

# Préparation des sangs placentaires

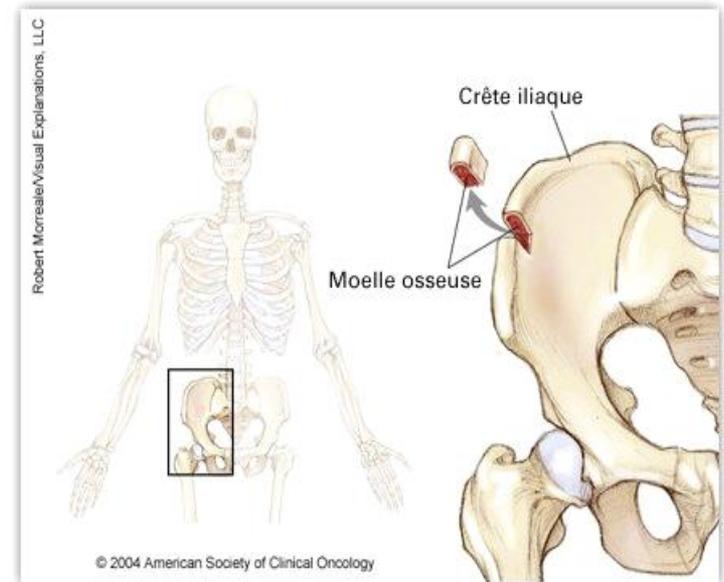
# HÉMATOPOÏÈSE

Numération formule: toujours la même quantité de cellules par litre de sang :

- 4 à  $5.10^{12}$  globules rouges
- 5 à  $10.10^9$  globules blancs
- 200 à  $400.10^9$  plaquettes

Pathologies de production de la MO

- Leucémie aigüe = prolifération excessive
- Aplasie = arrêt de prolifération



# HÉMATOPOÏÈSE

## Durée de vie des cellules sanguines:

Hématies 120 j



Leucocytes 2 à 10 j



Plaquettes 10 j



## Production

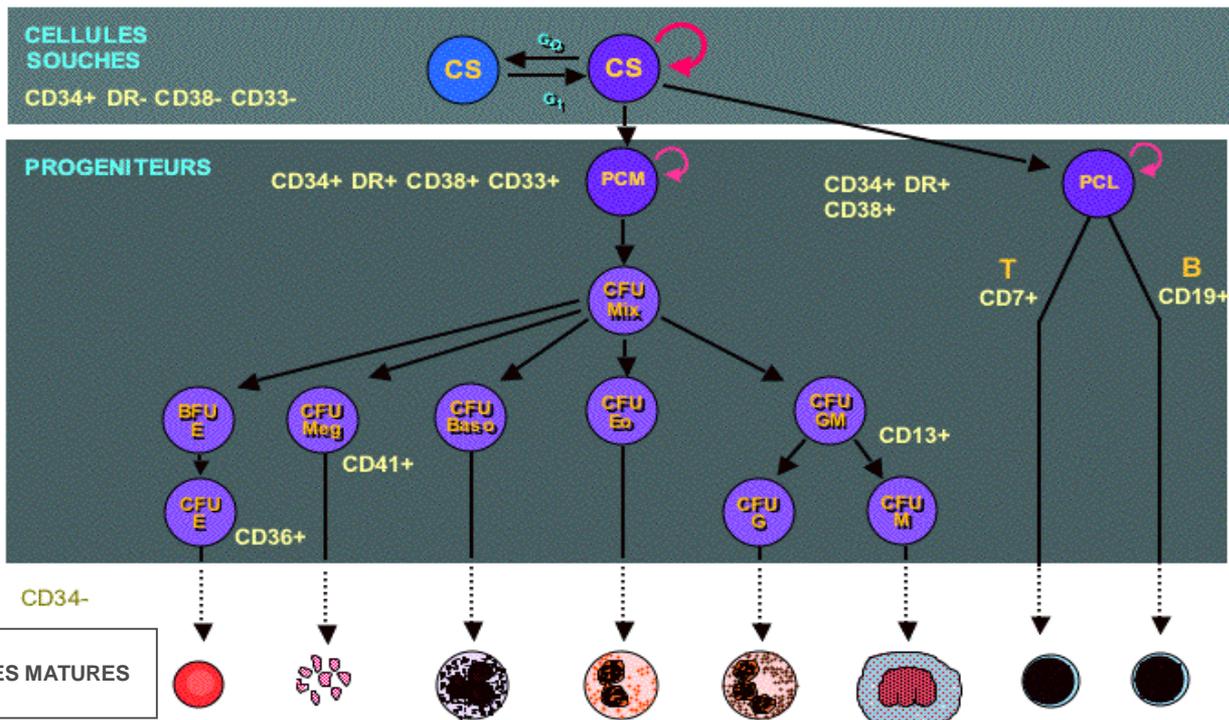
200 10e9 par jour

50 à 100 10e9 par jour

100 10e9 par jour

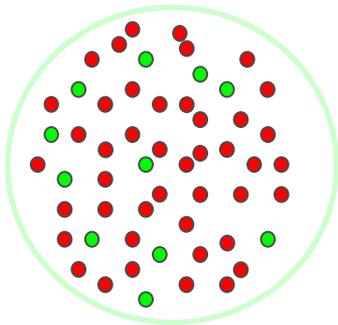
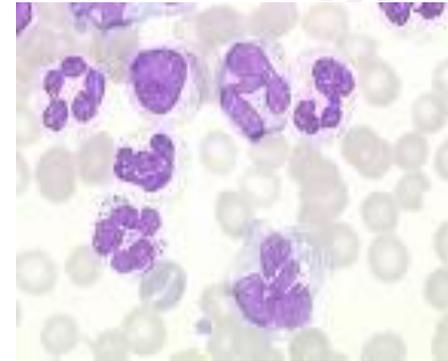
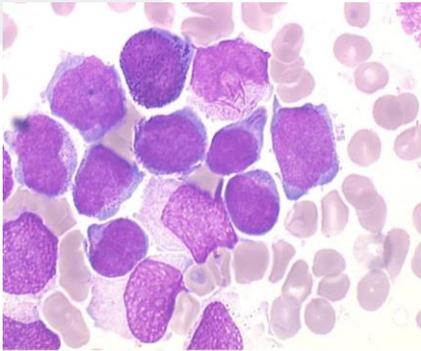
# CELLULE SOUCHE HÉMATOPOÏÉTIQUE

## Identification immunophénotypique des cellules souches et des progéniteurs hématopoïétiques



Hématologie, Université & CHU de Tours

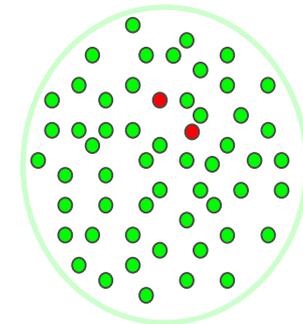
# TRAITEMENT SCHÉMATIQUE DES LEUCÉMIES AIGUES



Moelle osseuse

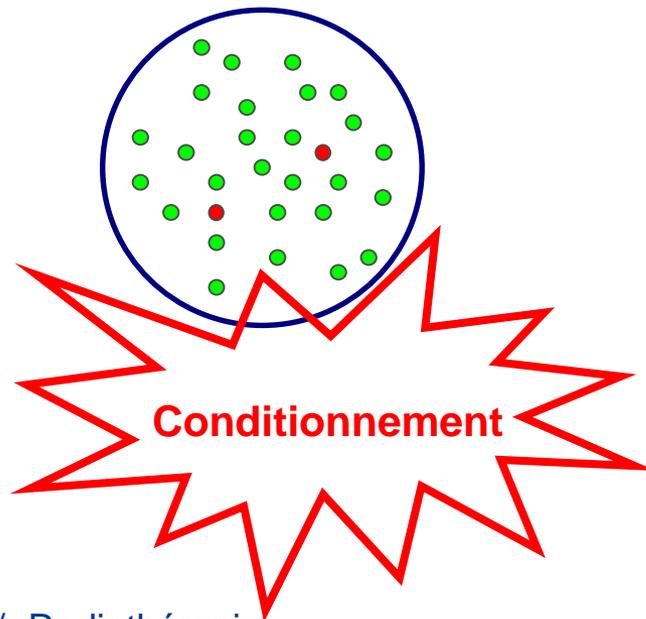


Chimiothérapie



Rémission complète

## Détruire les CSH malades



Conditionnement = Chimiothérapie +/- Radiothérapie

**Buts:** - Détruire la maladie résiduelle

- Bloquer le système immunitaire du patient : prévenir le rejet des cellules allogéniques
- « Faire de la place » pour le greffon : favoriser le « homing » des cellules allogéniques

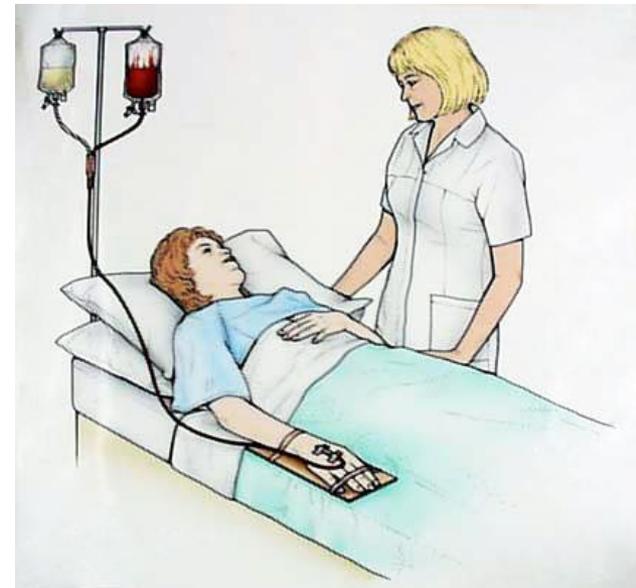
## Remplacer la moelle osseuse malade par la moelle osseuse saine d'un donneur



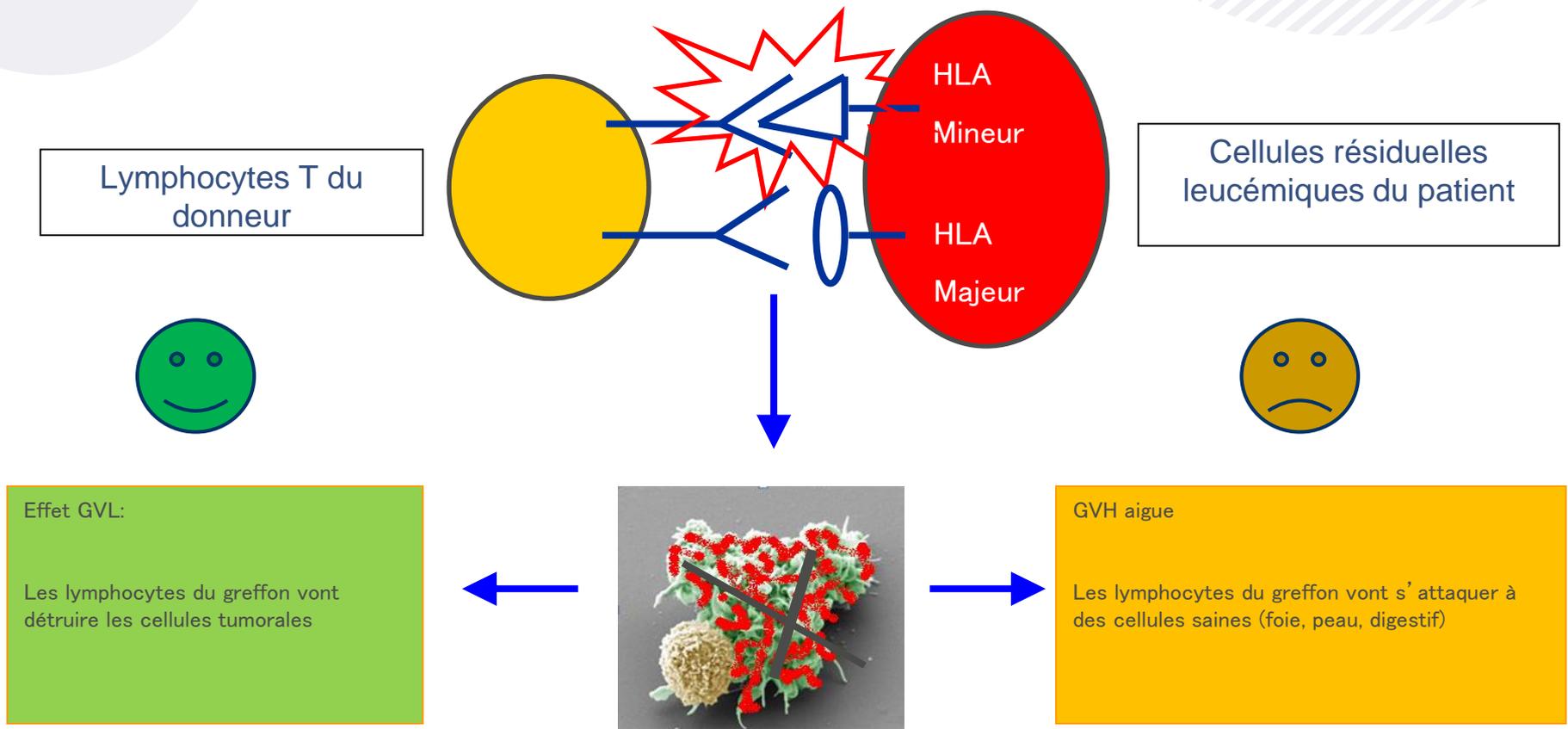
Cellules souches s'installent dans les os pour produire les cellules sanguines



Lymphocytes T:  
·Tuent les cellules cancéreuses résiduelles = effet anti tumoral (effet GvL)  
·Assurent les défenses anti infectieuses



# Principe de l'allogreffe



# CHOISIR LE BON DONNEUR ET LE BON PRODUIT POUR GREFFER UN PATIENT

## LES SOURCES DE CSH

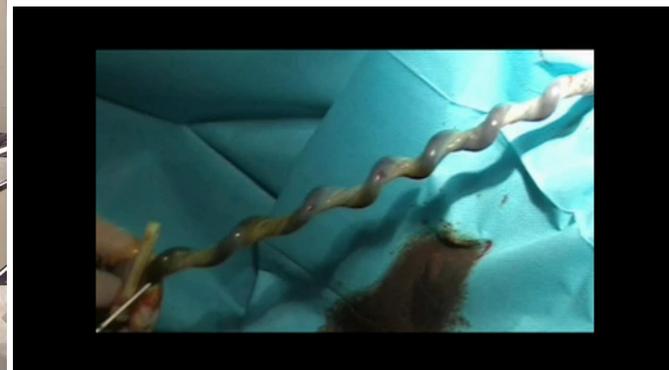
La moelle osseuse



Le sang périphérique après mobilisation par un FCH



Le sang de cordon ombilical



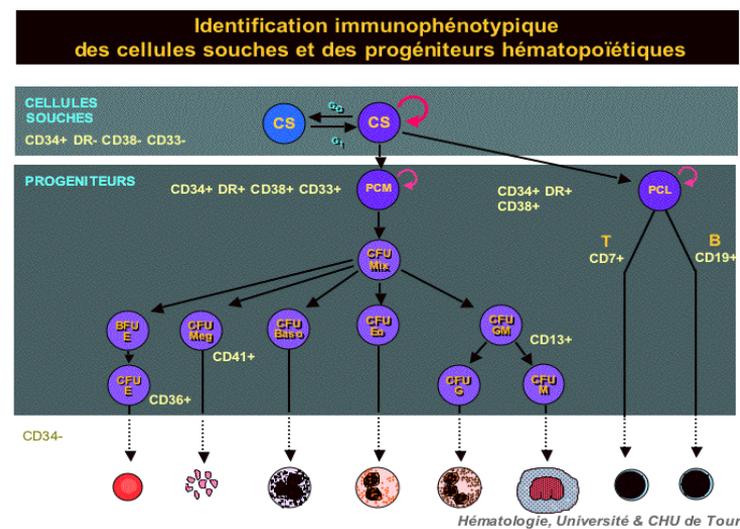


# Le cordon ombilical



# Le prélèvement du sang du cordon

Années 80 Broxmeyer et al : potentiel hématopoïétique / cryoconservation



Proc. Natl. Acad. Sci. USA

Vol. 86, pp. 3828-3832, May 1989

Medical Sciences

**Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells**

HAL E. BROXMEYER\*, GORDON W. DOUGLAS, GIAO HANGOC, SCOTT COOPER, JUDITH BARD, DENIS ENGLISH, MARGARET ARNY, LEWIS THOMAS, AND EDWARD A. BOYSE

# Greffe de CSH de sang de cordon

1988 Hôpital St Louis E. Gluckman et al :  
Première greffe de sang de cordon intra familiale HLA id  
Anémie de Fanconi  
Situation apparentée  
HLA identique



**HEMATOPOIETIC RECONSTITUTION IN A PATIENT WITH  
FANCONI'S ANEMIA BY MEANS OF  
UMBILICAL-CORD BLOOD FROM AN HLA-IDENTICAL SIBLING**

Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach A et al.

*New Engl J Med 1989;321:1174-78*

# LES CARACTERISTIQUES DE LA GREFFE DE SANG DE CORDON

Enrichissement en cellules souches hématopoïétiques et progéniteurs

Forte capacité de prolifération et d'expansion

Capable de se renouveler et de repeupler la moelle osseuse à long terme

Immaturité du système immunitaire à la naissance – Les lymphocytes du nouveau-né sont plus tolérants que les lymphocytes de l'adulte (phénotype naïve et immature CD3+/CD4-/CD8-)

Possibilité de congeler, stocker et de décongeler sans perte des capacités

# LES CARACTERISTIQUES DE LA GREFFE DE SP

## Avantages :

- Collecte facile et sans risque
- Ressource illimitée
- Très peu de risques de transmissions d'infections
- Critères de compatibilité HLA moins restrictifs
- Possibilité d'expansion du pool des donneurs
- Accessible et disponible rapidement

## Limites :

- Volume et nombre de cellules limités
- Impossibilité d'un deuxième don
- Risque de transfert de pathologies non détectées à la naissance
- Rétablissement de la fonction hématologique et immunitaire retardé

# GREFFE DE SANG DE CORDON : INDICATIONS

- ↪ Leucémies aiguës
- ↪ Lymphome malin non hodgkinien
- ↪ Myélodysplasies
- ↪ Myélomes
- ↪ Aplasie médullaire
- ↪ Anémie de Fanconi
- ↪ Déficits immunitaires congénitaux
- ↪ Hémoglobinopathies

- ↪ 1994 greffe de donneurs non apparentés HLA compatible
- ↪ 2000 greffe de sang de cordon non HLA compatible
- ↪ >2000 résultats comparables moelle et sang de cordon chez l'enfant
- ↪ 2004/05 résultats comparables moelle et sang de cordon chez l'adulte
- ↪ 2005 greffe double sang de cordon
- ↪ >2006 augmentation du nombre de greffes de sang de cordon, + d'adultes que d'enfant greffés
- ↪ 2007 recherche en médecine régénérative sur les cellules issues du sang placentaire
- ↪ **Aujourd'hui plus de 15000 patients greffés dans le monde**
- ↪ 2013 Premiers résultats très encourageants des greffes haplo identiques

# LOI n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique (1)

## Article 18

- « Le prélèvement de cellules hématopoïétiques du sang de cordon et du sang placentaire ainsi que de cellules du cordon et du placenta ne peut être effectué qu'à des fins scientifiques ou thérapeutiques, et en vue d'un don anonyme et gratuit, et à la condition que la femme, durant sa grossesse, ait donné son consentement par écrit au prélèvement et à l'utilisation de ces cellules, après avoir reçu une information sur les finalités de cette utilisation.
- Par dérogation, le don peut être dédié à l'enfant né ou aux frères ou sœurs de cet enfant en cas de nécessité thérapeutique avérée et dûment justifiée lors du prélèvement. »

# LE STATUT DU SANG DE CORDON

## DISPOSITIONS APPLICABLES

➔ **L'établissement préleveur doit être autorisé.**

➔ **Respect des bonnes pratiques (Arrêté du 27/10/2010 - arrêté du 19/09/2014)**

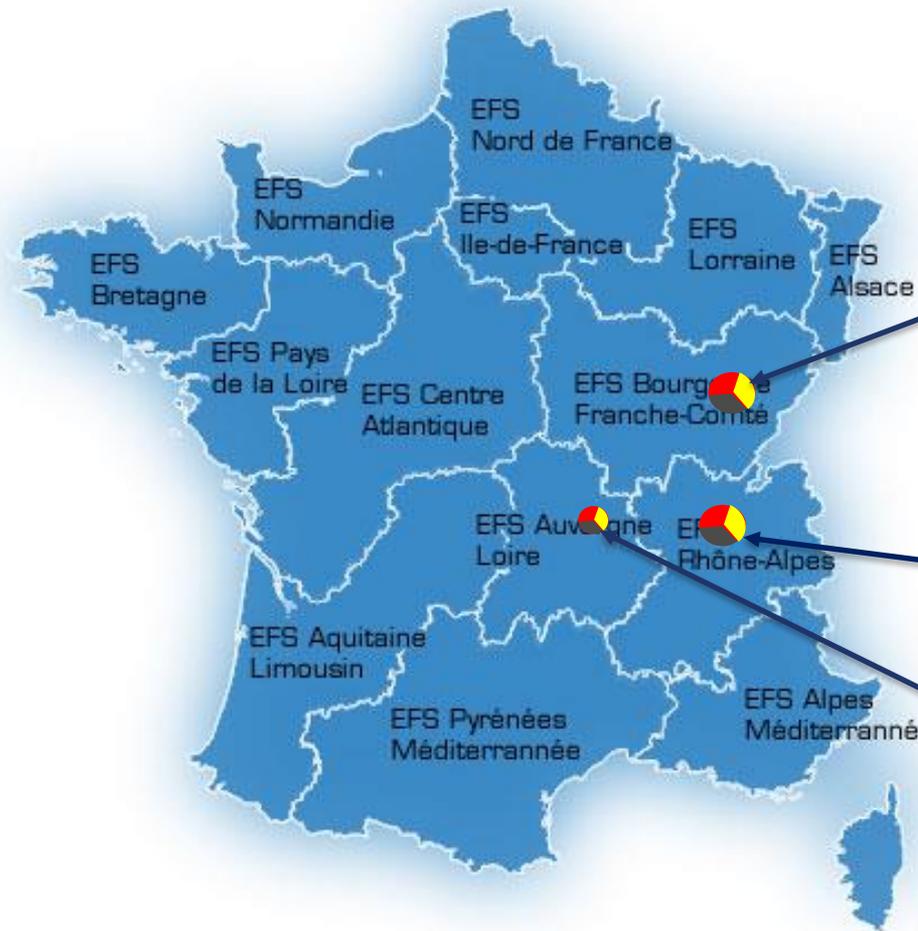
L'établissement qui prépare, qualifie, stock et cède les sangs de cordon doit être autorisé

➔ **Aucune rémunération à l'acte (Article L1242-2)** ne peut être perçue par les praticiens effectuant des prélèvements de tissus et de cellules en vue de don



# LA BANQUE DE SANG PLACENTAIRE

# Maternités affiliées à la banque de sang placentaire de Besançon en 2022



**Besançon :**  
Maternité CHU  
Maternité PFC

**Lyon :**  
Croix Rousse

**St Etienne**  
CHU St Priest

# EN DÉBUT DE GROSSESSE

**Information des patientes pendant la grossesse: don bénévole, anonyme, gratuit, solidaire**

- ➔ Dès la visite du 7ème mois
- ➔ Par une sage femme ou un médecin
- ➔ Explication du don
- ➔ Remise d'un formulaire d'information et de consentement
- ➔ Elimination des patientes présentant une contre indication



# EN FIN DE GROSSESSE

➔ Recrutement des patientes en fin de grossesse

➔ Recueil de l'avis de la patiente

➔ Recueil du consentement

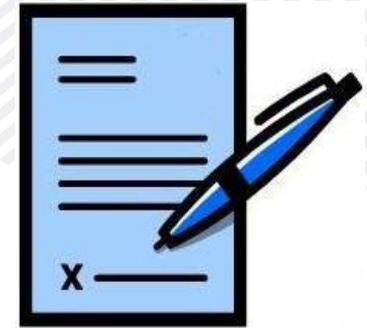
➔ Contre-indications médicales au moment de l'accouchement :

Terme < 37 semaines

Température maternelle > 38°C

Liquide amniotique méconial

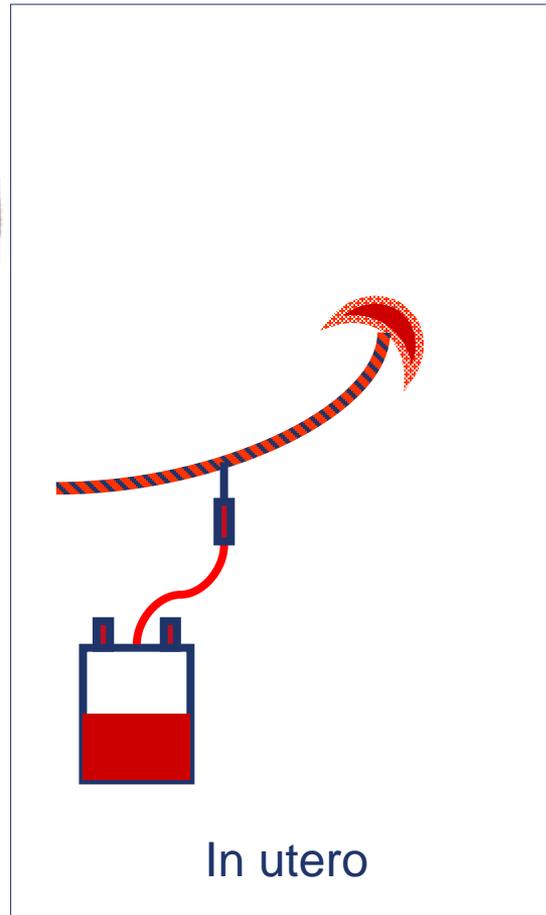
Rupture de la poche des eaux > 24 heures



consentement



# PRÉLÈVEMENT DE SANG PLACENTAIRE : PLACENTA IN UTERO



## Désinfection et ponction du cordon



# Etiquetage et conditionnement du prélèvement



# CONTRÔLES À RÉCEPTION



## Intégrité et conformité du prélèvement



## Contrôles réalisés sur le prélèvement à réception

- Absence de contre indication médicale au prélèvement
- Présence de tous les documents
- Etiquetage conforme (tubes + poche + documents)
- Volume > 80 ml
- Numération des CNT si volume > 80 ml
- 48h maximum entre le prélèvement et la congélation

## Identification, traçabilité, pesée

# ENREGISTREMENT DES USP

- Anonymisation du prélèvement, création:
  - un dossier pour l'enfant donneur: contrôle qualité, sérologies, HLA
  - un dossier pour la maman: sérologies, HLA

Les 2 dossiers sont liés dans le système informatique



# Prélèvement d'un échantillon pour la quantification des CNT

CNT : cellules nucléées totales

Cellules de la lignées granuleuses  
+  
Erythroblastes

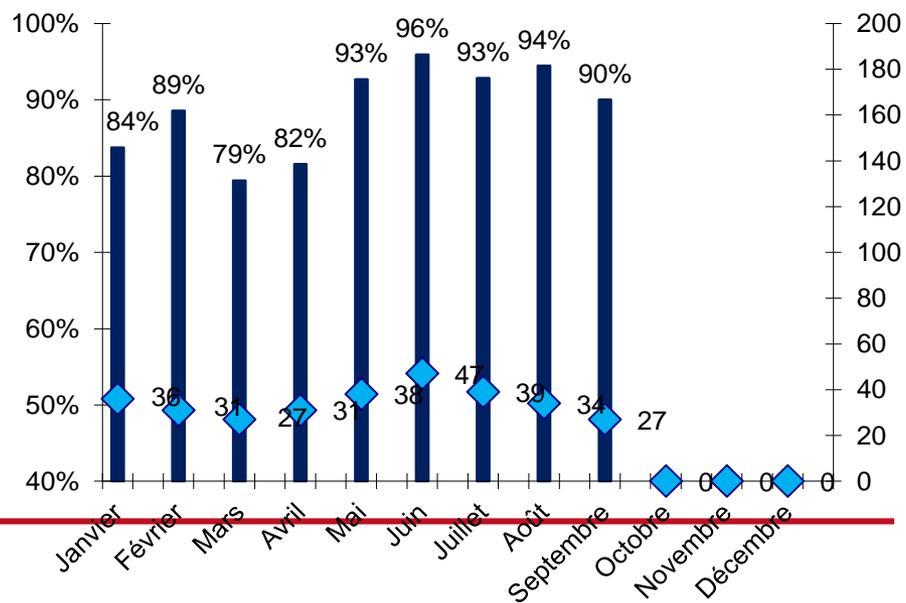
Réduction en volume du cordon si  
CNT >  $1.95 \cdot 10^9$



# REDUCTION DE VOLUME



Prélèvement des échantillons pour la qualification



# STOCKAGE



20 cuves Azote  
Unités de sang total  
24X300 L d'azote = 7 200 L



## Réduction de volume

- conservation uniquement des CNT
- Réduction du volume à conserver
- Elimination des GR
- Perte en cellules

=



1 Bioarchive  
3600 unités miniaturisées  
500 L d'azote



# Qualification d'une unité de sang placentaire

## Laboratoire de cytologie et laboratoire d'immunologie

### Evaluation de la qualité du greffon à réception:

- Numération des CNT → NFS sur automate de cytologie (Sysmex) >  $1,95 \cdot 10^9$

### Evaluation de la qualité du greffon après réduction de volume:

- Numération des CNT → NFS sur automate de cytologie (Sysmex)
- Numération des cellules CD34+ en cytométrie de flux
- Viabilité des CNT et des cellules CD34+ en cytométrie

### Contrôle du procédé:

- Rendement de récupération des cellules d'intérêt après transformation

# Qualification d'une unité de sang placentaire

## Laboratoire de cytologie et laboratoire d'immunologie

### Critères de conformité *après réduction* de volume :

- Numération des CNT >  $1,6 \cdot 10^9$  total
- Numération des cellules CD34+ >  $1,8 \cdot 10^6$  total
- Viabilité des CNT > 85%

### Critères de conformité *à la cession* sur un échantillon associé à la poche :

Culture des CFU GM sur un échantillon décongelé représentatif de la poche : pousse

Viabilité des CNT : variable

Viabilité des CD34 : variable

# Qualification d'une unité de sang placentaire

## Qualification biologique du don

### *Sérologie virales sur le sang maternel :*

Syphilis

Ac anti VIH 1-2/ Ag P24

Ag HBs

Ac anti HBc

Ac VHC

Ac anti HTLV1

DGV : HIV, hépatites B et C

Ac anti CMV, EBV, Toxo

En fonction des données de l'entretien

médical: palu, Chagas, West Nile Virus....

### *Sérologie virales sur le sang du cordon:*

Syphilis

Ac anti VIH 1-2/ Ag P24

Ag HBs

Ac anti HBc

Ac VHC

Ac anti HTLV1

# Qualification d'une unité de sang placentaire

## Laboratoire d'immunogénétique

*A J0 après validation de la conformité de l'unité de sang placentaire*

- Extraction de l'ADN sur un échantillon de cellules du sang placentaire
- Congélation du Buffy Coat d'un échantillon maternel

*A J 60 après retour des informations médicales de l'enfant et de la mère*

- Typage classe 1 et 2 haute résolution sur l'échantillon conservé de l'USP
- Typage classe 1 basse résolution sur l'échantillon conservé de la mère
- **Sécurisation : vérification de la transmission d'un haplotype maternel**
- Conservation des échantillons de la mère et de l'enfant

*Avant la cession de l'unité*

- **Confirmation du typage HLA de l'unité sur un échantillon lié au greffon**



# Stockage de 3600 Unités

20 cuves Azote  
Unités de sang total =  
24X300 L d'azote = 7 200 L

1 Bioarchive  
Unités miniaturisées  
500 L d'azote



# Validation RFSP des USP produit fini

## ↪ LE SANG DE PLACENTAIRE

- Numération formule renseignée
- Electrophorèse de l'Hb normale
- CD34  $>1,8 \cdot 10^6$
- Groupe ABO Rh renseigné
- Bactériologie négative
- Sérologies négatives
- CFU-GM renseigné à la demande centre greffeur
- Typage HLA allélique=classe I(A et B) et classe II (DR)

## ↪ LA MERE

- Consentement signé
- Dossier médical avec CI
- Sérologies J0 négatives
- Typage HLA A,B générique

## ↪ LE BEBE

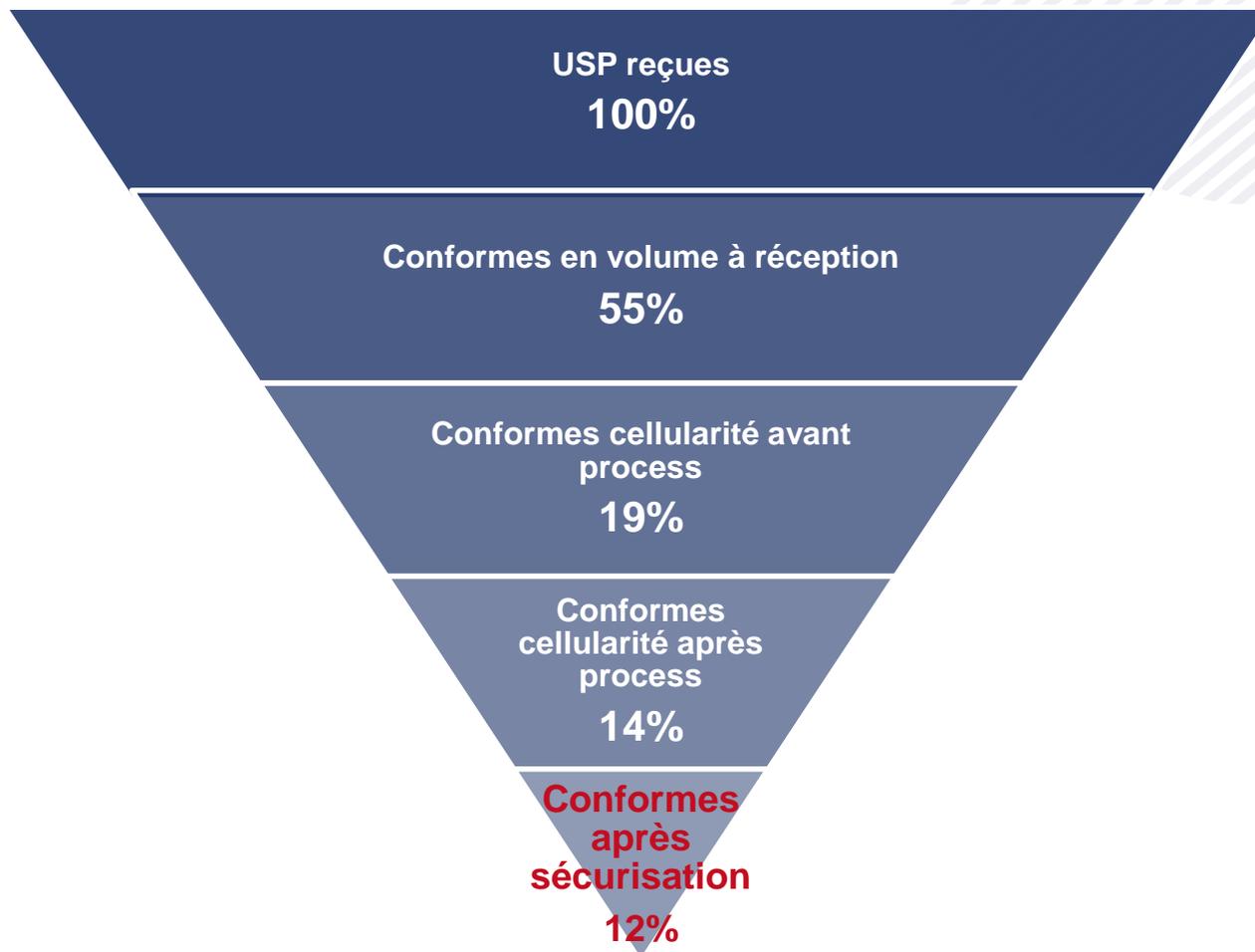
Examen néo natal et à 2 mois ou plus normal



Inscription sur le registre FGM



# QUALIFICATION D'UNE UNITÉ DE SANG PLACENTAIRE





# RESEAU FRANÇAIS DE SANG PLACENTAIRE

# ORGANISATION NATIONALE DES BANQUES DE SANG PLACENTAIRE



Agence de la Biomédecine



Agence de régulation. Coordonne le **Réseau Français de Sang Placentaire**

## Registre France Greffe de Moelle

- Centralise par un réseau informatique sécurisé, l'ensemble des caractéristiques des donneurs potentiels de moelle osseuse inscrits par les centres donneurs français.
- Depuis 1999, centralise de la même façon toutes les unités de sang placentaire inscrites sur le registre et mises à la disposition des patients en attente de greffe.



2016

Réseau Français  
Sang Placentaire

Agence de la  
Biomédecine  
REGULATORY AGENCY

France Greffe de Moelle

EFS  
Etablissement  
Français du Sang

Paris St Louis  
CBB

Montpellier  
CBB

Nancy  
CBB

EFS  
Aquitaine-Limousin  
Bordeaux CBB

EFS  
Bourgogne/  
Franche-Comté  
Besançon CBB

EFS  
Nord de France  
Lille CBB

EFS  
Ile de France  
Créteil CBB

EFS  
Bretagne  
Rennes CBB

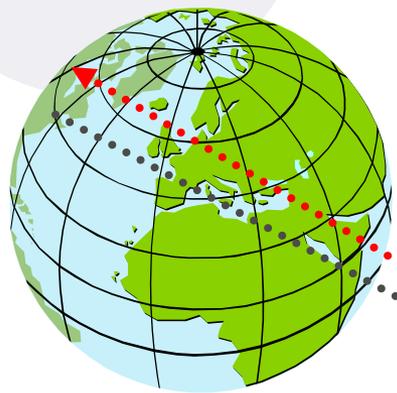
EFS  
Rhône-Alpes  
Lyon-Grenoble  
CBB

EFS  
Loire  
Atlantique

Poitier CBB

Aujourd'hui 5 banques actives : 2 banques EFS, 3 banques hospitalières et 5 banques passives.

Fichier mondial : 44 pays : 158 banques de SP  
700 000 USP disponibles



France fin 2017:  
10 banques de sang placentaire  
**36191 USP inscrites** sur le  
registre Syrenad – EMDIS CORD

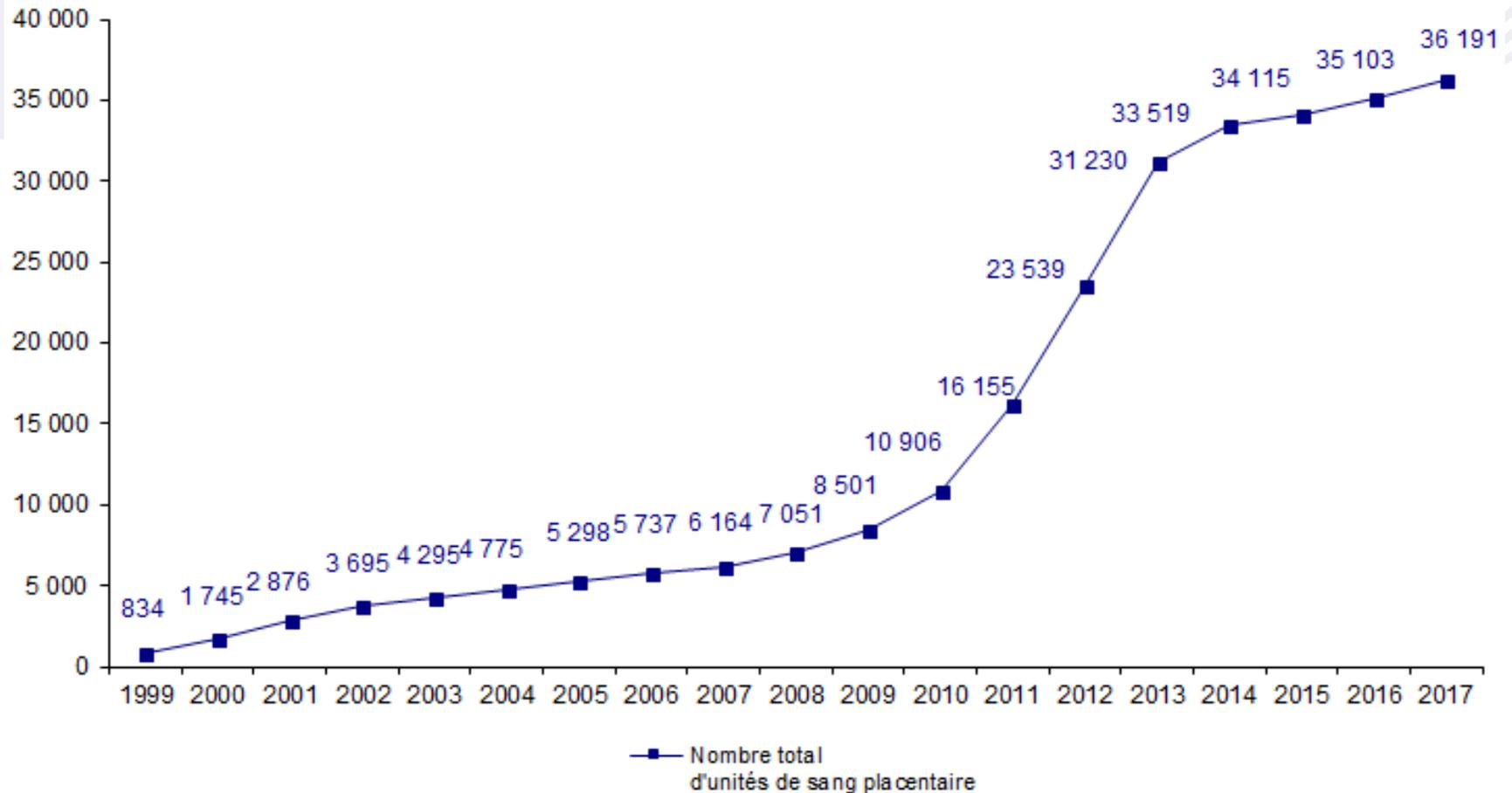


France Greffe de Moelle

Franche Comté fin 2017 :  
1 banque de sang placentaire  
**> 10000 USP inscrites**  
(26% du stock national)



Figure RFGM 2. Evolution du Réseau Français de Sang Placentaire de 1999 à 2017





# ACTIVITE DE GREFFE

**Figure CSH E4. Distribution des greffes d'USP non apparentées par âge du receveur - données disponibles dans la base Eurocord**

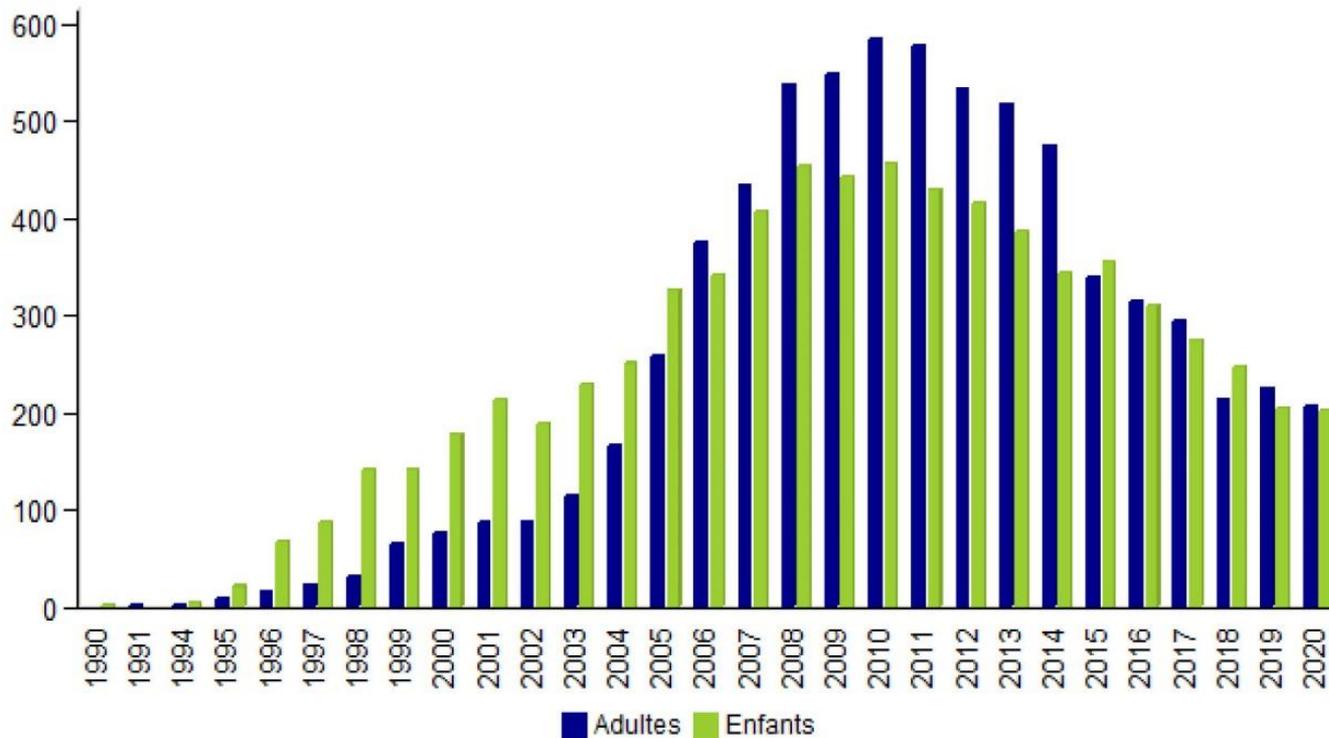
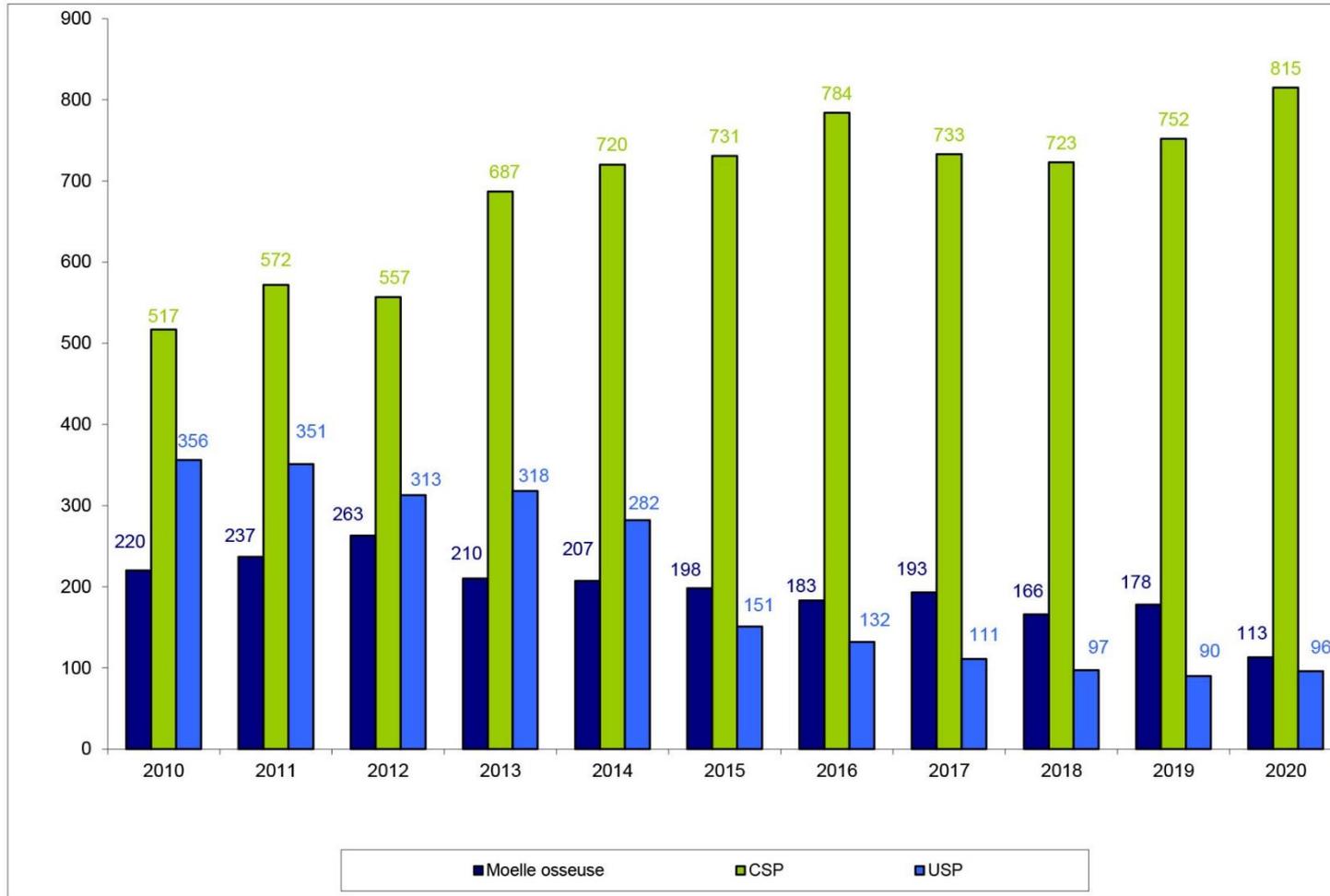


Figure RFGM7. Répartition des prélèvements/cessions par année et par source de CSH de 2010 à 2020 pour les patients nationaux





# DEMAIN ?

# LES BANQUES DOIVENT S'ADAPTER

➔ Aujourd'hui, les registres et les banques doivent s'attacher à :

- Haute qualité des unités bancaées (critères de sélection, standardisation du process, accréditation)
- Diversifier les caractéristiques génétiques (HLA)
- Optimiser la recherche d'unités et la cession
- Présenter toutes les caractéristiques des unités aux greffeurs
- Avoir des registres avec des systèmes informatiques performants et uniformes pour les échanges de données.
- Accroître la rapidité de la cession (Unités prêtes à l'emploi)
- ? Ouverture vers des produits non hématopoïétiques et des produits dérivés

# Demain ?

## DÉVELOPPER D'AUTRES APPLICATIONS DU SANG DE CORDON

Expansion d'une fraction du greffon pour augmenter le nombre de cellules souches avant greffe (1 cordon (fraction) ou 2 cordons (un expansion, l'autre greffé))

### Dérivés du plasma :

Lysat plaquettaire à base de PRP de sang placentaire

Sérum de sang placentaire, collyre pour les syndromes secs PPP

### Globules rouges :

Hémoglobine fœtale pour transfusion in utéro ou prématurés

### Cellules du système immunitaire

Générer de nouveaux types cellulaires : iPS, NK cells, Tregs, CTL anti CMV, EBV, adeno virus...

Il est difficile de dire aujourd'hui ce qui va « émerger »

Il faut rester en accord avec les procédés, les réglementations et les accréditations

Le rôle des banques n'est pas encore bien défini dans ce futur