



AVIS A PROPOS DES GLOBULES ROUGES CONGELES : MODALITES PRATIQUES, PREPARATION ET UTILISATION

C.S.H. : 7847

Au cours de la réunion du 20.11.2003, dont le procès-verbal – en ce qui concerne le point en question – a été approuvé en séance, le Conseil supérieur d'Hygiène (section 2.1) a émis l'avis suivant à propos des globules rouges congelés: modalités pratiques, préparation et utilisation:

I.

Le présent avis est la suite donnée à une demande adressée par Mr TAVERNIER (AD270303; 28.03.03) ; cette demande étant elle-même la conséquence d'une question adressée par Mr le Ministre de la Défense A.FLAHAUT au sujet du délai de conservation des globules rouges après décongélation.

Le délai de conservation a été fixé par l'arrêté royal du 04.04.1996 à 24 heures maximum. Sur la base d'un certain nombre d'éléments tels que l'utilisation d'un circuit clos et la resuspension des globules rouges décongelées dans une solution additive ainsi que l'expérience du service de transfusion sanguine de l'armée, il est demandé de revoir le délai de conservation.

II. Considérations générales :

En ce qui concerne la réponse à la demande formulée par Mr le Ministre, il apparaît à la section « Sang et Moelle osseuse » du Conseil Supérieur d'Hygiène que, dans une première approche, il convient de rappeler que ces questions concernent au premier chef l'armée et peu la société civile. Il ne faut pas oublier qu'il existe en soi et de façon inhérente des différences nettes dans la conception des choses et leur traitement entre la sphère civile et le monde militaire.

Il serait par ailleurs souhaitable d'interroger le Comité consultatif de Bio-éthique sur l'opportunité de stocker des O Rh D neg, dont l'utilisation reste une question (non résolue); d'autant plus que les besoins en unités de sang offertes par des donneurs O Rh D neg sont toujours considérables.

En outre, il semble indiqué de soumettre au préalable au comité éthique de l'hôpital l'administration de globules rouges congelés ayant fait l'objet d'une décongélation en l'absence d'indication précise pour l'administration de ce type de cellules, et ce en raison des précautions particulières dont il convient d'entourer la procédure de préparation et de conservation elle-même à la fois exigeante, complexe et, par conséquent, onéreuse. Par ailleurs, il convient également de tenir compte des recommandations du Conseil de l'Europe qui réserve les indications d'administration de ce type de cellules à des applications spécifiques. L'expérience présente dans le monde en ce qui concerne l'approvisionnement des hôpitaux (civils) en unités de sang à l'occasions de catastrophes ou

d'accidents de grande ampleur enseigne d'ailleurs qu'il n'est pas du tout nécessaire d'aménager un stock important de globules rouges congelés. Du reste, la décongélation d'une grande quantité de globules rouges congelés demande beaucoup de temps. Il faut également accorder une attention particulière à la question de savoir si les critères auxquels les donneurs et les dons devaient satisfaire au moment de la prise de sang n'ont pas subi de modification ou de restriction par la suite, au cours d'une conservation qui peut prendre des années, ce qui a pour conséquence qu'(une partie) du sang conservé ne peut plus entrer en ligne de considération pour une administration.

Les données fournies en rapport avec le sujet se sont avérées très intéressantes, mais il est essentiel d'accumuler plus de résultats et d'étayer les conclusions tirées. Dans cette optique, la section « Sang et Moelle osseuse » ne peut qu'encourager les auteurs des études menées à publier leurs résultats et à les soumettre à une évaluation scientifique et critique.

Outre ces considérations, afin d'étayer scientifiquement la position du CSH, il est décidé de joindre un rapport circonstancié en annexe au présent avis.

III. Décision et avis :

Le groupe de travail « Sang et Moelle osseuse » du Conseil supérieur d'Hygiène estime qu'il n'est pas nécessaire de modifier en Belgique le délai de conservation des globules rouges congelés après décongélation. Le groupe de travail est également d'avis que les indications d'administration de ces globules rouges sont très restreintes et que leur administration en dehors desdites indications n'est pas à conseiller.

IV. Annexe :

Rapport intitulé « **Conservation des globules rouges, en suspension dans une solution additive, après un cycle de congélation - décongélation** »

V. Diffusion de ces recommandations :

Le groupe de travail considère que le présent avis peut, dans son intégralité, être adressé au Ministre de la Santé publique et être publié sur le site web du CSH.

VI. Composition de l'équipe d'experts ayant rendu cet avis :

- BAELE P.
- CRAS P.
- DESMYTER J.
- DOBBELAER R.
- FERRANT A.
- GOUBAU P.
- LAMBERMONT M.
- LATINNE D.
- MUYLLE L.

- PLUM J.
- SONDAG D.
- STEENSSENS L.
- THOMAS I.
- VAN RANST M.
- VOETS E.D.

Au nom du Professeur Sondag-Thull,

Président de la section « Sang et Moëlle osseuse » du Conseil supérieur d'Hygiène

Le Secrétaire du Conseil supérieur d'Hygiène

G. Devleeschouwer

Annexe :

Conservation des globules rouges, en suspension dans une solution additive, après un cycle de congélation - décongélation

A. Introduction

Les globules rouges (GR) peuvent être congelés afin de permettre une conservation prolongée d'unités de phénotypes de groupes sanguins rares. Des GR congelés peuvent se conserver durant 10 ans à une température inférieure à -65°C . Le processus de congélation doit être effectué soigneusement afin d'obtenir une bonne viabilité des GR décongelés. L'emploi d'une substance cryoprotectrice telle que le glycérol (en cas de conservation à -80°C , on utilise une solution à 40 % de glycérol) est important pour maintenir la viabilité des globules. Les unités congelées doivent être décongelées et lavées (afin d'éliminer le glycérol avant administration). La substance cryoprotectrice est éliminée par une série de lavages au cours desquels des solutions à osmolarité décroissante sont utilisées. L'élimination progressive de la substance cryoprotectrice est très importante afin d'éviter une décomposition des globules rouges et d'amener la solution (de GR) à une osmolarité normale. Le produit fini est normalement dissous dans du sérum physiologique; il contient plus de 80 % des GR d'origine, moins de 10^8 globules blancs (donc non déplété en leucocytes), la solution contient peu de plasma et possède une osmolarité inférieure à 340mOsm/l.

La conservation des globules rouges (GR) après un cycle de congélation – décongélation est limitée à maximum 24 heures à 4°C . Ce court délai de conservation est dû au fait que le système fermé doit être ouvert en raison des nombreuses manipulations et engendre donc un risque de contamination bactérienne des GR.

Un appareil a été développé (ACP 215, Haemonetics), permettant, en utilisant un set à usage unique, d'ajouter le glycérol au concentré de globules rouges ou de l'en retirer par lavage, et ce dans un système automatisé et fonctionnel en circuit fermé. La connexion entre le concentré d'érythrocytes et le set à usage unique s'effectue au moyen d'un accessoire de connexion stérile (SCD). Par conséquent, la question se pose de savoir combien de temps et dans quelles conditions les globules

rouges décongelés peuvent être conservés. Afin de permettre une conservation (plus longue), les GR décongelés sont mis en suspension dans une solution additive telle que SAGM ou AS-3, qui, outre du NaCl, contient notamment du dextrose et de l'adénine (voir tableau 1).

B. Préparation, usage et assurance de qualité

Le Guide du Conseil de l'Europe recommande de n'utiliser des GR congelés que dans le cas de situations particulières, à savoir:

- pour la transfusion de RBC effectuée pour des patients présentant des types de groupe sanguin rares ou des allo-anticorps multiples;
- à des fins d'immunisation, dans le cadre desquelles les GR sont au moins conservés pendant six mois pour permettre de retester le donneur;
- cette possibilité peut être prise en considération dans certains cas de transfusion autologue.

En ce qui concerne la préparation et l'assurance qualité, nous nous référons aux recommandations du Conseil de l'Europe ⁽¹⁾.

C. Utilisation de l'appareil ACP 215

Quatre articles font rapport de l'utilisation de l'appareil et du système fermé ^(2,3,4,5). Dans un article, les GR décongelés sont, durant l'étape finale, lavés au moyen d'une solution SAGM dans laquelle ils sont par ailleurs conservés à 4° C ⁽²⁾. Dans les trois autres articles, une solution AS-3 a été utilisée ^(3,4,5).

Hémolyse durant le cycle décongélation - lavage

Après le cycle de congélation – décongélation – lavage, on a retrouvé respectivement 90 % ± 2 %, 87 % ± 5 %, 89 % ± 3 % des GR (pas de mention dans l'étude 4).

Lelkens et collaborateurs ⁽²⁾ ont constaté que la glycérolisation, sans les étapes congélation – décongélation, et suivie de l'étape lavage, entraîne une importante hémolyse (11% ± 3 %) des GR. L'hémolyse n'était pas supérieure dans la partie de l'étude où les GR ont subi toute la procédure de congélation – décongélation.

Valeri et collaborateurs ^(3,4) signalent également qu'un certain nombre d'unités n'ont pas pu être utilisées : 3 unités qui présentaient une fuite à la suite d'une soudure incorrecte des tubulures et 2 unités qui n'ont pas pu être entièrement récupérées durant le traitement (sur 163 unités).

Ceci met en évidence le soin tout particulier qui doit entourer la procédure. A la fin de la conservation, un échantillon de toutes les unités reprises dans l'étude (n = 142) a été prélevé en vue d'une culture aérobie et anaérobie. Dans une unité, un *Propionibacterium acnes* a été décelé. On a supposé que la contamination avait eu lieu durant la prise de sang.

Hémolyse durant la conservation à 4° C des GR décongelés

Les GR en AS - 3 ont présenté 0,3 % ± 0,1 % d'hémolyse après 1 jour de conservation, 0,5 % ± 0,1

% d'hémolyse après 7 jours, 0,5 % ± 0,2 % après 14 jours et 0,9 % ± 0,2 % après 21 jours.

Les concentrations d'hémoglobine plasmatique libre et de plasma K⁺ augmentaient et ce proportionnellement au % de GR hémolysés. Les concentrations trouvées pour les GR en AS-3 après 14 jours de conservation satisfaisaient aux critères du Conseil de l'Europe ⁽¹⁾.

pH et teneurs en ATP des GR

Le pH des GR en AS-3 est bas au début de la conservation (pH : 6,4 ± 0,1) et continue de diminuer durant la conservation. Ceci est dû au pH acide de la solution d'AS-3. Du fait de ce pH bas, la glycolyse est très fortement réduite durant la conservation et il n'y a plus de formation significative d'ATP, de sorte que les valeurs ATP des GR en AS-3 après 2 semaines ont tellement diminué qu'elles ne sont plus compatibles avec une survie post-transfusionnelle fructueuse des GR (une solution à pH plus élevé peut offrir à l'avenir une solution à ce problème).

Dans l'étude sur les GR en SAGM, il a été démontré que la teneur en ATP des GR au début de la conservation était normale, mais qu'elle diminuait très rapidement dès le deuxième jour ⁽²⁾. En outre, on a constaté que la teneur totale en adénylate des GR (ATP, ADP, AMP) était manifestement plus basse par rapport à la valeur avant congélation.

Högman et collaborateurs constatèrent que la teneur totale en adénylate présente une meilleure corrélation avec la survie des GR que la teneur en ATP ⁽⁵⁾. Ceci pourrait, par conséquent, avoir un effet sur la survie post-transfusionnelle des GR (SAGM). Les auteurs n'ont pas effectué d'étude in vivo pour le vérifier.

Durant la conservation des GR en SAGM, on a constaté une rapide augmentation de l'hémolyse : plus de 1 % après 7 jours de conservation à 4° C ⁽²⁾. Selon les recommandations du Conseil de l'Europe, l'hémolyse à la fin de la conservation doit être inférieure à 0,8 % ⁽¹⁾.

Il faut par ailleurs mentionner que les GR en AS-3 présentent, durant toute la durée de conservation un *mean corpuscular volume* (MCV) élevé (110 fl; valeurs normales : 88 fl ± 8fl) ⁽⁵⁾. Signification ?

Survie post-transfusionnelle après 24 heures et demi-vie des GR

La survie post-transfusionnelle des GR en AS-3 après 24 heures était de 81 % ± 3 % après 7 jours de conservation, 77 % ± 9 % après 15 jours de conservation et 65 % ± 7 % après 21 jours de conservation ^(3,4). La demi-vie des GR était de 28 ± 4 jours après 15 jours de conservation tandis que la demi-vie des GR de contrôle, conservés en AS-1 pendant 42 jours, s'élevait à 27 ± 3 jours ⁽³⁾.

D. Résumé

Le système ACP 215 offre la possibilité de traiter les GR dans un système fermé, de sorte que la conservation des GR décongelés en suspension dans une solution additive durant plus de 24 heures est possible.

Le choix de la solution additive est important. En raison de l'augmentation rapide de l'hémolyse des GR en SAGM, cette solution n'est pas adéquate. La conservation des GR en AS-3 durant 7 jours semble acceptable. Cependant, lors de l'administration aux patients (surtout dans le cas d'enfants), il faut tenir compte du pH bas de la solution et du MCV élevé des GR. Il faut également souligner que la procédure comporte de nombreux traitements (risque d'erreurs), qu'elle demande beaucoup de soin et est très onéreuse. C'est pourquoi les indications doivent être limitées et correspondre de

préférence avec celles fixées dans les recommandations du Conseil de l'Europe.

E. Références.

- (1) Council of Europe. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 9th edition 2003, p 115-118.
- (2) Lelkens CC, Noorman F, Koning JG, et al. Stability after thawing of RBCs frozen with the high- and low-glycerol method. *Transfusion* 2003; 43 :157-64.
- (3) Valeri C, Ragno G, Pinacek LE et al. A multicenter study of in vitro and in vivo values in human BCs frozen with 40-percent (wt/vol) glycerol and stored after deglycerolization for 15 days at 4 degrees C in AS-3: assessment of RBC processing in the ACP 215. *Transfusion*. 2001 41:933-9. Erratum in: *Transfusion* 2002 ; 42:1618.
- (4) Valeri C, Ragno G, Pinacek LE et al. In vivo survival of apheresis RBCs, frozen with 40-percent (wt/vol) glycerol, deglycerolized in the ACP 215, and stored at 4 degrees C in AS-3 for up to 21 days. *Transfusion* 2001; 41:928-32.
- (5) Hess JR, Hill HR, Oliver CK et al : The effect of two additive solutions on the postthaw storage of RBCs. *Transfusion* 2001; 41: 923-927.
- (6) Högman CF, de Verdier CH, Ericson A, et al. Studies on the mechanism of human red cells loss of viability during storage at + 4 degrees C in vitro. I. Cell shape and total adenylate concentration as determinant factors for post transfusion survival. *Vox Sang* 1985; 48:257-68.

Tableau 1 : Composition des solutions additives pour GR.

	SAG-M	AS-3
NaCl	8,77 g	4,1 g
Dextrose (anhydrous)	8,2 g	10,0 g
Adénine	0,169 g	0,3 g
Mannitol	5,25 g	
Dihydrogénophosphate de sodium		2,76 g
Citrate trisodique		5,88 g
Acide citrique		0,456 g
Eau ad.	1 litre	1 litre

100 ml de cette solution (SAGM : pH 5.7; AS-3 : pH 5,8) sont ajoutés à environ 200 ml de GR (provenant de 450 ml de sang total).

Adresse :

Conseil supérieur d'Hygiène
Rue de l'Autonomie 4
1070 Bruxelles

Téléphone : 02 – 525.09.66

Fax: 02 – 525.09.77

Email: Guy.Devleeschouwer@health.fgov.be

PREVIOUS

