



NOUVEAU PROCÉDÉ DE PRÉPARATION DES PLAQUETTES CRYOCONSERVÉES : RÉSULTATS DE L'ÉVALUATION IN-VITRO

**Stéphane Bégué⁽¹⁾, Christophe Martinaud⁽²⁾, Olivier
Javaudin⁽²⁾, Hugo Sugier⁽²⁾, Nicolas Burin-des-
Rosiers⁽¹⁾**

⁽¹⁾ Etablissement français du sang - EFS

⁽²⁾ Centre de transfusion sanguine des Armées - CTSA

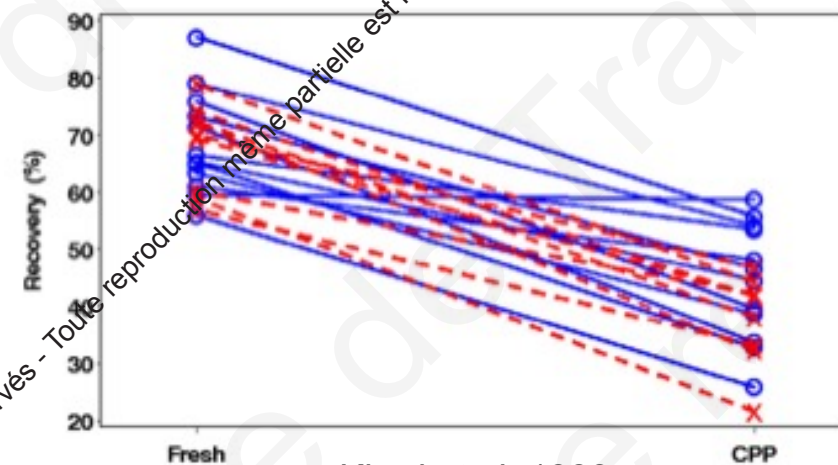
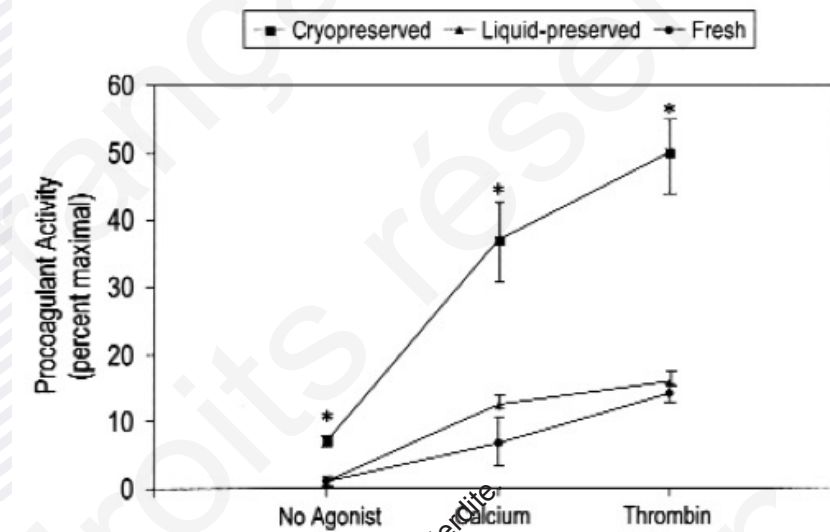
DES CONCENTRÉS PLAQUETTAIRES CONGELÉS: POURQUOI?

- **Garantir la disponibilité de concentrés de plaquettes dans des lieux de traitement isolés: opérations militaires, sites de transfusion dans les DOM.**
- **Pouvoir faire face à des conditions d'approvisionnement dégradées : Situation météorologique extrême, interruption du fret aérien, impossibilité de collecte sur une zone géographique éloignée.**
- **Constitution d'un stock de plaquette de « groupe rare »: HLA ou HPA phénotypées**
- **Enfin, la plaquette congelée peut présenter une efficacité hémostatique améliorée, requise notamment en situation d'hémorragie massive**

DES CONCENTRÉS PLAQUETTAIRES CONGELÉS: LES DONNÉES.

- Les CP cryoconservés présentent une activité pro-coagulante supérieure aux CP « frais »
- Les CP cryoconservés ont un rendement diminué au moins de moitié et une durée de vie in vivo limitée (7 jours)
- Les données cliniques sont encourageantes (étude EFS Martinique 2010-2014)

Effet hémostatique	Nombre de patients (N=33)	Commentaires
OUI	20 (60,6%)	Effet hémostatique avéré
NON	5 (15,15%)	Nécessité de retransfuser immédiatement en CP frais
Non EVALUABLE	1 (3%)	Arrêt thérapeutique
INDETERMINE	7 (21,25%)	Poursuite des transfusions de CP itératives (maintien du facteur déclencheur, geste hémorragique associé)



Khuri et al. 1999
Dumont et al. 2013
Richard et al. 2015

DES CONCENTRÉS PLAQUETTAIRES CONGELÉS: LES DONNÉES.

- Les CP sont conservés à 22°C en raison des critères utilisés pour évaluer leur qualité : la survie in vivo et l'augmentation de la numération plaquettaire
- Ces critères supposent implicitement que survie et NP sont corrélés à l'efficacité, à la fonctionnalité des plaquettes.
- Mais en réalité, tout dépend de l'indication de transfusion de CP: en prophylaxie du saignement ce critère est pertinent, mais en situation hémorragique la recirculation est moins importante que l'efficacité sur l'arrêt du saignement.

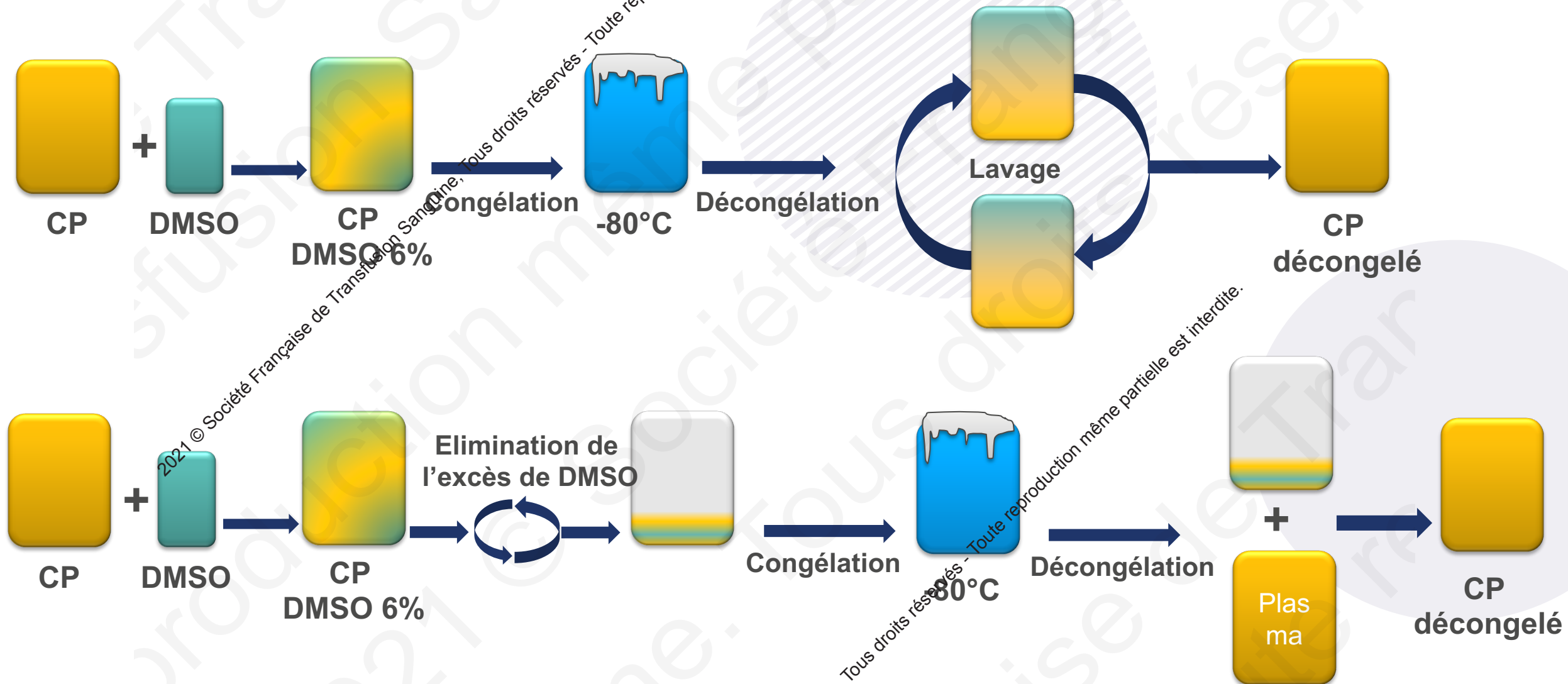
POURQUOI LE PROCÉDÉ DE CONGÉLATION ACTUEL N'EST PAS SATISFAISANT?

- Le volume du CP est important.
- Le CP congelé nécessite d'être lavé pour l'élimination du DMSO avant transfusion
- Cette étape de lavage dure entre 1h30 et 2h30
- Elle nécessite du matériel et des consommables : une centrifugeuse, une presse manuelle, une machine à connexion stérile, de la solution de lavage (NaCl 0,9% ou PAS).

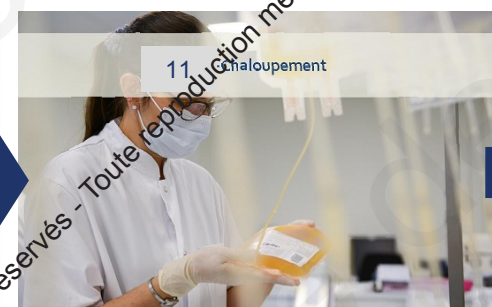
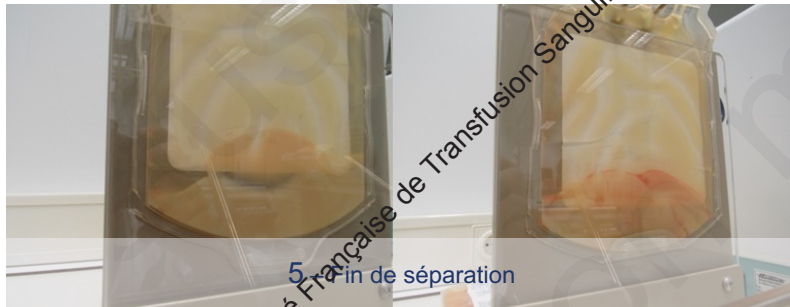
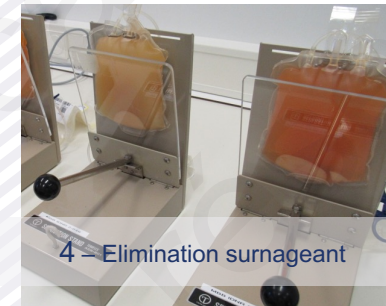
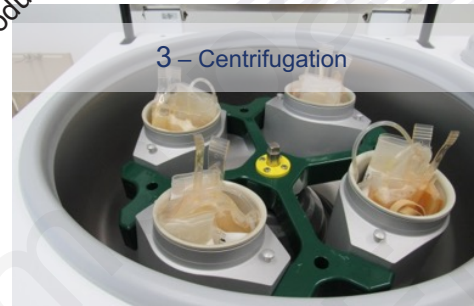
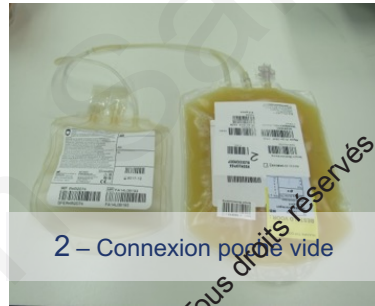
Conclusion: désaffection de la part des utilisateurs qui ne considèrent pas le CP congelé comme une solution de secours aisée.



LE NOUVEAU PROCÉDÉ: ÉLIMINER LE DMSO EN EXCÉDENT AVANT CONGÉLATION.



RÉALISATION



PRINCIPE DE L'ÉTUDE – ETUDE MENÉE CONJOINTEMENT EFS-CTSA

Objectifs:

Vérification de la conformité in-vitro des CP-Cryo selon la nouvelle méthode.

Mesure l'impact du type PFC sur les caractéristiques in vitro des CP décongelés.

- 16 MCP et 16 CPA – Congelés AVANT IA
- Traitement dans les 24h (CPA) ou 48 h (MCP) après prélèvement
- Reconstitution dans deux types de plasma: PFCse (AB) ou PLYO: 8 MCP et 8 CPA chacun
- Contrôle avant congélation, après décongélation et resuspension en plasma et après 6 heures de conservation à $+22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Attributs qualité suivis: volume, concentration plaquettes et QPA, pH, pO_2 et pCO_2 , Glucose, lactate, LDH, VPM, DMSO résiduel, Thromboélastographie (TEG), CP62P membranaire et soluble, GpIIb, GpIb, CD63, activation au TRAP.



Résultats

CONFORMITÉ RÉGLEMENTAIRE

	Avant congélation		Après décongélation et reconstitution			
	CPA	MCP	CPA		MCP	
			PFCSe	PLYO	PFCSe	PLYO
Volume (mL)	322 ± 27	320 ± 7	307 ± 34	256 ± 22‡	297 ± 52	219 ± 6‡
Numération plaquettaire (G/L)	1248 ± 185	1282 ± 189	1238 ± 238	1267 ± 217	1000 ± 247	1254 ± 109
QPA (10 ¹¹ /CP)	4,08 ± 0,74	4.11 ± 0.58	3.77 ± 0.66	3.22 ± 0.52	2.88 ± 0.38	2.74 ± 0.28
pH	7.14 ± 0.05	7.20 ± 0.11	7.23 ± 0.04	7.75 ± 0.13‡	7.35 ± 0.07	7.86 ± 0.34‡

‡ indique p < 0.05 comparant PFCSe and PLYO en conditions identiques.

- CP décongelés conformes à la L&C en vigueur (2021)
- Temps de décongélation et remise en suspension < 40 minutes
- Rendement en plaquettes du procédé global 78 %

AUTRES PARAMÈTRES

	Avant congélation		Après décongélation et reconstitution			
	CPA	MCP	CPA		MCP	
			PFCSe	PLYO	PFCSe	PLYO
VPM(fL)	8.0 ± 0.7	8.8 ± 0.4†	10.05 ± 0.9	9.6 ± 0.6	9.1 ± 0.6	8.7 ± 0.5
LDH (IU/L)	144 ± 19	198 ± 50†	1400 ± 653	1709 ± 572	2094 ± 1011	3596 ± 1021‡
Glucose (mmol/L)	6.45 ± 1.75	5.17 ± 1.10†	15.96 ± 1.10	13.13 ± 1.07‡	18.20 ± 1.43	15.20 ± 0.39‡
Lactates (mmol/L)	4.7 ± 1.6	8.0 ± 2.8†	3.2 ± 0.9	4.2 ± 1.8	3.6 ± 2.3	2.8 ± 0.6
DMSO g/PC	24,4 ± 2,0	24,0 ± 0,5	3.7 ± 1.0	3.0 ± 1.5	1.2 ± 0.4	1.6 ± 0.7

‡ indique $p < 0.05$ comparant PFCSe and PLYO en conditions identiques.

- VPM augmente légèrement.
- LDH augmente, signe d'une lyse plaquettaire au cours du procédé
- Gluc et Lact à 6h témoignent d'une reprise activité métabolique après décongélation
- Facteur de réduction du DMSO > 15 (8 pour les CPA et 25 pour les MCP)
-> dépend de la qualité de la phase d'élimination du surnageant

AUTRES PARAMÈTRES

	Avant congélation		Après décongélation et reconstitution			
	CPA	MCP	CPA		MCP	
			PFCSe	PLYO	PFCSe	PLYO
Indice de tournoiement	NR		1.5 [1-2]	2 [1-2]	1 [1-2]	2 [1-2]
TEG MA (mm)	70±8	63±4†	73±5	47±14†	70±6	56±5†
TEG R (sec)	9±1	8±1†	4±1	8±1†	4±1	8±1†
CD62P (ng/ml)	69±13	59±15	598±163	735±136	549±159	663±191
CD62P expression (%)	11±5	4±2†	48±18	66±10†	63±6	70±7†

† indique $p < 0.05$ comparant PFCSe and PLYO en conditions identiques.

- Bon IT, quelques agrégats qui se résorbent à 6h
- TAG MA potentialisé, TEG R raccourci -> pro-coagulantes
- CD62P augmenté dans les mêmes ordres de grandeur que décrit dans la littérature.

CONCLUSION

- **Procédé rapide. La charge de travail de l'élimination est portée par la préparation et libère le service de délivrance de l'étape de lavage.**
- **Raccourcissement considérable du délai de mise à disposition en délivrance, réduction du délai de 2h30 à 40 minutes.**
- **Conformité réglementaire du produit fini**
- **Rendement > 75%**
- **Activation plaquettaire observée est dans l'attendu: plaquette pro-coagulante**
- **Pas de différence entre PFCSe et PLYO, qui peuvent être utilisés indifféremment**

Merci pour votre attention



efs.sante.fr

