

Inactivation des pathogènes dans le sang total : effets d'un traitement combinant S-303 et différentes concentrations de glutathion sur plusieurs paramètres du sang total afin de valider un nouveau produit sanguin pour l'Afrique subsaharienne

Anaïs ALTMAYER¹, Anne NORTH², Tovo DAVID², Nina MUFTI², Rudolf SCHWABE¹, Emmanuel RIGAL³, Soraya AMAR EL DUSOUQUI¹

¹ Swiss Transfusion SRC, Laupenstrasse 37, Bern, Switzerland ² Cerus Corporation, Concord, CA, USA ³ Blood Transfusion Center – HUG, Geneva, Switzerland

Mécanisme d'action du S-303



CONTEXTE

L'anémie, souvent sévère (taux d'Hb < 5g/dl) représente la première indication d'utilisation de produits sanguins labiles dans les pays à faibles ressources. De plus, la transmission d'agents infectieux représente en Afrique subsaharienne le principal risque transfusionnel.

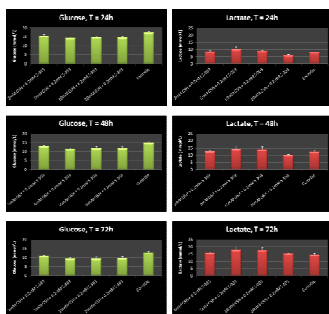
OBJECTIFS

Notre projet de recherche, soutenu par le Fonds Humanitaire de la Croix Rouge Suisse, a pour but d'améliorer la sécurité des pratiques transfusionnelles en Afrique sub-saharienne, où la majorité des transfusions sanguines se fait avec du sang total. La méthodologie repose sur l'adaptation de l'INTERCEPT Blood System de Cerus pour l'inactivation des pathogènes (IP) du sang total (ST). La première étape de notre projet a été de déterminer les effets de ce traitement sur différents paramètres sanguins. Les précédents résultats préliminaires ont montré une préservation de la survie et du maintien des fonctions érythrocytaires.

MATERIEL ET METHODES

Les poches de sang total ont été traitées avec le S-303, un agent alkylant utilisé pour inhiber la réplication d'agents pathogènes par un phénomène de cross-linking, ainsi que le glutathion (GSH), utilisé pour éviter les réactions non spécifiques et délétères du S-303 sur les membranes des érythrocytes. Les concentrations utilisées pour le traitement ont été de 0.2mM de S-303 et de 2, 5, 10 et 20mM de GSH. Les poches de sang ont été maintenues à température ambiante (22°C ± 2°C) pendant toute la durée des expériences et testées 24h, 48h, 72h et 7 jours après traitement pour les paramètres suivants : lactate, glucose, LDH, protéines plasmatiques totales, pH, PT, aPTT et facteurs de la coagulation.

RESULTATS



Dosage du glucose (mmol/L):

- Décroissance de la consommation de glucose avec le temps
- Pas d'incidence de la concentration de GSH sur la décroissance du glucose
- Taux de glucose légèrement supérieur dans les échantillons contrôles

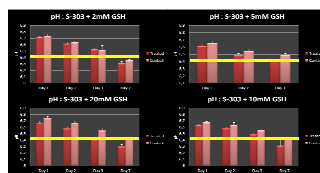
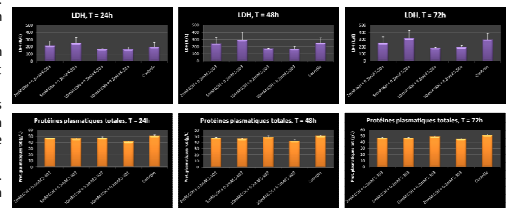
Dosage du lactate (mmol/L):

- Augmentation de la production de lactate avec le temps (acidification du pH)
- Pas d'incidence de la concentration de GSH sur la production de lactate
- Même si les valeurs sont très proches, le dosage de lactate dans les échantillons T est légèrement supérieur à celui des échantillons contrôles

De Grandmont et al., Vox Sanguinis, 2014 : Valeur maximale du taux de lactate dans des érythrocytes remis en suspension dans une solution de SAGM : 17mM à 42j.

Conclusion : Nos données sont cohérentes avec celles trouvées dans la littérature.

- **LDH (U/L)** : il catalyse la conversion du pyruvate en lactate durant la glycolyse. Une concentration plasmatique élevée de LDH est un marqueur de lésion cellulaire.
 - Effet stable et homogène du temps sur le taux de LDH : légère augmentation avec le temps. Taux de LDH inférieur pour les échantillons traités avec 10 et 20mM GSH.
- **Protéines plasmatiques totales (PPT)** : il existe plus de 300 protéines plasmatiques, dont les fonctions principales sont le maintien de la pression oncotique, le transport de molécules, la réponse immunitaire (immunoglobulines) et le phénomène de coagulation sanguine.
 - Pas d'impact du temps ni de la concentration de GSH sur le dosage de PPT. Légère différence entre les échantillons C et T, mais ceci est dû à une dilution des PPT lors de l'ajout du volume de S-303 + GSH dans les échantillons traités.



- **Mesure du pH** : - Le pH est légèrement inférieur dans les échantillons traités (le S-303 est une molécule acide). Les résultats sont cohérents avec ceux du dosage de lactate, qui augmente avec le temps (acidification du milieu).
 - Résultats obtenus précédemment par Cerus sur des concentrés érythrocytaires traités avec du S-303 + GSH : pH = 6,46 à 42j (seuil : ligne jaune sur les graphiques).
 - Mesure du pH à J7 : < 6,3 (à température ambiante). Ce pH est trop acide pour considérer la possibilité de garder les poches 7 jours après traitement dans les conditions africaines à température ambiante.

PT, aPTT et mesure de l'activité des facteurs de coagulation

	Not treated	Mock treated	2mM GSH	5mM GSH	7.5m M GSH	10mM GSH	Normal Ranges
PT(sec)	12.8	13.1	18.7	22.2	26.8	37.3	12.5-16.5
aPTT(sec)	32.3	31.8	46.9	62.8	94.9	no clot	27-37
FII (%)	84.2	83.4	44.7	50.3	51.5	52.0	78-104
FV (%)	83.3	77.2	65.7	68.6	67.4	69.4	79-107
FVII (%)	103.0	93.5	51.2	43.6	35.9	28.6	83-111
FIX (%)	99.6	91.3	48.3	34.1	29.2	24.7	93-131
FX (%)	96.8	89.9	34.9	20.3	13.1	6.9	77-103
FXI (%)	88.4	82.2	61.2	48.8	39.6	28.3	79-109
FIB (mg/dL)	308	279	248	247	243	221	220-330

Dosage des facteurs de coagulation :

Plusieurs facteurs de coagulation sont fortement impactés par le traitement, lorsqu'on augmente la concentration de GSH.

Les plus fortes concentrations de GSH (10 et 20mM) montrent une meilleure protection des érythrocytes au niveau du pourcentage d'hémolyse, mais en parallèle de cette protection, un plus grand nombre de facteurs de coagulation sont diminués.

Le compromis, pour un traitement optimal des poches, sera de choisir une concentration de GSH permettant à la fois une protection des érythrocytes et une préservation des facteurs de coagulation, dans la mesure du possible.

CONCLUSION

La plupart de ces paramètres n'a pas montré de différences entre les échantillons traités et contrôles. En revanche, une diminution importante des facteurs de coagulation a été observée en augmentant la concentration de GSH.

Ces résultats préliminaires sont encourageants et suggèrent que le sang total inactivé pourrait représenter un produit sanguin sûr et adapté aux pays à faibles ressources. Des travaux complémentaires, notamment sur l'impact de ces réactifs sur les plaquettes, sont en cours d'analyse.