Inactivation des pathogènes dans le plasma par le procédé Intercept: état du projet

Niels Lion
Service Régional Vaudois de Transfusion Sanguine
niels.lion@mavietonsang.ch

Association Suisse de Médecine Transfusionnelle
13 Janvier 2012, Berne

Outline

- Les différentes techniques de sécurisation du plasma transfusionnel
  - La quarantaine
  - La technique de solvent/détergent
  - Le bleu de méthylène
  - Le procédé Mirasol
  - Le procédé Theraflex UV
  - Le procédé Intercept
- Etat global du projet
- Avancement du traitement du plasma de sang complet

Sécurisation du plasma transfusionnel par quarantaine

- Principe: conservation du plasma jusqu'à disposer d'une confirmation de tests de dépistage négatifs chez le donneur.

- Le système de quarantaine est sûr

- Les aspects logistiques sont lourds: stock de plasma important en attente de résultats, personnel pour gérer la quarantaine.

- L'intérêt de l'inactivation des pathogènes dans le plasma:

  - pour la sécurité: protection possible contre des pathogènes émergents ou non dépistés

  - pour les banques de sang: système plus souple que la quarantaine (tout le stock est distribuable).

Différents principes d'inactivation

- Chemical /physical disruption of membranes: S/D process
- Composés photoactifs: attaque de l'ADN
  - Intercept (Amotosalen + UV-A)
  - Mirasol (Riboflavine+ UV-A et UV-B)
  - Theraflex MB (bleu de méthylène + lumière visible)
- Attaque directe des acides nucléiques
  - Theraflex UV (UV-C seuls)

Inactivation des pathogènes par solvent/détergent

- Principe: solubilisation des membranes des agents pathogènes dans des mélanges de solvant et détergents (par ex. 1% de tri-(N-butyl)-phosphate (TNBP) et 1% de polyoxyethylene-p-t-octylphenol (Triton X-100)).

- Efficacité:
  - réduction supérieure à 6 log contre les virus à enveloppe
  - aucune efficacité contre les virus nus, mais à la fois la dilution dans les pools et la présence d'anticorps neutralisants donnent une certaine sécurité
  - l'efficacité n'est pas documentée contre les bactéries, mais les étapes de nanofiltration permettent de sécuriser le produit final.

- Entre 1991 et 2009, 10 millions de poches de plasma préparées par le procédé Octaplas en Autriche, en France, en Italie, en Afrique du Sud et en Allemagne ont été distribuées sans aucun cas de contamination HIV, HBV et HCV documenté.

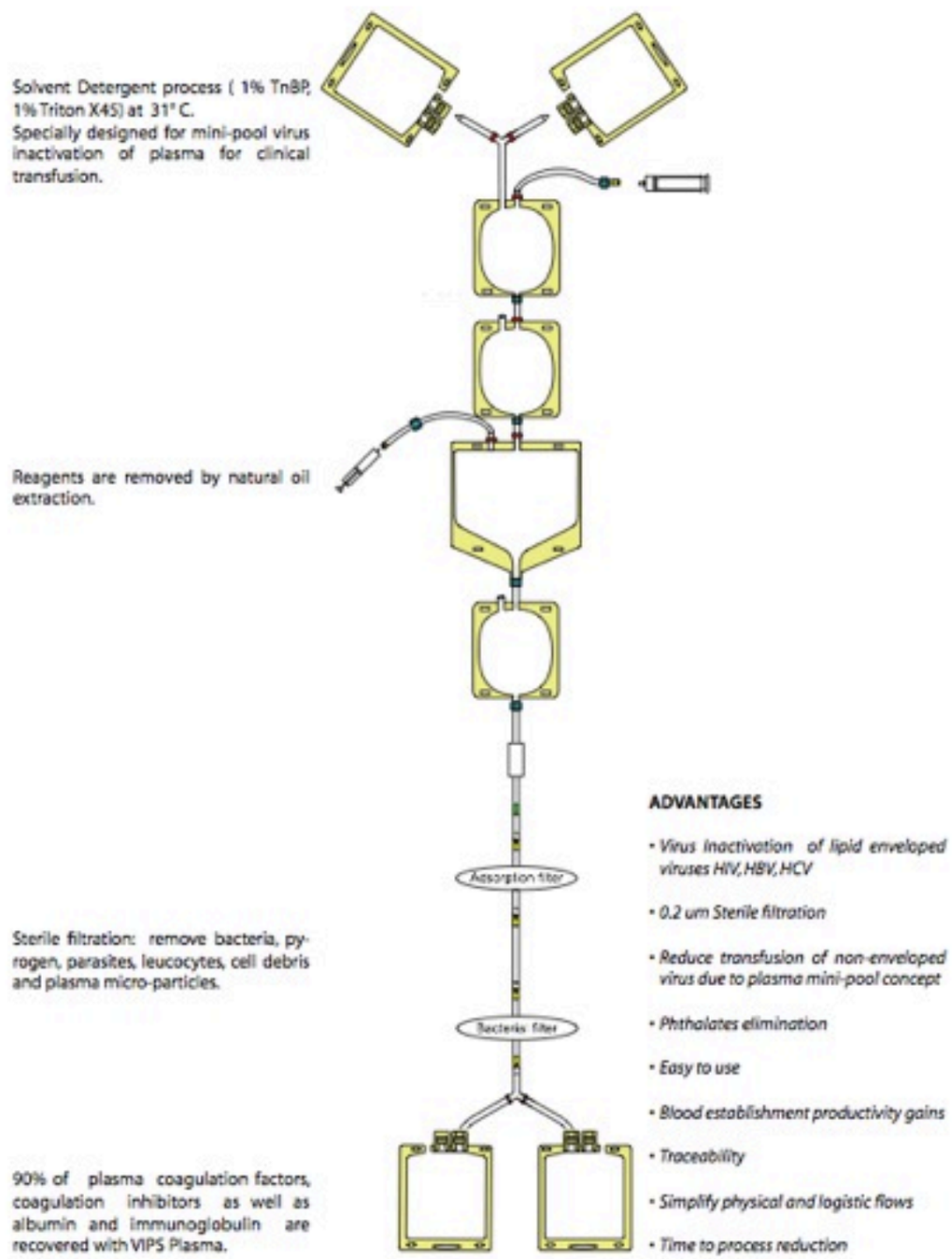
Utilisation du procédé S/D

Type de plasma	Source et qualité	Taille du pool	Température et durée	Elimination des prions	Produit final
Octaplas (CH+AU)	Aphérèse ou sang complet	380 L (630 aphérèses ou 1520 plasmas SC)	4 h à 30°C (1%TNBP +1% Triton X-100)	2.5 log (du au procédé)	200 mL
Octaplas LG CH+AU)	Aphérèse ou sang complet	380 L (630 aphérèses ou 1520 plasmas SC)	1-1.5 h à 30°C (1%TNBP +1% Triton X-100)	>5 log (chromatographie d'affinité)	200 mL
PlasmaSafe (Italy)	Aphérèse	60 L (100 aphérèses)	4h à 30°C (1%TNBP +1% Triton X-100)	Probablement similaire à Octaplas	200 mL
Plasma viro-inactivé (France)	Aphérèse	60 L (100 aphérèses)	4h à 30°C (1%TNBP +1% Triton X-100)	Probablement similaire à Octaplas	200 mL
BioPlasma (Afrique du Sud)	Plasma de sang complet	200 L	4h à 30°C (1%TNBP +1% Triton X-100)	Probablement similaire à Octaplas	50 et 200 mL lyophilisés dans des bouteilles en verre
PLAS+SD (USA)	Plasma de SC	650 L (2500 plasmas SC)	4h à 30°C (1%TNBP +1% Triton X-100)	Probablement similaire à Octaplas	200 mL (arrêt de la production en 2002)
Minipools VIPS (CH)	Plasma de SC	400 mL	4h à 31°C (1% TNBP + 1%Triton X45) Ou 4h à 37°C (2% TNBP)	Inconnu	Dépend des régulations locales

Marquage CE, pas Swissmedic

MA VIE TON SANG.ch

Procédé VIPS



Inactivation dans un pool de 400 mL de plasma, 2 iFFP finaux

MA VIE TON SANG.ch

Inactivation par le bleu de méthylène (Macopharma)

- Principe: le bleu de méthylène présente une affinité pour les membranes et pour les paires guanine-cytosine. Sous illumination, le bleu de méthylène génère des radicaux libres qui entrainent la dénaturation irréversible des acides nucléiques.

- Efficacité: Réduction de 4 à 6.5 logs pour les virus à enveloppe, efficacité moindre et très variable contre les virus nus et les bactéries.

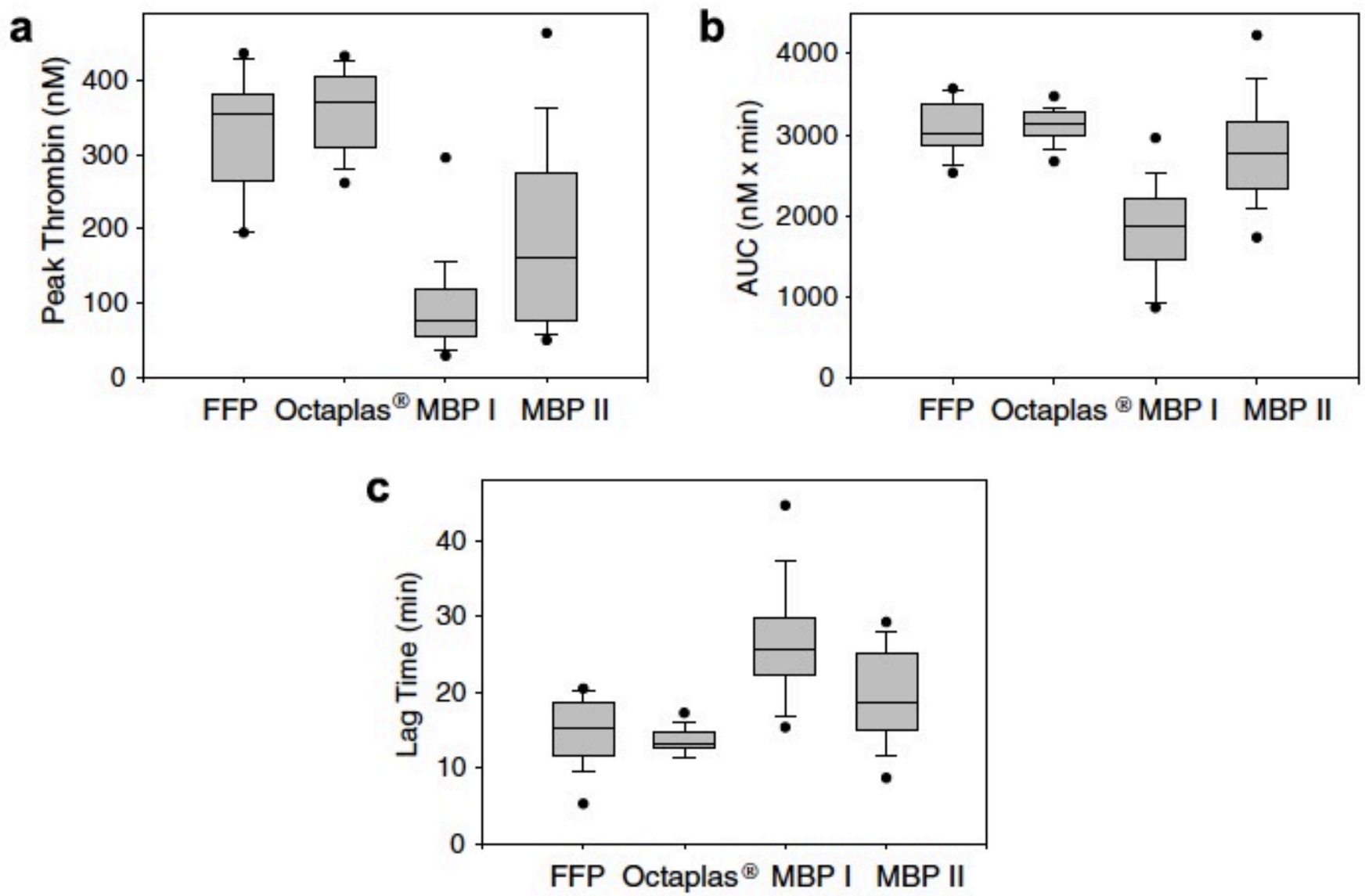
- Approuvé Swissmedic.

Performances d'inactivation

Pathogène	Log reduction
VIH	>5.5
Hépatite C BVDV (modèle VHC)	>6.2
Hépatite B DHBV (modèle VHB)	3.9
Virus grippal	5.1
Virus de la pseudo-rage	5.4
Herpes simplex virus	>6.5
Virus de la stomatite vésiculeuse	>4.9
West Nile virus	>6.5
VHA	0
Encéphalomyocardite	0
Parvovirus porcin	0
Virus poliomyélitique	0
SV40	4.3
Adénovirus	4
Parvovirus B19	>4
VHE	>3.9

MA VIE TON SANG.ch

Génération de thrombine



K. Pock et al. / Transfusion and Apheresis Science 37 (2007) 223–231

MA VIE TON SANG.ch

Survenue de choc anaphylactiques

British Journal of Anaesthesia 106 (5): 687–9 (2011)
Advance Access publication 9 February 2011 · doi:10.1093/bja/aer009

BJA

Case report

Anaphylactic reaction after methylene blue-treated plasma transfusion

P. Dewachter[1,2*], S. Castro[3,4], P. Nicaise-Roland[5], S. Chollet-Martin[5,6], C. Le Beller[7], A. Lillo-le-Louet[7] and C. Mouton-Faivre[8]

[1] Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Service d'Anesthésie-Réanimation & SAMU de Paris, 149 Rue de Sèvres, Paris, France
[2] Université Paris-Descartes, INSERM UMRS-970, Paris, France
[3] Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Ambroise Paré, Service de Réanimation Médicale, Boulogne-Billancourt, France
[4] Université Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, France
[5] Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Unité d'Immunologie Auto-immunité & Hypersensibilités, Paris, France
[6] Univ Paris-Sud 11, INSERM UMRS-996, Châtenay-Malabry, France
[7] Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Centre de Pharmacovigilance, Paris, France
[8] Pôle d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, CHU Hôpital Central, Nancy, France

* Corresponding author. E-mail: pascale.dewachter@yahoo.fr

Editor's key points

- Methylene blue for viral inactivation of fresh-frozen plasma (MB-FFP) is widely used in Europe.
- Description of previously unreported IgE-mediated anaphylaxis to MB-FFP.
- This risk seems to be low in view of the widespread use of this blood product.

Methylene blue-treated fresh-frozen plasma (MB-FFP) is mainly used in Europe. The advantage of the methylene blue system is that units can be treated individually. The combined action of methylene blue and illumination is a photodynamic process preventing viral RNA and DNA replication. We report the first immediate allergic hypersensitivity reaction to methylene blue-treated plasma transfusion. The clinical course and subsequent assessment of the allergic reaction, including skin tests and basophil activation test, confirmed methylene blue-induced IgE-mediated anaphylaxis. All immediate reactions after MB-FFP transfusion should be investigated to document the underlying mechanism.

Keywords: anaphylaxis; basophil degranulation test; fresh-frozen plasma; methylene blue; skin tests

Accepted for publication: 8 November 2010

MA VIE TON SANG.ch

Situation en France: ré-introduction en juillet 2007

REPUBLIQUE FRANÇAISE

Juin 2009

Mise au point

Mise au point sur l'utilisation du Plasma Frais Congelé viro-atténué par bleu de méthylène

Depuis le 14 septembre 2007, l'Afssaps autorise le plasma frais congelé issu d'aphérèse, déleucocyté et viro-atténué par bleu de méthylène et exposition photonique (PVA-BM).

MA VIE TON SANG.ch

... et arrêt en octobre 2011

- L'Afssaps a observé un nombre acru de réactions allergiques après transfusion de plasma inactivé par le bleu de méthylène en comparaison aux autres types de plasma (inactivé S/D et Intercept)

- l'Afssaps et l'EFS ont observé une plus grande variabilité des concentrations en fibrinogène dans les plasmas traités au bleu de méthylène en comparaison aux autres types de plasma (S/D et Intercept)

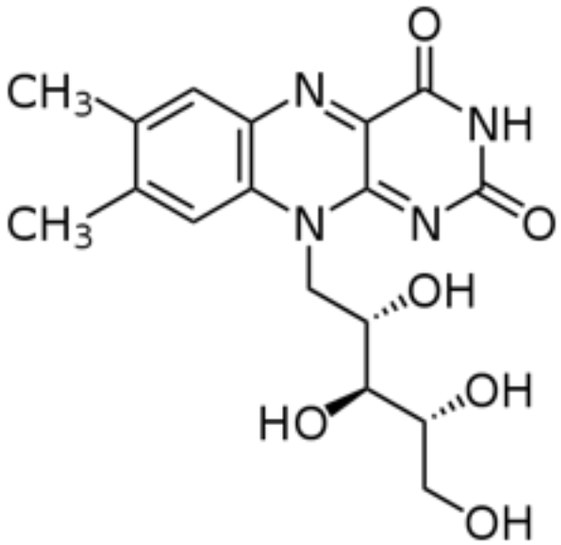
- Arrêt de transfusion de plasma traité au bleu de méthylène en France en Mars 2012.

Inactivation par le procédé Mirasol (Caridian)

- Principe: de la riboflavine (vitamine B2) est ajoutée au plasma, qui est illuminé par une source UV mixte (UVA+UVB). La riboflavine a une affinité pour les acides nucléiques, et sous illumination génère des radicaux libres qui induisent des dommages permanents aux guanines. La riboflavine n'est pas éliminée (concentrations proches de la physiologie).

- Efficacité: le procédé Mirasol protège contre un large spectre de pathogènes (virus à enveloppe, virus nus, bactéries gram positives et gram négatives, parasites).

- Marquage CE, pas d'approbation Swissmedic.

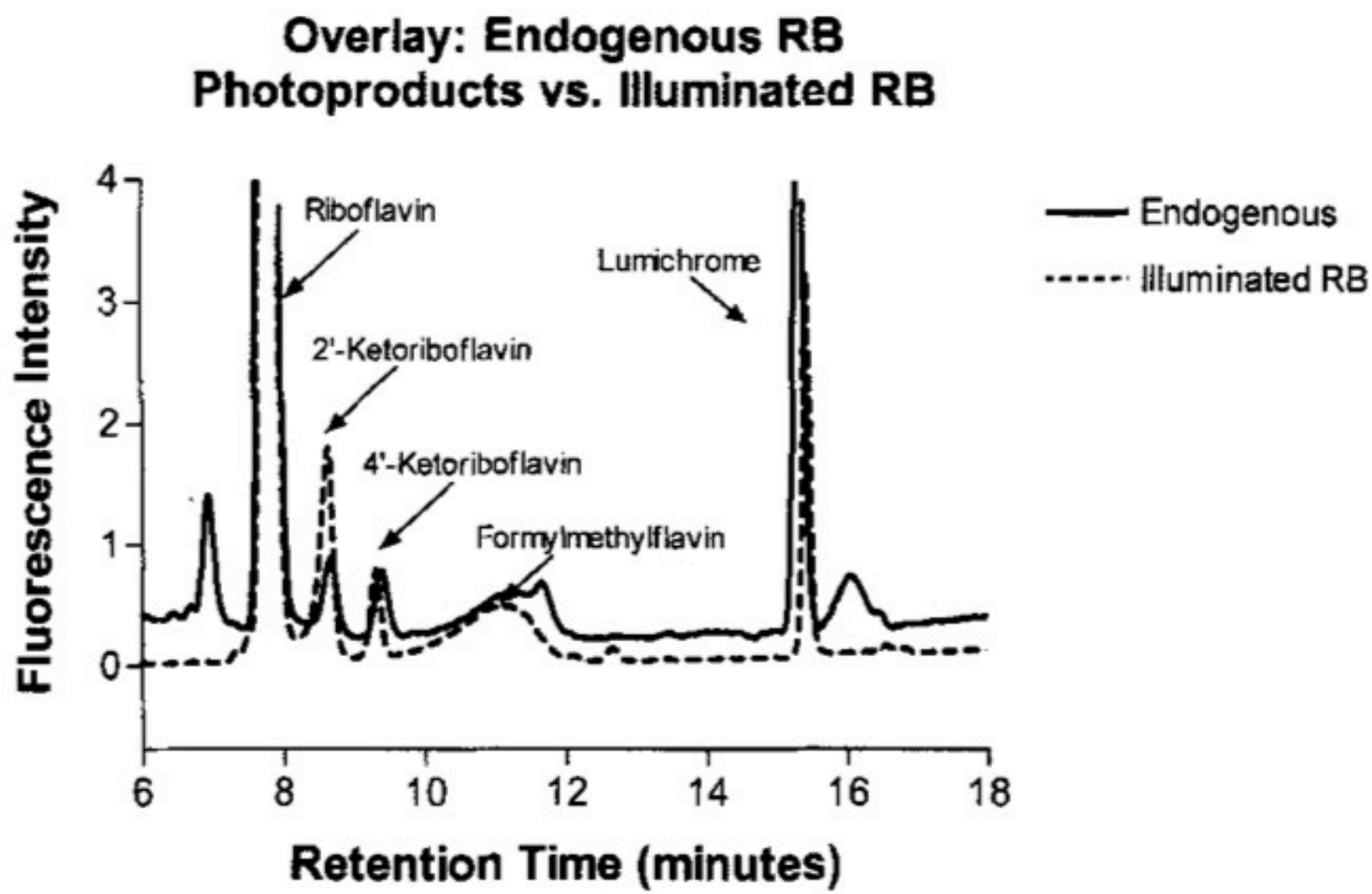


Efficacité du procédé Mirasol

Pathogène	Efficacité Mirasol
Virus	
VIH (intracellular)	4.5
HIV (cell associated)	5.9
West Nile virus	>5.1
HCV	3.2
HBV	2.5
Rabies virus	>6.3
Influenza virus	>5.0
Cytomegalovirus	2.1
Human B19 virus	>5.0
Hepatitis A virus	1.8
Hepatitis A (encephylomyocarditis model)	3.2
Chikungunya virus	2.1
Bactéries Gram-négatives	
E. Coli	100%
Enterobacter Cloacae	100%
Serratia marcescens	100%
Klebsiella pneumoniae	100%
Acinetobacter baumannii	66%
Yersinia enterocolitica	100%
Bactéries Gram-positives	
Staphylococcus epidermitis	100%
Bacillus cereus	100%
Staphylococcus aureus	90%
Streptococcus agalactiae	100%
Streptococcus mitis	100%
Streptococcus pyogènes	100%
Propionibacterium acnés	100%
Parasites	
Plasmodium falciparum (malaria)	>3.2
Leishmaniasis	>4.0
Trypanosoma cruzi	>5.0
Babesiosis	>4.0
Scrub typhus	>5.0

MA VIE TON SANG.ch

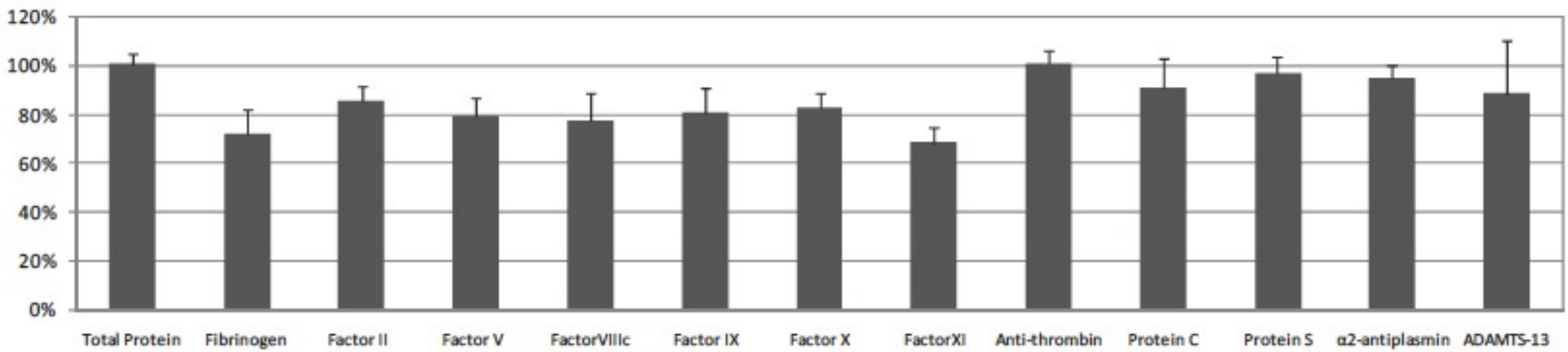
Riboflavin is not eliminated, but remains at physiological concentrations



Photochemistry and Photobiology, 2004, 80: 609-615.

MA VIE TON SANG.ch

Retention des facteurs de coagulation



Bonne rétention des facteurs de coagulation, devrait être vérifiée dans des conditions réelles de centre de transfusion.

Transfus Med Hemother 2011;38:8–18

MA VIE TON SANG.ch

Inactivation par le procédé Theraflex-UV (Macopharma)

- Principe: lésions directes aux acides nucléiques par irradiation UV-C (utilisé dans des procédés de stérilisation).

- Efficacité: mal documentée

- Procédé en cours de validation (performance d’inactivation et études cliniques initiales).

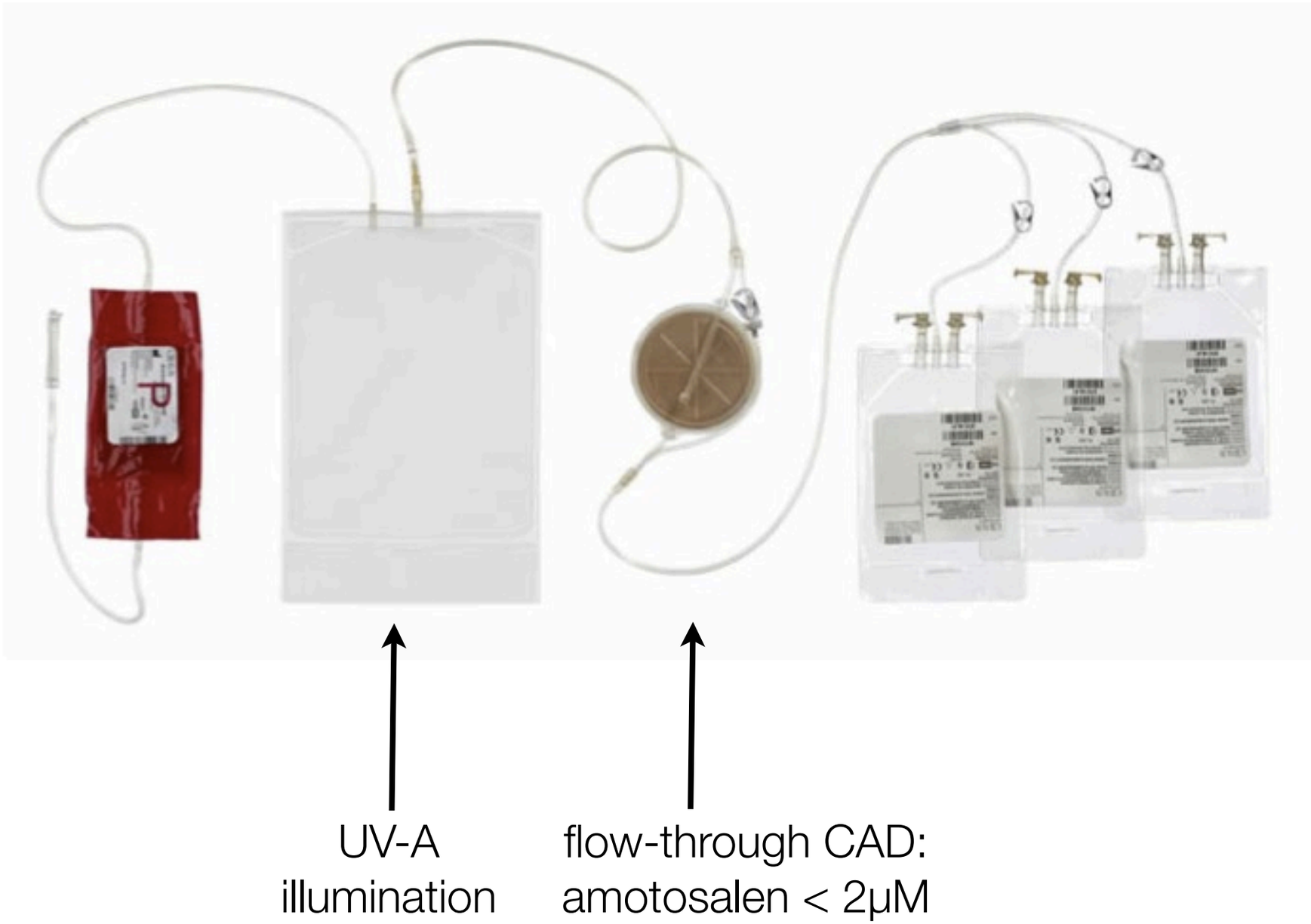
Procédé Intercept

- Principe: addition d’amotosalen qui se fixe aux acides nucléiques de façon covalente sous illumination UV-A

- Le procédé protège contre un large spectre de pathogènes (virus à enveloppe, virus nus, bactéries gram positives et gram négatives, parasites)

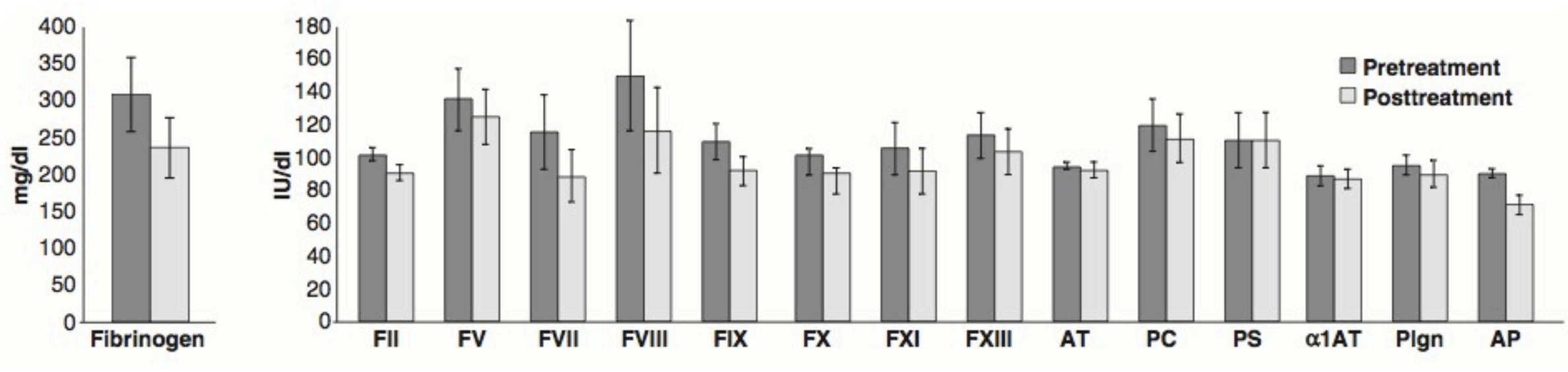
- Marquage CE, approuvé par SwissMedic.

Procédé Intercept



MA VIE TON SANG.ch

Rétention des facteurs de coagulation



Très bonne rétention des facteurs de coagulation pour du plasma d'aphérèse congelé dans les 8 heures après collecte. Rétention "limite" pour une congélation après 20 heures après collecte.

Vox Sanguinis 2010, 98: 47:55

MA VIE TON SANG.ch

Aspects réglementaires

- Le procédé Intercept-plasma a été approuvé par SwissMedic fin 2010.

- Une révision a été soumise en mai 2011 (passage de 8 à 20 heures pour le pooling de plasmas de sang complet).

- Une approche similaire au projet Intercept-plaquettes a été développée: Lausanne est centre pilote pour la préparation d'un plan de validation national, qui doit être approuvé par SwissMedic, en coordination avec le STS-CRS.

- Tout autre centre de transfusion intéressé à participer à la validation initiale peut encore se joindre comme centre pilote (Lugano).

Les guardbands plasma

Plasma input volume	385-650 mL
RBC	<4x10⁶/mL
CAD time	~10 min
Transfusion units/treatment	2 or 3 (user option)
Transfusion unit volume	~200 – 300 mL
Type of collection	Apheresis or Whole Blood*

... une situation simple pour la plasmaphérèse, plus compliquée pour le plasma concurrent et le plasma de sang complet!

MA VIE TON SANG.ch

Les sources de plasma possibles

Plasmaphérèse	Plasma concurrent	Plasma de sang complet
Up to 650 mL	Approx. 200 or 400 mL	Approx 250-270 mL

Intercept plasma kit
385-650 mL

MA VIE TON SANG.ch

Possibilities of plasma sources

Plasmapheresis	Plasma concurrent (PLT apheresis)	Recovery plasma (whole blood)
Up to 650 mL	Approx. 200 or 400 mL	Approx 250-280 mL
	Pool 2 or 3 unités	Pool 3 unités / filtration

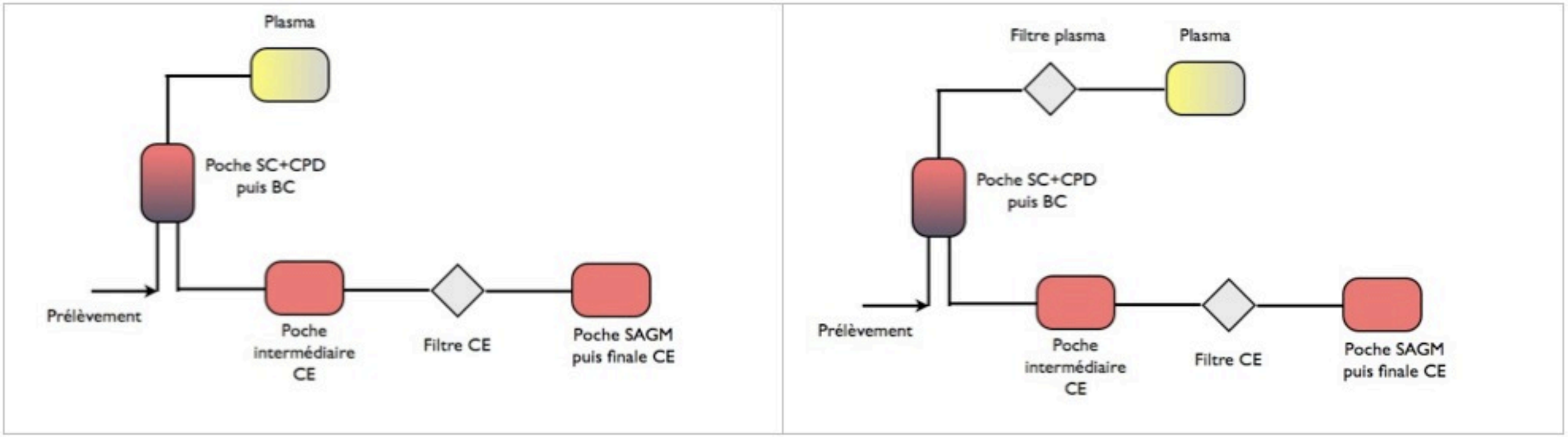
Intercept plasma kit
385-650 mL

MA VIE TON SANG.ch

Le conditionnement du plasma de sang complet

- Le plasma doit être déleucocyté avant pooling et traitement par le procédé Intercept
- Filtration en ligne du plasma
- Filtration sur demande du plasma unitaire
- Filtration sur demande de pools de plasmas

Filtration en ligne du plasma de SC



Plasma pour fractionnement

Plasma pour transfusion

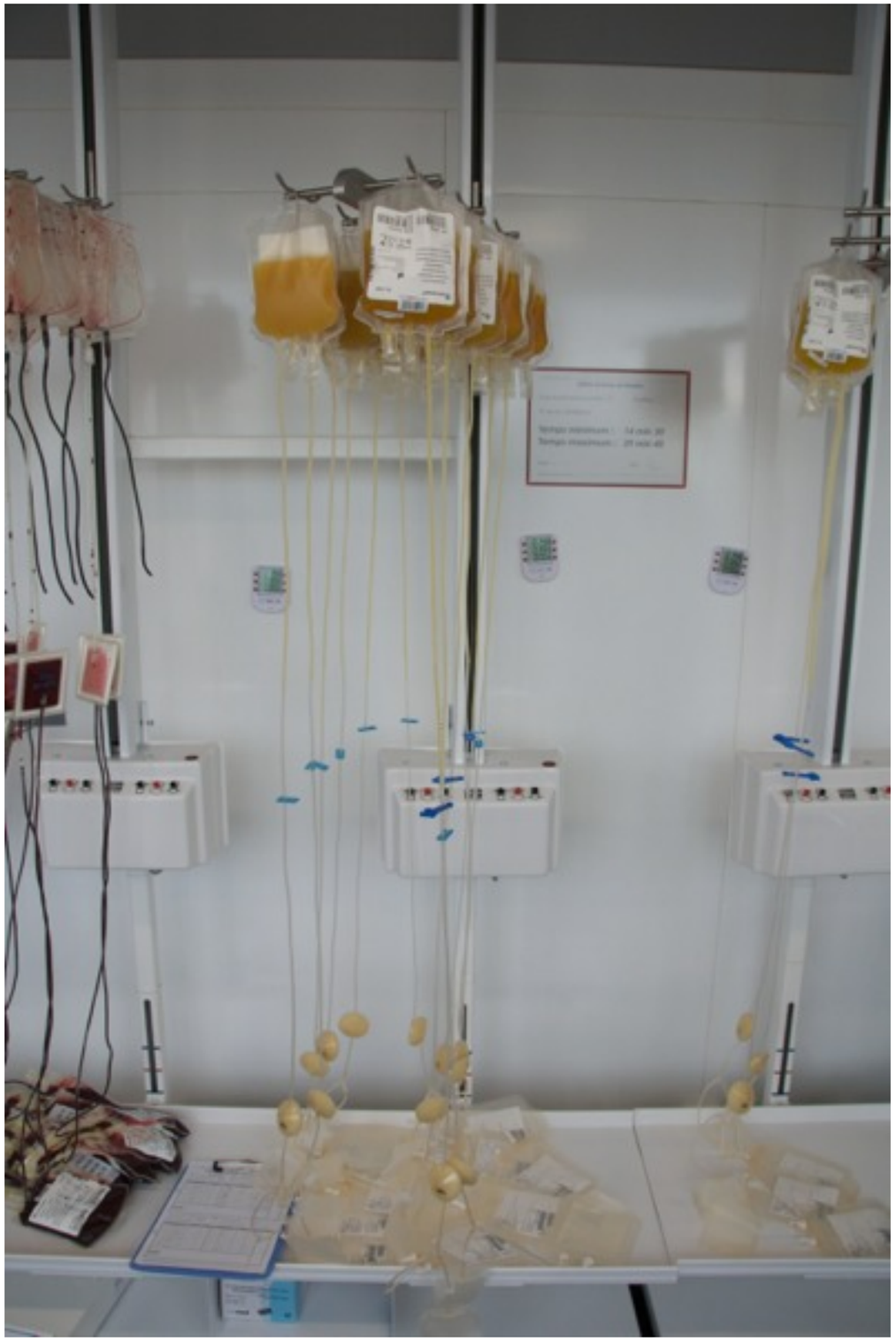
Le surcoût est de l'ordre de 15-20 CHF par filtre. A Lausanne, nous ne souhaitons pas gérer plusieurs kits de prélèvement.

Filtration unitaire du plasma

Filtre Pall LPSB1U, validé. Coût: 15-20 CHF par plasma unitaire

	Volume (mL)	Leucocytes av. filtration (10^6 / poche)	Leucocytes après filtration (10^6 /poche)
Moyenne	258.0	1.30	< 0.1
Ecart-type	16.8	0.81	-

Volume mort = 6.9 mL
Temps < 5 min



MA VIE TON SANG.ch

Filtration de pools de plasmas de sang complet

Kit avec poche de collecte
de 1’000 mL
Validé jusqu’à 650 mL
(Macopharma)

Validation en cours à 800 mL, à 1’600 mL
Jusqu’à maintenant: leucocytes < 0.2 10^6 / poche finale
Volume mort: 15 mL
Filtration en 30 min

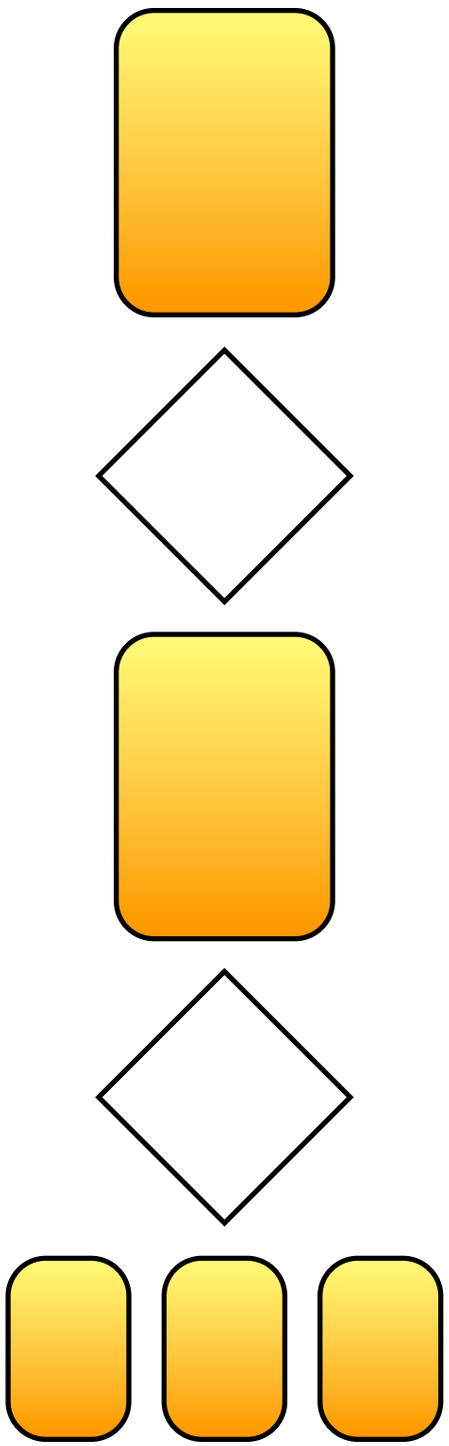
MA VIE TON SANG.ch

Pourquoi viser une filtration de grand volume?

Plasmas de SC	Volume poolé (mL)	Pertes de filtration (filtration unitaire) (mL)	Nombre de kits d'inactivation	Nombre de doses FFP inactivé	Volume de plasma non utilisé (mL)	Rentabilité des kits Cerus	Rentabilité plasma
2	540	14	1	2	0	2.0	1.0
3	810	21	1	3	149	3.0	1.0
4	1080	28	2	4	172	2.0	1.0
5	1350	35	2	6	35	3.0	1.2
6	1620	42	2	6	298	3.0	1.0
7	1890	49	3	8	121	2.7	1.1
8	2160	56	3	9	184	3.0	1.1
9	2430	63	4	10	207	2.5	1.1

MA VIE TON SANG.ch

Procédé global: 3 plasmas SC pour 3 iFFP



1 pool non-filtré de 665 mL

filtration: perte de 15-25 mL

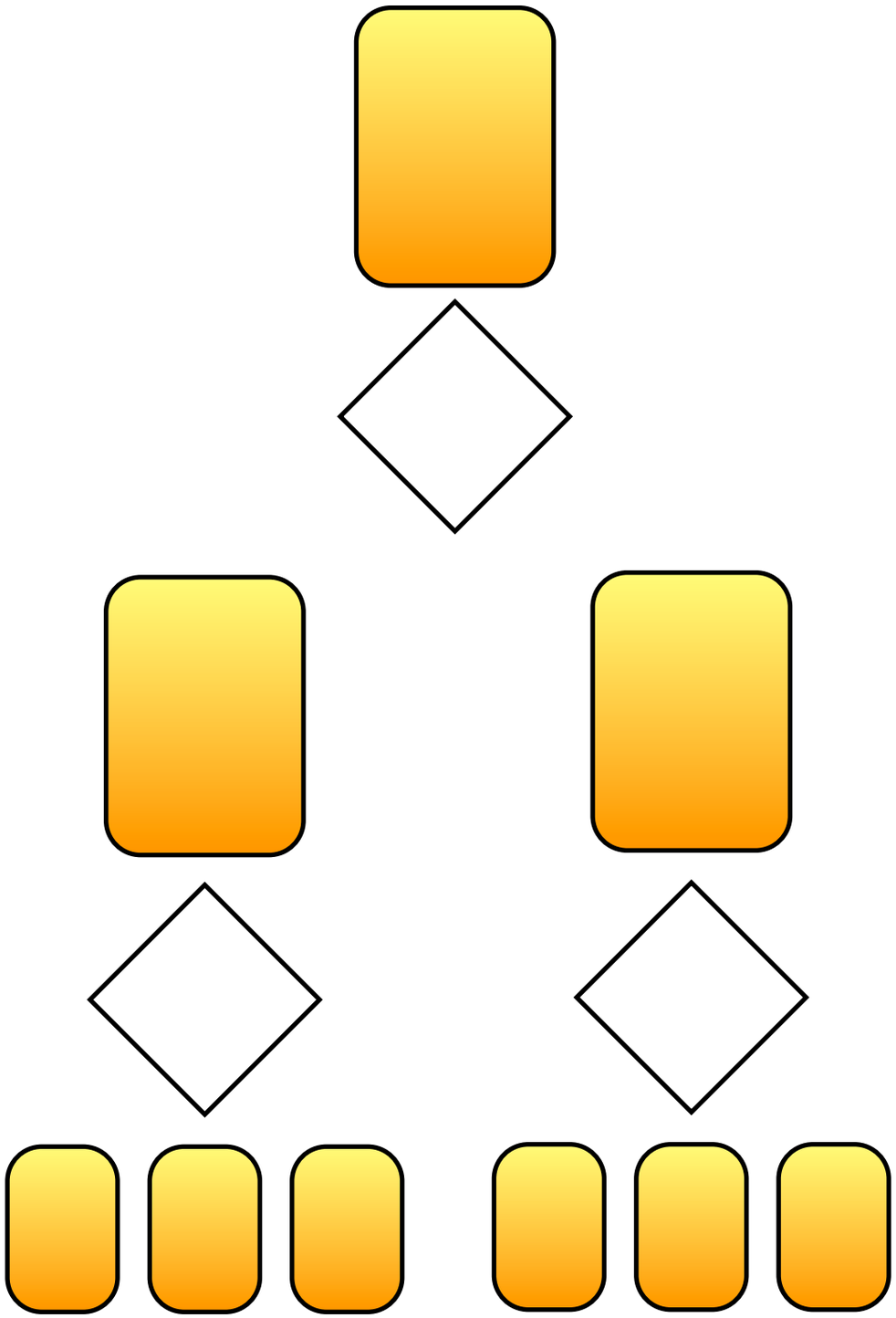
1 pool filtré de 640 mL

Intercept: perte de 30-40 mL

3 plasmas 200 mL

MA VIE TON SANG.ch

Procédé global: 5 plasmas SC pour 6 iFFP



1 pool non-filtré de 1’300 mL

filtration: perte de 15-25 mL

2 pools filtré de 2 x 640 mL = 1280 mL

Intercept: perte de 2 x 30-40 mL

6 plasmas 200 mL

MA VIE TON SANG.ch

Aspects réglementaires

- Avis positif de la conférence des directeurs STS-CRS pour le pooling de plasmas de sang complet (Novembre 2011)

- Soumission par Cerus du Fachinformation Intercept-plasma le 20 janvier 2011.

- Clarification en cours du pooling de plasmas de sang complet par Cerus vis-à-vis de SwissMedic

Prochaines étapes

Plan de validation

Approbation du plan de validation

Validation dans le(s) centre(s) pilote

Approbation des validations

Approbation du pooling de plasmas de sang complet

Planning

Action	Date	Qui
Soumission du plan de validation	Février 2012	Lausanne
Approbation du pooling de plasmas	Automne 2011	Swiss Red Cross- Lausanne
Validation de l'inactivation du plasma de sang complet	Printemps 2012	Lausanne
Validation de l'inactivation du plasma d'aphérèse	Printemps-été 2012	Lugano
Dissémination d'Intercept-plasma	Eté-automne 2012	Tout centre intéressé

Aperçu du plan de validation

- Pré-validation: montrer sur 12 unités de plasma prêtes à être inactivées le respect des guardbands (quelle que soit la source de plasma: plasmaphérèse, aphérèse plaquettaire, ou sang complet).

- Validation: montrer sur 12 traitements Intercept que les plasmas finaux sont dans les normes STS-CRS (à définir).

Rôle du (des) centre(s) pilote

- Identification des difficultés techniques
- Plan de validation
- Mise à disposition des validations des différents matériels utilisés (kits de pooling Macopharma, Cerus, filtres Pall, Macopharma...)

Merci de votre attention!