
-  nécessité de contrôler l'infection avant allogreffe
- . Indication de transfusion de CGA (18 entre le 20/02/19 et le 23/03/19)

## CAS CLINIQUE 2



### Résultats

- . Polyglobulie après les 1ères transfusions de CGA
  - ⇒ réalisation de saignées
  - Adaptation du volume de saignées en fonction de l'apport en Hb du CGA
- . Volume des transfusions limité à 320 ml (soit 20ml/kg) du fait du faible poids de la patiente (=16kg)
- . Désérythrocytation manuelle après sédimentation du CGA quand elle était possible (Ht <5% au lieu de 25%)
  - ⇒ Limitation maximale de l'apport d'Hb pour éviter une saignée à l'enfant

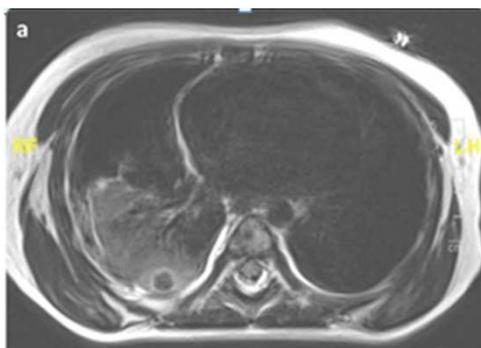


## CAS CLINIQUE 2

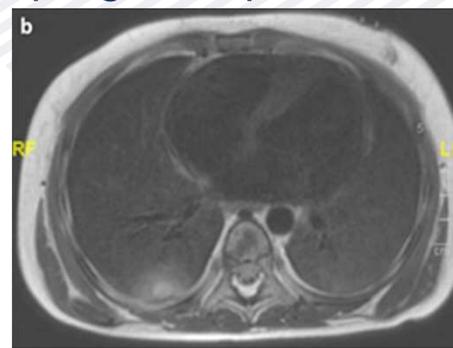


### Evolution clinique

- . Amélioration très nette de l'aspergillose pulmonaire



18 février 2019



27 février 2019

- . Greffe de CSH le 21/03/19
- . Suspension transfusion des CGA pendant le conditionnement pré-greffe, reprise jusqu'à la sortie d'aplasie
- . Aucune complication infectieuse en période post-greffe
- . A 6 mois de la greffe, patiente vivante et en rémission de sa leucémie