

AVIS DU CONSEIL SUPERIEUR D' HYGIENE SUR LA SECURISATION ET L' INACTIVATION DES PRODUITS SANGUINS LABILES

1. INTRODUCTION

Lors de la préparation de composants sanguins labiles, les étapes suivantes sont d'une importance capitale pour la sécurité de ces produits :

1. recrutement de donateurs volontaires, non rémunérés
2. information des donateurs concernant les maladies infectieuses transmises par les composants sanguins
3. sélection des donateurs
4. tests de laboratoire : sérologie, tests NAT
5. assurance de qualité
6. sécurisation des produits
 - 6.1. inactivation des pathogènes
 - 6.2. quarantaine du plasma

Le risque de transmission d'infections virales par l'intermédiaire de produits sanguins labiles est très faible, mais il est toujours présent malgré l'amélioration permanente des procédures de préparation. Le risque résiduel de transmission de l'hépatite B et C est de l'ordre de 1/250000, pour le HIV de l'ordre de 1/2000000. Ce risque persistant découle de l'apparition tardive des marqueurs du virus concerné. Il diminuera encore lorsque les tests NAT seront systématiquement effectués, mais il ne sera cependant jamais nul. De plus, d'autres virus (Parvovirus, Cytomégalovirus,...) ou d'autres agents pathogènes peuvent être présents dans les produits.

Etant donné que les tests de dépistage des marqueurs viraux sont de plus en plus sensibles, le risque le plus important est le risque bactérien. Ce risque doit toutefois être pondéré en ce qui concerne le plasma : la répllication bactérienne ne se produit pratiquement pas à - 30 °C, la température de stockage de ce produit.

2. INACTIVATION DES PATHOGENES DANS LES PRODUITS SANGUINS LABILES

Le but de ces méthodes est d'inactiver les agents pathogènes qui, malgré une sélection soigneuse des donateurs et un dépistage viral, seraient malgré tout présents dans les produits. Il s'agit ici de virus, tant les formes libres qu'intracellulaires, et de provirus, de bactéries, de protozoaires et de Treponema (annexe 1).

En outre, un certain nombre de ces techniques visent également l'inactivation des leucocytes qui peuvent être responsables de la transmission d'agents pathogènes intracellulaires (CMV, HIV, HTLV-1), de la sécrétion de cytokines, du Graft versus Host disease (GvHD) et de l'immunomodulation.

Méthodes utilisables

1. Traitement par Solvant/Détergent (SD) du Plasma Frais Congelé (PFC)

La capsule lipidique des virus est détruite par l'action d'une combinaison d'un solvant organique (tri-n-butylphosphate) et d'un détergent (Triton X-100).

- 1.1. seuls les virus à capsule lipidique sont inactivés, les virus non enveloppés tels que HAV ou parvovirus B19 restent intacts.
- 1.2. pour ce traitement, des pools (+/- 350l) sont constitués à partir d'un grand nombre de dons individuels, ce qui constitue un inconvénient pour cette méthode.
- 1.3. La concentration et l'activité biologique de la plupart des protéines plasmatiques restent bien conservées.
Les protéines sensibles telles que le facteur VIII, la protéine-S et l' α_2 -antiplasmine sont partiellement éliminées ou endommagées.

Le plasma SD est utilisé en routine depuis 1991. L'efficacité et la sécurité de cette méthode sont prouvées.

Bien que le plasma SD provoque moins de réactions transfusionnelles que les unités individuelles de plasma, quelques cas ont récemment été décrits de fibrinolyse grave après administration de plasma SD à des patients ayant subi une transplantation du foie. Cette technologie ne peut pas être appliquée à des produits cellulaires car elle endommagerait la couche lipidique de la membrane cellulaire et elle détruirait donc les cellules.

2. Traitement au Bleu de Méthylène (MB) du PFC

Le *bleu de méthylène* (MB) et d'autres phénothiazines absorbent les UV et la lumière visible, ce qui les excite. Le MB se lie aux protéines et lipoprotéines de la membrane des virus à capsule lipidique et aux acides nucléiques.

Le MB est hydrophile ce qui l'empêche de pénétrer facilement dans les cellules. Par conséquent il ne peut être utilisé pour la photo-inactivation des pathogènes intracellulaires.

Une réaction photodynamique subséquente à l'action du MB associé à la lumière visible touche les protéines, les lipides, le cholestérol et les acides aminés.

- 2.1. inactive les virus enveloppés tels que HBV, HCV et HIV.
- 2.2. peut être appliquée sur des unités individuelles de plasma.
- 2.3. même effet sur les protéines plasmatiques labiles que SD.
- 2.4. s'utilise depuis 1992 dans différents pays.

Le Paul-Ehrlich Institut a récemment exprimé sa préoccupation concernant les propriétés potentiellement mutagènes du MB et n'a pas donné d'autorisation pour son utilisation en Allemagne mais une firme française a développé un système qui élimine le produit après traitement, de sorte que la mutagénicité éventuelle ne joue plus aucun rôle.

3. Traitement par photo-inactivation - Psoralène

La photo-inactivation est basée sur l'utilisation d'un photosensibilisant et d'une source de lumière bien déterminée. Les photosensibilisants sont des colorants organiques pouvant absorber la lumière. En cas d'exposition, ces substances sont excitées et atteignent un niveau d'énergie élevé; elles peuvent réagir avec un substrat ou d'autres molécules. Certains de ces colorants provoquent des *réactions photodynamiques* : ils génèrent en premier lieu des radicaux Oxygène pouvant modifier certaines structures cellulaires et briser la capsule du virus. D'autres substances provoquent des *réactions photochimiques*, elles sont à même de pénétrer dans les cellules et de modifier de manière irréversible les acides nucléiques des

virus et des leucocytes même en l'absence d'oxygène. Une même substance peut réaliser les deux types de réactions.

Les nouvelles technologies utilisent également des composants pouvant réagir avec les acides nucléiques cellulaires ou viraux et les modifier de manière irréversible. Certains de ces nouveaux composants n'ont pas besoin d'une source extérieure d'énergie pour être activés.

Psoralène S-59

Inactive un éventail de virus enveloppés dans les plaquettes : e.a. HIV libre, intracellulaire ou sous forme de provirus, CMV, HBV, HCV

Inactive les bactéries gram-positives et gram-négatives : les plaquettes étaient encore stériles après 5 jours de conservation.

Inactive les leucocytes, parmi lesquels les lymphocytes T : ils ne peuvent plus proliférer et la synthèse de la cytokine est inhibée. Le traitement au S-59 est donc efficace pour éviter les réactions transfusionnelles fébriles non hémolitiques et le GvHD.

La fonction plaquettaire n'est pas atteinte de manière significative par le traitement (tests in vitro et in vivo).

Pas d'effet mutagène.

Ce produit sera disponible pour l'inactivation des plaquettes et du plasma dans la deuxième moitié de 2002 (aperçu des tests en annexe 4). Des incertitudes restent sur les effets secondaires à long terme de la molécule de Psoralène

D'autres méthodes sont actuellement en développement (annexe 2 et 3).

3. PLASMA QUARANTAINE

Le plasma est prélevé de préférence par plasmaphérèse. Il est réparti en unités d'environ 200 ml, congelé et maintenu en quarantaine durant 6 mois. Lorsque le donneur se représente après cette période, le dépistage viral est à nouveau effectué. Si ces tests sont négatifs, le plasma est alors autorisé pour la distribution.

Avantage de cette méthode:

1. on utilise du plasma provenant d'un seul donneur
2. l'introduction des tests NAT offrira encore une plus grande sécurité ceci pour les virus testés
3. le stock peut être géré au centre de transfusion lui-même, à condition que l'on dispose d'un système logistique parfait.

Désavantage de la méthode:

1. risques potentiels liés à un système de gestion du stock défectueux
2. pas d'influence sur les agents pathogènes qui ne font pas l'objet de tests
3. pas d'influence sur les pathogènes inconnus
4. pas d'influence sur les bactéries

4. Discussion

Dans le document du Conseil de l'Europe "Pathogen inactivation of labile Blood products", la conclusion est la suivante : " Pathogen inactivation of labile blood products will diminish the risk of transfusion-transmitted disease and immunomodulatory disturbances. However, in view of the anticipated high costs of the procedures and the remarkable current safety standard of labile product, decisions on the implementation need careful consideration."

Inactivation des pathogènes

- L'inactivation des pathogènes offre une solution vis-à-vis des agents inconnus : durant les différents processus, les agents pathogènes sont éliminés de manière non sélective.
 1. La méthode SD, qui est appliquée actuellement au plasma belge, présente de nombreux avantages : elle peut être appliquée à grande échelle et elle fournit un produit qui a démontré son efficacité dans la pratique. L'inconvénient de cette méthode est le fait qu'elle utilise de grands pools de plasma avec un risque potentiel de transmission d'agents infectieux non inactivés (virus HAV, Parvovirus...). Le risque potentiel de transmission du vCJD reste également plus élevé en cas d'usage de pools qu'en cas d'usage d'unités individuelles de plasma.
 2. Des méthodes récentes d'inactivation, comme le Bleu de Méthylène et le Psoralène peuvent être appliquées sur des unités individuelles . Elles sont efficaces contre les virus et généralement aussi contre les bactéries.
 - Dans la technique développée récemment, à savoir l'inactivation au **bleu de méthylène**, le produit ajouté est éliminé après traitement de sorte qu'un effet mutagène éventuel ne joue plus aucun rôle. De plus cette technique est conforme aux GMP. Cette technique est utilisable dans un centre de transfusion sur des poches unitaires.
 - La méthode au **psoralène S-59** est très intéressante ; elle trouvera à notre avis surtout son application pour les plaquettes où la contamination bactérienne reste encore un problème. De plus, il n'existe encore actuellement aucune autre méthode pour les composants cellulaires.

Plasma quarantaine

- Le plasma quarantaine offre ni plus ni moins une sécurité comparable à celle du concentré érythrocytaire. Ce procédé peut être appliqué localement dans un centre de transfusion mais il ne faut pas sous-estimer les difficultés de logistique. Cette méthode n'offre naturellement aucune protection à l'égard des agents non testés, autrement dit à l'égard des agents inconnus et des bactéries.

5. Conclusion

En ce qui concerne le plasma, seule l'administration de plasma SD est jusqu'à présent autorisée en Belgique. Les membres du conseil sont d'avis qu'une méthode d'inactivation du plasma est nécessaire et que, la technique par le MB appliquée sur des unités individuelles est préférable à la méthode SD (Pool).

La technique de photo-inactivation avec du Psoralène est utilisable pour les plaquettes, étant la seule disponible avec une réserve quant aux effets secondaires à long terme du psoralène.