



LE PLATEAU TECHNIQUE DE PREPARATION

Ingrid LE BLEIS – Yann GIRAUD

SOMMAIRE



LA PRÉPARATION DES PSL

Organisation du plateau technique de Nantes

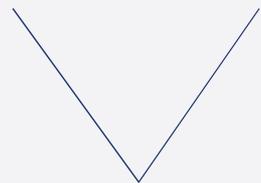
Le parcours d'une poche de sang total

Autres activités

PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX ET COLLABORATIONS AVEC
DES ENTREPRISES EXTÉRIEURES

LES TECHNIQUES D'INACTIVATION DES PATHOGÈNES À L'EFS

Pas de conflits d'intérêt



LA PRÉPARATION DES PSL

Organisation du plateau technique de Nantes

- Traitement de tous les dons prélevés dans les départements 44, 49, 53, 72, 85.
- 26 ETP dont 1 responsable d'activité, 2 adjoints, 21 techniciens de laboratoire, 1 employée de production et une équipe de personnel intérimaire (techniciens de laboratoire et employés de production pour les étudiants).



Organisation du plateau technique de Nantes

↪ La préparation des PSL, qu'est-ce que c'est ?

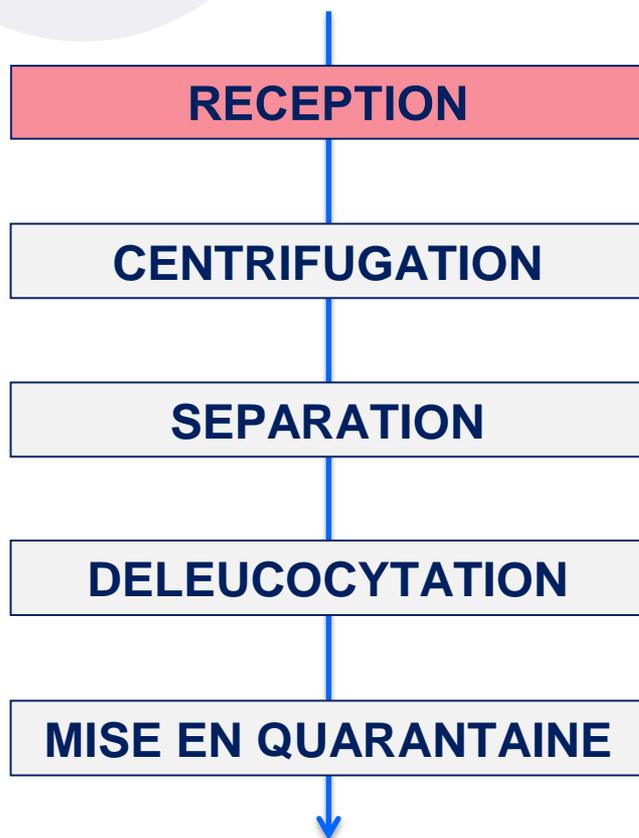
- Réceptionner et transformer les différentes matières premières (ST et Aph) en produits finis pour nos clients, en garantissant une sécurité transfusionnelle optimale pour les receveurs, et dans le plus grand respect des donneurs.

↪ En CPDL, il existe 2 types de DMU de Sang Total

- DMU 2C (2 Composants) = poches quadruples :
 - CGRD
 - Plasma pour LFB (GB < 1,10⁶/litre)
- DMU 3C (3 Composants) = poches quintuples
 - CGRD
 - Couche leuco-plaquettaire (Buffy Coat)
 - Plasma pour LFB, ou plasma thérapeutique PFC Sécurisable ou PFCM IA (GB < 1,10⁴/litre)

Le parcours d'une poche de sang total

Traitement primaire d'une poche de sang total 3C



Le parcours d'une poche de sang total

Traitement primaire d'une poche de sang total 3C

RECEPTION

CENTRIFUGATION

SEPARATION

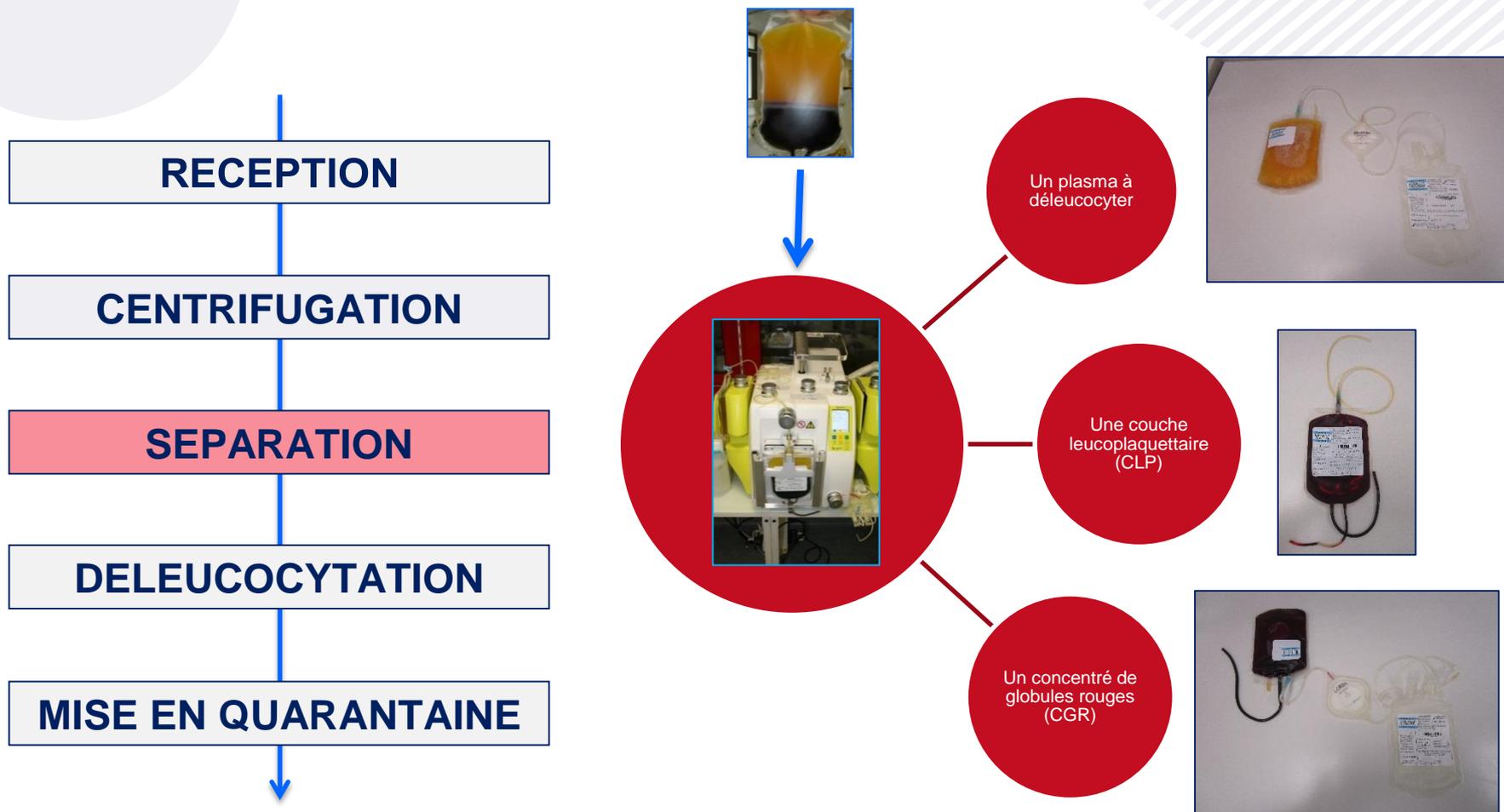
DELEUCOCYTATION

MISE EN QUARANTAINE



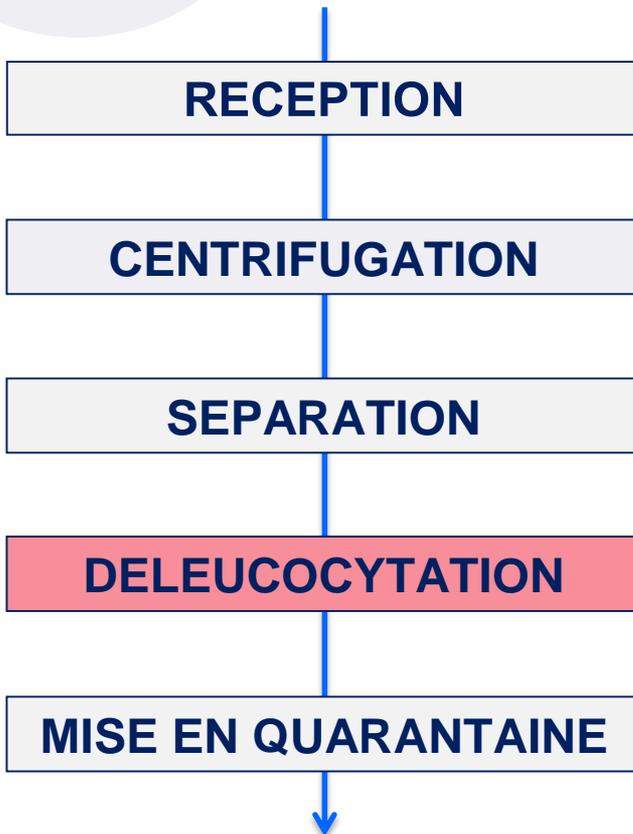
Le parcours d'une poche de sang total

Traitement primaire d'une poche de sang total 3C



Le parcours d'une poche de sang total

Traitement primaire d'une poche de sang total 3C



↪ Déleucocytation par filtration en gravité totale



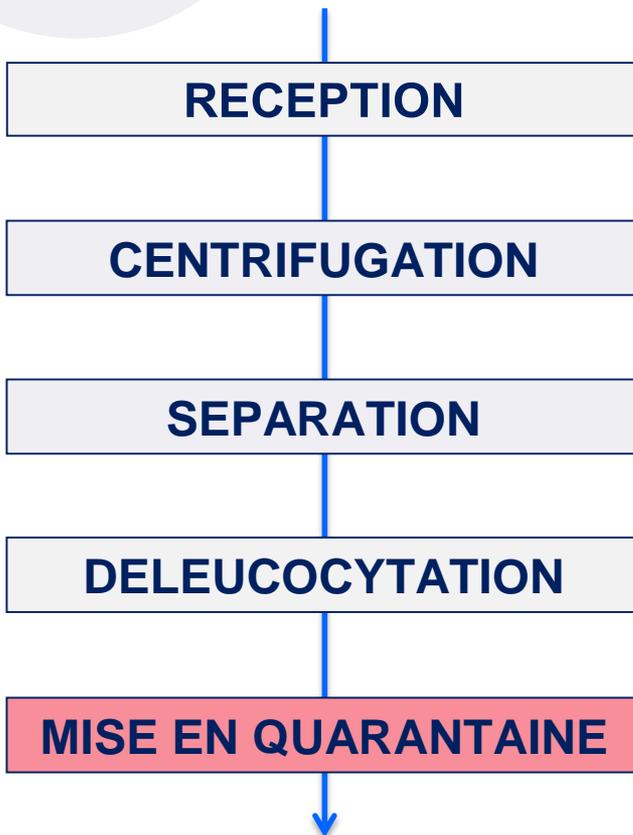
↪ Plasma :
Entre 2 et x minutes



↪ CGR:
Entre 10 et 70 minutes

Le parcours d'une poche de sang total

Traitement primaire d'une poche de sang total 3C



➤ Pour les Couches Leuco Plaquettaires (CLP) :

- Repos de 1 heure minimum avant démarrage fabrication des Mélanges de Concentrés plaquettaires

➤ Pour les CGR :

- Réalisation de 4 échantillons sur tubulure par soudure :
 - 1er pour contrôle groupe sanguin en Préparation
 - 2 suivants pour épreuve de compatibilité en IH
 - 1 dernier pour contrôle ultime au lit du malade
- Mise en quarantaine à +4°C jusqu'à libération

➤ Pour les Plasmas :

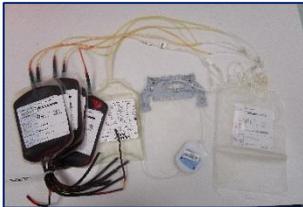
- Inactivation Intercept® pour certains d'entre eux avant congélation
- Pour les autres (sécurisables et LFB) :
 - Pesée avant surgélation à -80°C
 - Mise en quarantaine à -35°C avant libération

Le parcours d'une poche de sang total

Fabrication des MCP et traitement Intercept

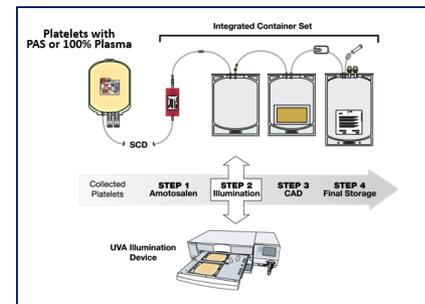
➔ Après repos des Couches Leuco Plaquettaires :

- Mélange de 5 CLP de caractéristiques identiques (Groupe, Rhésus, hémolyse) pour l'obtention d'un MCPD (Mélange de Concentrés Plaquettaires Déleucocyté)



➔ Traitement Intercept

- Ajout Amotosalen (intercalent acides nucléiques)
- Illumination UVA (création de liaisons covalentes irréversibles)
- Elimination de l'Amotosalen résiduel par adsorption (durée mini 6h, maxi 16h)



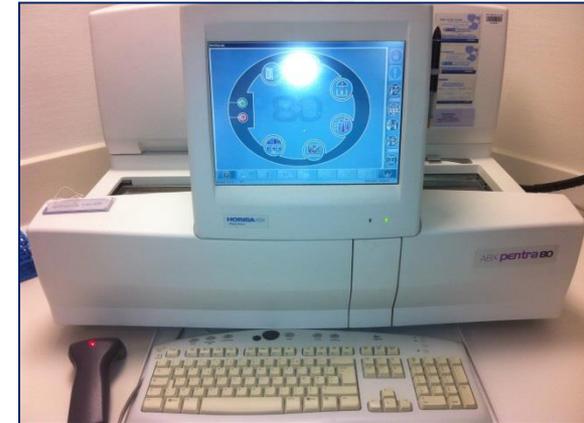
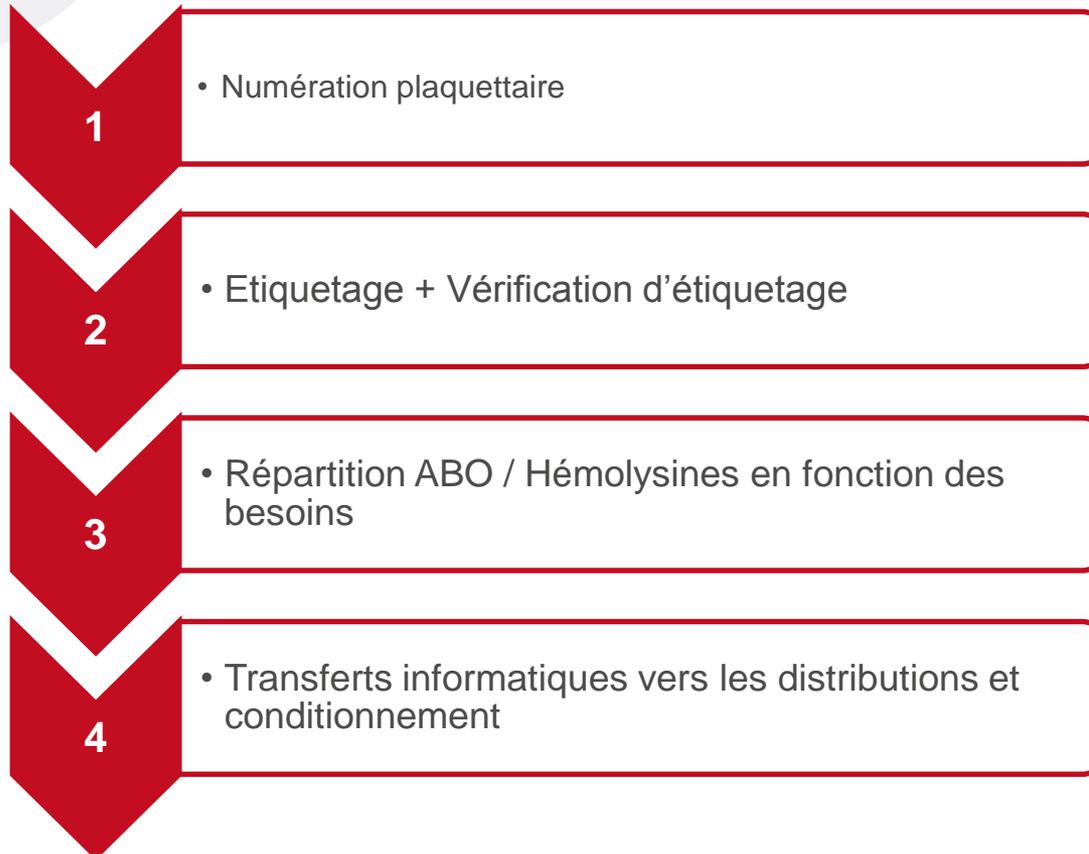
Le parcours d'une poche de sang total

Libération des produits finis - CGR



Le parcours d'une poche de sang total

Libération des produits finis - MCP



Le parcours d'une poche de sang total

Libération des produits finis - Plasmas

Plasmas pour LFB

1

• Encodage RFID et expédition informatique

2

• Conditionnement en carton

3

• Envoi au Mans pour stockage (passage LFB hebdomadaire)



Plasmas sécurisables

1

• Transfert informatique

2

• Conditionnement sur Pallys

3

• Expédition vers UCP tous les 15 jours



Plasmas IA

1

• Etiquetage + Vérification

2

• Transfert vers les distributions de France à la demande ou en fonction des besoins

3

• Conditionnement et expédition



Le parcours d'une poche de sang total

Les conditions de conservation des PSL



CGR :

42 jours entre +2°C et +6°C



Concentrés de plaquettes :

5 jours entre +20°C et +24°C sous agitation permanente



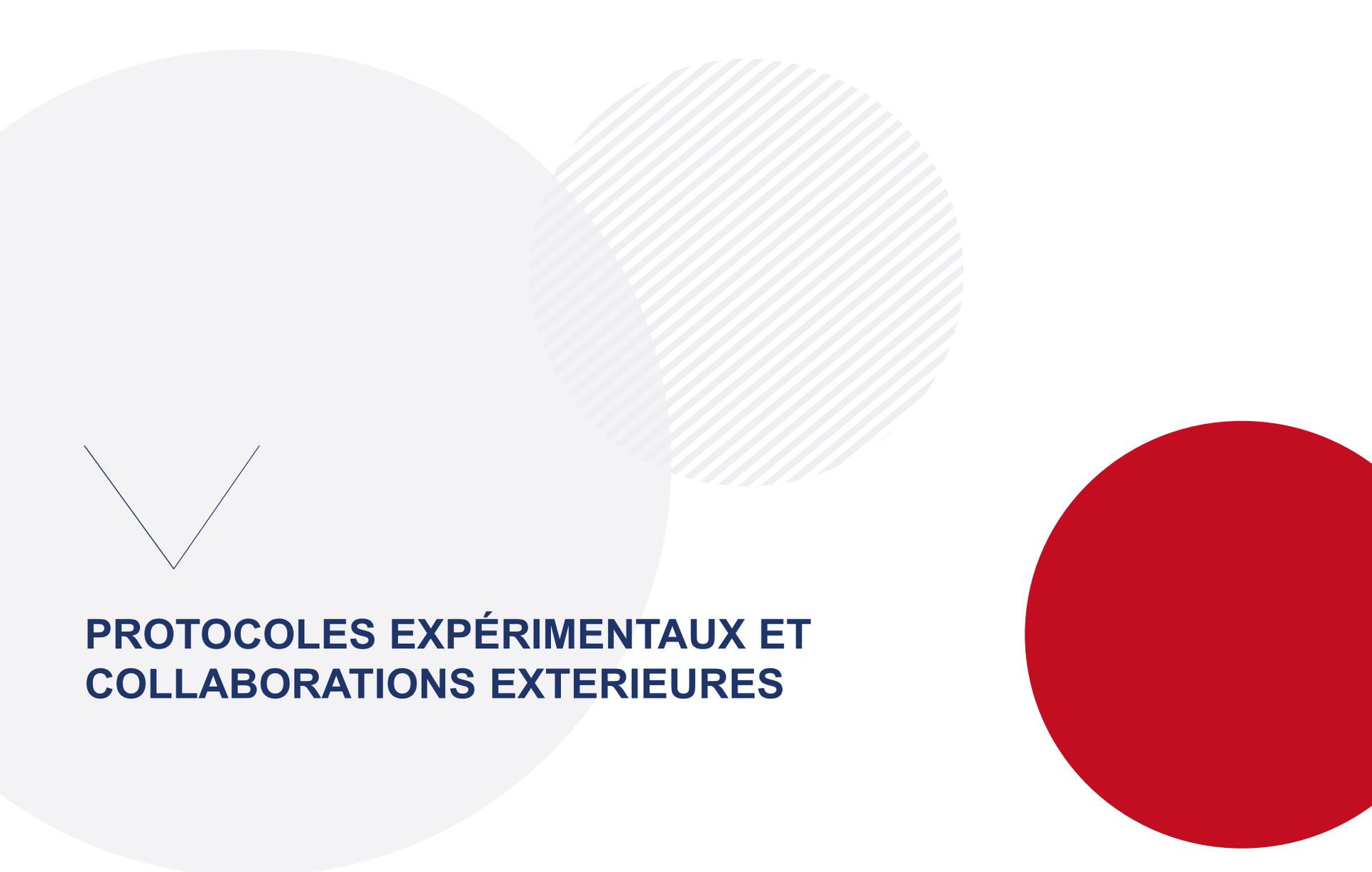
Plasmas :

LFB : 6 mois pour cat.1 et 9 mois pour cat. 2 à une température <-30°C

Thérapeutiques : 1 an à une température <-25°C.

Autres activités

- ◆ Traitement des produits d'aphérèses (CPA et Plasma)
- ◆ Traitement des produits autologues
- ◆ Gestion de PLER (Produits Laboratoire Enseignement Recherche)
- ◆ Transformations : division de CGR et CPA, déplasmatisation de CGR et CPA, reconstitution de sang total, réduction de volume pour transfusion in-utero
- ◆ Techniques d'inactivation des pathogènes
 - D'une partie des plasmas issus de ST et d'aphérèses
 - De 100 % des concentrés plaquettaires



**PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX ET
COLLABORATIONS EXTERIEURES**

Aenitis Technologies



↪ Start-up française :

- ◆ « *Développe des dispositifs innovants sur les mécanismes de manipulation acoustique en biotechnologies, permettant de séparer et manipuler des particules et des objets biologiques telles que des cellules souches ou cancéreuses* »
- ◆ Séparation des cellules sanguines par ultra-sons en fonction de leur propriétés physiques telles que volume et densité : Acoustophorèse
 - En théorie
 - En pratique

↪ Collaboration avec le plateau technique nantais

- ◆ Actuellement : fourniture de Sang total non thérapeutique pour essais en interne chez Aenitis
- ◆ A venir : essais d'un prototype au sein du service Prépa

➤ Start-up française :

- « *Spécialisée dans l'auto-transfusion et la stratégie d'épargne sanguine (Patient Blood Management)* »
- i-SEP a conçu une technologie permettant de récupérer le sang d'un patient au cours d'une intervention chirurgicale, de le traiter avant de le lui retransfuser.
(Voir présentation de Mr PICOT Sylvain)

➤ Collaboration avec le plateau technique nantais et le CQ

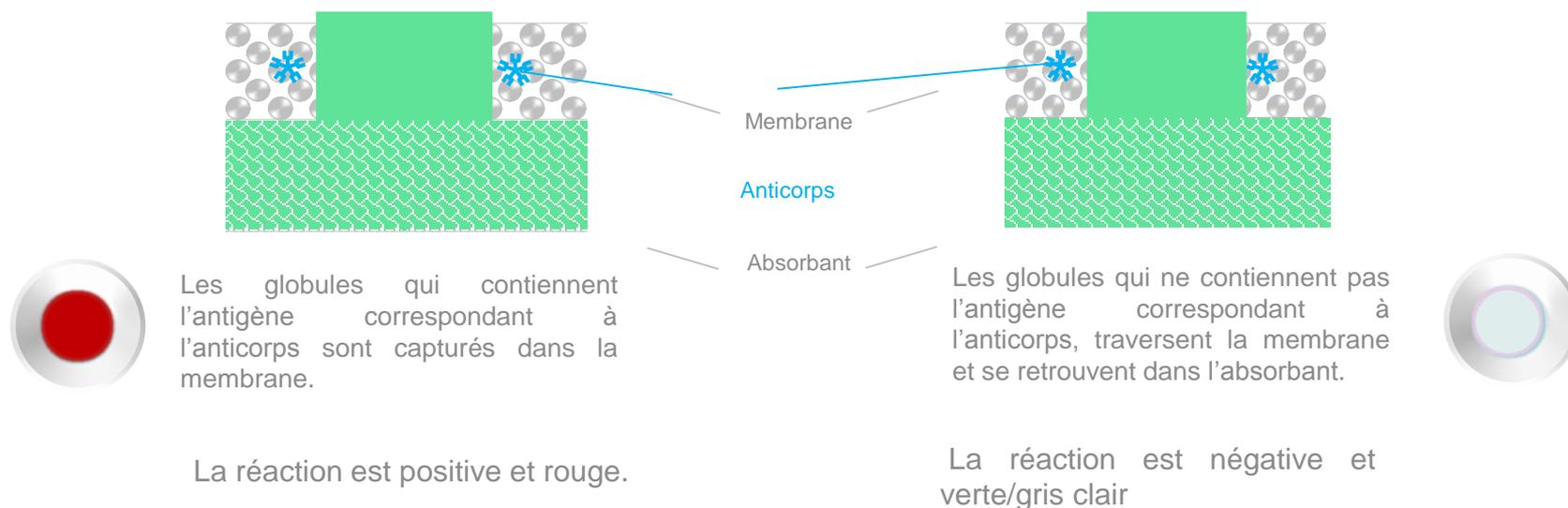
- Actuellement :
 - Fourniture de Sang total et CGR non thérapeutiques
 - Essais en interne chez i-SEP
 - Essais au sein du plateau de préparation en collaboration avec 3 techniciens de l'équipe (méthode, prototype, ...)

DIAGAST et ABD-PAD®



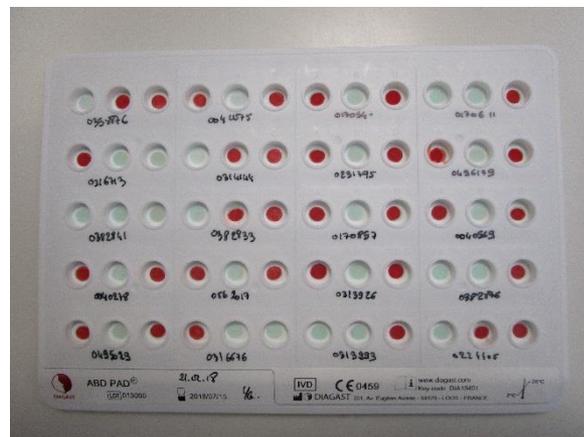
➔ ABD PAD®

- ◆ Prolongement de la gamme ABTest CARD® déjà utilisée pour les contrôles ultimes pré-transfusionnels dans les centres de soins ou dans les Services Hospitaliers
- ◆ Technologie M-Trap :



DIAGAST et ABD-PAD®

↪ ABD PAD®



DIAGAST et ABD-PAD®

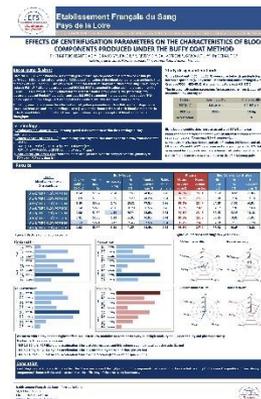
↪ Collaboration avec le plateau technique nantais

- Validation pour obtention marquage CE (Juin 2017)
 - par comparaison avec technique de référence (réactifs Eurobio) : près de 1500 échantillons testés, dont 500 minimum nécessaires pour le dossier « marquage CE » pour les 2 types d'échantillon disponibles en Préparation sur les CGRD :
 - **CGR-SAGM** pour les poches T&B (50%<Ht<70%)
 - **ST centrifugé** pour les poches T&T (Ht ≈ 95%)
 - Evaluation de l'impact environnemental par rapport à la technique de référence
 - Evaluation de l'ergonomie du système
- Poster et intervention orale SFTS Bordeaux
- Validation de l'uniformisation des techniques pour les 2 types d'échantillon (Février 2018)
- A venir : essais à grande échelle sur d'autres plateaux de préparation

Collaborations avec Fresenius

↪ Fresenius :

- ◆ Entreprise internationale spécialisée, entre autre, dans le domaine de la transfusion (poches de sang, solution de conservation, matériel, etc...)
- ◆ Dossier ANSM phase II pour le DMU de fabrication de MCP en méthode manuelle (Réf.PT52600) dans le cadre du PCA de l'EFS.
- ◆ Etude de l'impact des paramètres de centrifugation sur les récupérations plasmatiques et plaquettaires (Poster ISBT Dubaï, SFTS Bordeaux)



Collaboration avec Macopharma



↪ Macopharma :

- ◆ Entreprise internationale spécialisée, entre autre, dans le domaine de la transfusion (poches de sang, solution de conservation, matériel, etc...)
- ◆ Demande autorisation ANSM pour la filtration des CGRD issus de poches T&B jusqu'à 72 heures après le don, avec conservation et déleucocytation à +4°C entre 24 et 72h.
- ◆ A venir : Nouvelle série de 100 CGRD suite refus ANSM des précédents dossier (% de CGR déleucocytés entre 48 et 72h après le don insuffisant)

Collaboration avec le CFA La Joliverie

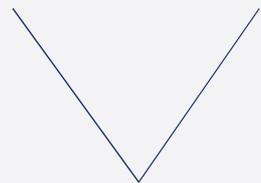


↪ La Joliverie:

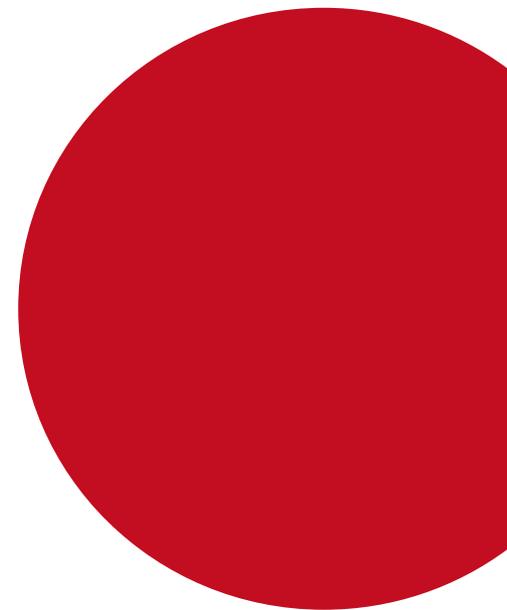
- ◆ Centre de formation en alternance
- ◆ Projet de création d'un automate permettant de vérifier l'étanchéité des connexions stériles réalisées au sein du plateau technique de Nantes, tout en garantissant une traçabilité informatique de cette vérification ainsi qu'une protection du technicien réalisant l'opération.



- ◆ Projet mis en standby : de multiples difficultés ont été rencontrées, entre autre sur la fiabilité. Un fournisseur a sorti entre temps sur le marché un automate de ce genre.



INACTIVATION DES PATHOGÈNES DANS LES PSL



Inactivation des pathogènes dans les PSL

Généralités

- ◆ Inactivation des pathogènes = destruction ou réduction de la charge d'agents pathogènes dans les produits sanguins labiles (Virus, Bactéries, Parasites) afin d'éviter la transmission d'agents infectieux par le sang (dont agents émergents), les IBTT pour plaquettes, les réactions GVH

- ◆ A l'EFS :

- Sélection des donneurs grâce à l'EPD
- Technologie de pointe en QBD (Sérologie, DGV...)
- Déleucocytation de l'ensemble de PSL depuis longue date à l'EFS

Et....

- Intercept® sur CP en place depuis longue date en Alsace (2004-2005) et 2006 dans les DOM
- Intercept Plasma mis en place suite à l'arrêt de la production de PFC SD par l'EFS de Bordeaux
- Généralisation de l'utilisation de la technique Intercept® sur l'ensemble des CP du territoire métropolitain.

Inactivation des pathogènes dans les PSL

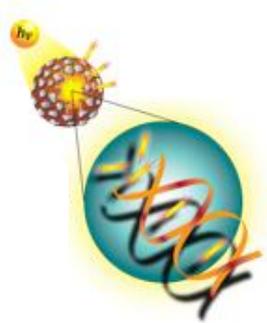
Généralités

- ◆ De multiples techniques existent pour les PSL:
 - Physique
 - Centre de transfusion :
 - Déleucocytation du plasma (virus lymphotropes tels CMV, HTLV, Epstein Barr)
 - Industrie pharmaceutique (pour les dérivés du plasma) :
 - Pasteurisation (Liquide soumis 60°C pendant 10heures pour dérivé du plasma)
 - Nanofiltration (15-35 nm)
 - Chauffage à sec (Produits lyophilisés soumis entre 60 et 100°C pendant des durée parfois longues (plusieurs jours))
 -
 - Photochimique
 - Bleu de méthylène + lumière visible
 - Amotosalen-HCl + UVA
 - Riboflavine + UVB
 - Bleu de méthylène + lumière visible
 - UVC
 - Biochimique (industrie pharmaceutique)
 - Viro-atténuation par solvant-détergent

Inactivation des pathogènes dans les PSL

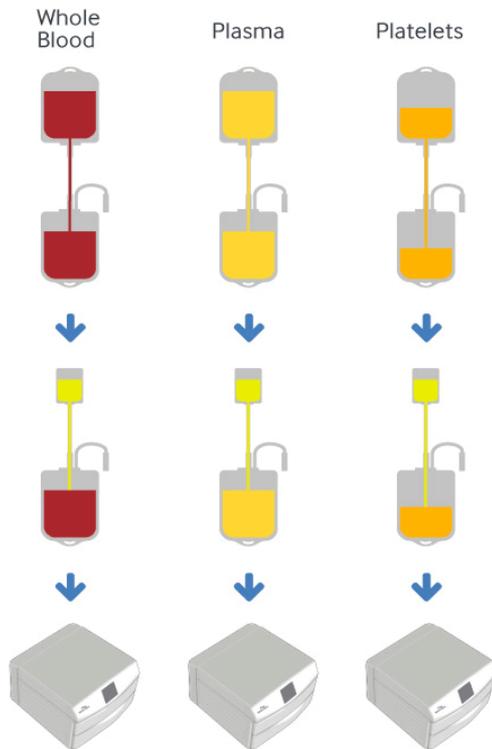
↳ Technique Terumo.BCT : MIRASOL®

- ◆ Non utilisée en France
- ◆ Utilisation de Riboflavine (Vitamine B2) + UVB
- ◆ Fixation aux acides nucléiques par intercalation. Les rayons UV provoquent ensuite une rupture des acides nucléiques et la formation de ponts covalents sur les acides nucléiques dégradés.
- ◆ Pas d'élimination de la riboflavine résiduelle ou photoproduits

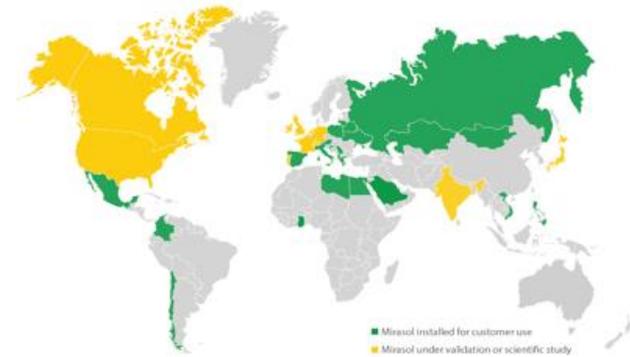


Inactivation des pathogènes dans les PSL

Technique MIRASOL



Mirasol Worldwide Availability



Plus de 750,000 DMU utilisés en routine use >20 pays

Inactivation des pathogènes dans les PSL

Techniques Macopharma

◆Théraflex® BM - Plasma Bleu de méthylène

- Affinité avec les acides nucléiques (G-C)
- Réaction photodynamique avec lumière visible produisant des formes d'oxygène actives entraînant la dénaturation irréversible des acides nucléiques (empêche réplication et transcription ADN/ARN)n
- Après réaction, élimination bleu résiduel et photoproduits

Methylene blue is a phenothiazine-based photosensitizer with particular affinity for guanosine-cytosine pairs. It intercalates into viral nucleic acid and subsequent illumination generates singlet oxygen leading to guanosine oxidation and destruction of the viral nucleic acid preventing viral replication.^{1,2}



Bibliography:

- 1/ S.J. Wagner. Virus inactivation in blood components by photoactive phenothiazine dyes. *Transfus Med Rev* 2002;16:61-6.
- 2/ M. Wainwright, H. Mohr, W.H. Walker. Phenothiazinium derivatives for pathogen inactivation in blood products. *J Photochem Photobiol* 2007;86:45-58.

CLINICAL EXPERIENCE OF THERAFLEX MB-PLASMA: ROUTINE USE IN EUROPE, SOUTH AMERICA AND ASIA PACIFIC.



Countries : Germany, Spain, Greece, Italy, United Kingdom, Belgium, Malaysia, Argentina, Russia, Belarus, Austria, Brazil, Singapore, Poland, Armenia, Kazakhstan, Turkmenistan, Hong Kong...

Bibliography : 1/ J. Seghatchian, W.H. Walker, S.Reichenberg. Updates on pathogen inactivation of plasma using Theraflex methylene blue system. *Tradfusion and Apheresis science* 2008; 271-280.

Inactivation des pathogènes dans les PSL

➔ Techniques Macopharma

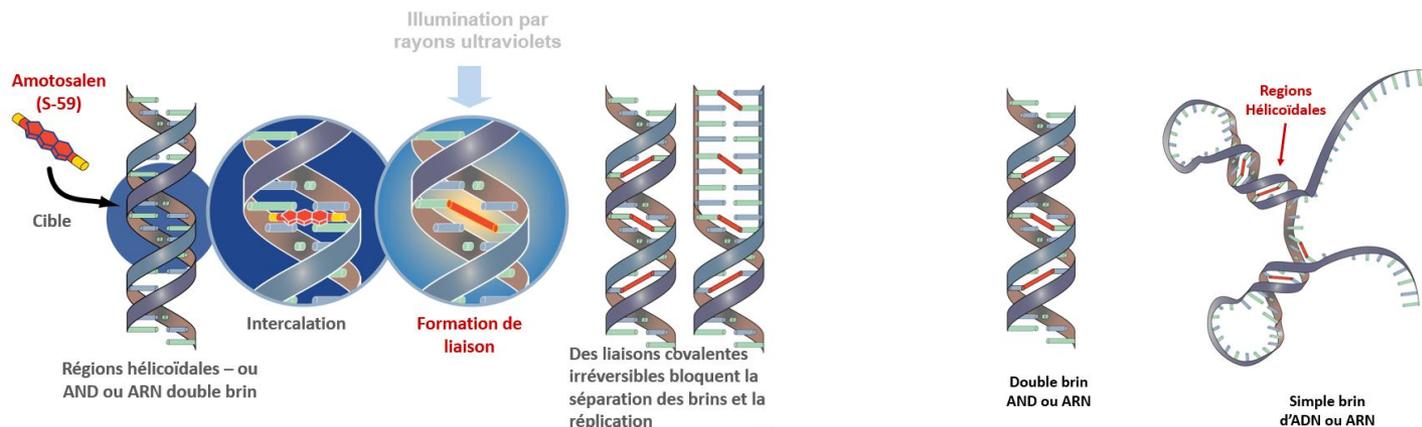
- ◆ Filtre à prion P-Capt pour CGRD : dispositif marqué CE depuis 2006 mais non utilisé dans le monde
- ◆ Théraxflex-UVC
 - La technologie est marquée CE. Macopharma prépare un essai Clinique phase III pour évaluer les plaquettes THERAFLEX UV-treated transfusés aux patients.



Inactivation des pathogènes dans les PSL

Techniques Cerus

- IBS (Intercept Blood System) Plasma et Plaquettes, actuellement utilisées à l'EFS
- Utilisation de l'Amotosalen (S-59 intercalent acide nucléiques A-T/A-U) + UVA



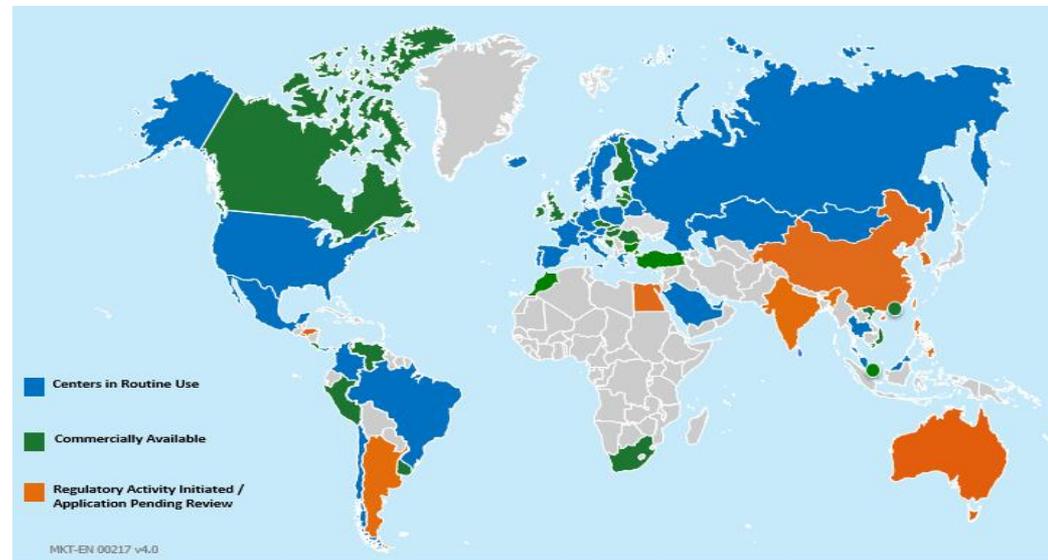
- En fin de process, élimination de l'Amotosalen résiduel

Inactivation des pathogènes dans les PSL

↪ Techniques Cerus

◆ IBS Plasma et Plaquettes (suite)

- En cours de finalisation « double dose » sur MCP 8 CLP (1 MCP = 1 processus d'inactivation = 2 doses thérapeutiques finales)



Inactivation des pathogènes dans les PSL

Techniques Cerus

◆ IBS CGRD (en cours d'essais)

- Utilisation Amustaline (S-303 intercalent acide nucléique) + Gluthation (minimise réaction non spécifique de l'amusatline) 7
- Inactivation en 3h et produit disponible en 18h, après que lle S-303 soit intégralement dégradée en un composé inactif S300,



- Elimination du S300 par centrifugation et extraction du surnageant avant ajout solution de conservation CGRD.

Merci

↪ Contact

Ingrid LE BLEIS et Yann GIRAUD, responsables adjoints plateau technique de Préparation de Nantes

- ◆ e-mail : ingrid.lebleis@efs.sante.fr; yann.giraud@efs.sante.fr
- ◆ Tél. : 02 40 12 33 00

