



Transfusion thérapeutique de granulocytes : cinétique et aspects organisationnels autour d'un cas clinique

Sylvain Lamure, P. Latry, T. Kanouni, Y. Hicheri, L Vincent, A. Lenglet, D Mathieu- Daude, P. Cazal, G. Cartron

► To cite this version:

Sylvain Lamure, P. Latry, T. Kanouni, Y. Hicheri, L Vincent, et al.. Transfusion thérapeutique de granulocytes : cinétique et aspects organisationnels autour d'un cas clinique. *Transfusion Clinique et Biologique*, 2014, 21 (6), pp.324 - 327. 10.1016/j.tracli.2014.09.005 . hal-03203379

HAL Id: hal-03203379

<https://hal.science/hal-03203379>

Submitted on 20 Apr 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Transfusion thérapeutique de granulocytes : cinétiques et aspect organisationnels autour d'un cas clinique

S. Lamure*, P. Latry**, T. Kanouni**, Y. Hicheri*, L. Vincent*, A. Lenglet*, D. Mathieu-Daude***, P. Cazal***, G. Cartron*

* Département d'hématologie clinique, CHRU Montpellier

** Unité Hémovigilance et Aphérèse Thérapeutique, CHRU Montpellier

*** EFS Midi-Pyrénées

Résumé

Contexte :

La transfusion thérapeutique de concentrés de granulocytes d'aphérèse (CGA) garde comme indication le sepsis chez le patient neutropénique, sans perspective de sortie rapide d'aplasie. Une efficacité clinique est observée avec une injection de 2 et 8 10¹⁰ cellules mononuclées par transfusion. En France ce recueil nécessite l'administration, chez un donneur volontaire de corticoïdes. Cependant la complexité du recueil et le manque de preuve d'efficacité de la procédure limitent son développement en routine. Une des principales critiques est le faible taux de circulation des granulocytes transfusés.

Cas clinique :

Un homme de 58 ans, a reçu une allogreffe pour une ostéomyélobiose. A 6 mois il est hospitalisé pour une aplasie médullaire secondaire à un rejet du greffon. Il présente un tableau de cellulite périnéale, à point de départ hémorroïdaire sans documentation microbiologique (bactériologique ni fongique). La cellulite évoluait malgré un traitement antibiothérapie et antifongique à large spectre initiés 15 jours auparavant pour choc septique au point de départ d'une parotidite. Une série de transfusion de CGA a été réalisée. La cinétique de recirculation des PNN est : une augmentation immédiate, à H2 le taux de globules blancs passe de 0,7 à 2 G/L (PNN de 0,05 à 1,6 G/L), suivie d'une diminution, 1,1 G/L (PNN 0,08) à H8, et d'un retour à l'état basal à la H16. Le rendement immédiat des transfusions se maintient au long de la procédure : GB entre 1,2 et 4,2 G/L (PNN : 0,9 à 2,3 G/L). Cliniquement une cicatrisation progressive est acquise. A l'arrêt des transfusions et malgré la persistance d'une neutropénie profonde, la cellulite ne ré-évolue pas. La tolérance clinique a été correcte. Le patient a pu bénéficier d'une seconde allogreffe.

Conclusion :

En 2014 la transfusion thérapeutique de CGA est indiquée en cas de complication infectieuse sévère d'une neutropénie prolongée, en association aux anti-infectieux. Elle permet de pallier une situation aigüe dans l'attente d'une reconstitution hématopoïétique. La faible recirculation des cellules transfusées ainsi que la rapidité d'efficacité laissent à supposer que les granulocytes sont concentrés au niveau du foyer infectieux.

Introduction

En 2014 la transfusion de concentrés de granulocytes d'aphérèse (CGA) est réalisée en thérapeutique de manière exceptionnelle. Chez l'adulte une indication communément admise est le sepsis chez le patient neutropénique, sans perspective de sortie rapide d'aplasie, avec point d'appel clinique : les cellulites de la face, d'un membre, du siège ou encore sur cathéter, les foyers localisés (foie, encéphale, poumon) ou biologique (aspergillose, candidose ou autres infections fongiques localisées ou disséminées).

Une efficacité clinique est observée avec une injection de 2 à 8.10¹⁰ cellules mononuclées par transfusion. De telles quantités de produit cellulaire historiquement recueillies chez des patients atteints de LMC en phase chronique peuvent aujourd'hui être collectées avec les techniques modernes d'aphérèse chez un donneur sain dit « stimulé ». En situation

physiologique la quantité circulante moyenne de polynucléaires neutrophiles est de 3,5 G/L. La quantité nécessaire à la défense antibactérienne ou fongique est plus importante, variant de 10 à 30 G/L. Pour obtenir de tels taux hors situation septique une stimulation pharmacologique par facteurs de croissance granulocytaire (G-CSF) ou par corticostéroïdes est réalisée. Le produit cellulaire obtenu doit ensuite être transfusé dans les 24h pour observer une efficacité clinique. Au niveau biologique on observe classiquement un faible taux de circulation des granulocytes transfusés.

Cet article reprend un cas clinique de transfusion de CGA avec une étude des cinétiques de circulation des granulocytes transfusés. La discussion passe en revue les principales données de la littérature sur la transfusion de granulocytes de l'ère moderne.

Cas clinique

Contexte

M. A âgé de 58 ans, est allogreffé de cellules souches périphériques pour une ostéomyélobiose, cervantes 3 (haut risque) au diagnostic.

Ses antécédants médicaux sont marqués par une hypertension artérielle essentielle, un adénocarcinome prostatique traité par chirurgie en 2005, une diverticulose sigmoïdienne, des sinusites à répétition, un emphysème centro-lobulaire secondaire à une intoxication tabagique. Le diagnostic d'ostéomyélobiose avait été posé devant un tableau associant anémie, altération de l'état général, splénomégalie. Une mutation de la Janus-Tyrosines-Kinase 2 avait été identifiée en biologie moléculaire.

Un traitement par anti-JAK2 (ROXULOTINIB) avait été initié, avec une réponse modeste. Dans un second temps une splénectomie avait été réalisée, après réalisation des prophylaxies anti-infectieuses.

La procédure d'allogreffe est réalisée 6 mois avant notre observation. Il s'agissait d'une greffe de cellules souches périphériques géno-identique. Le greffon avait été injecté après un conditionnement atténué par FLUDARABINE, BUSULFAN et Sérum Anti-Lymphocytaire. Les complications de la procédure ont été limitées. Sur le plan infectieux : aplasie fébrile, infection de voie veineuse centrale à implantation périphérique, sinusite, diverticulite, pneumopathie bilatérale, toutes restées sans documentation, toutes résolues sous antibiothérapie large spectre ; on note une réactivation EBV traitée par RITUXIMAB. Sur le plan métabolique M. A a présenté un OAP sur une hyper-hydratation, une hypertension artérielle et insuffisance rénale sous traitement immunosupresseur.

Deux mois après la procédure le chimérisme est à 78% celui du receveur, la recherche de mutation du JAK2 est négative, mais à l'histologie sur biopsie osseuse, persiste des signes de fibrose médullaire.

Il présente au moment de notre observation un état de choc septique, associant une fièvre, des frissons, une polypnée, une insuffisance rénale aiguë et une hypotension artérielle ne répondant au remplissage par sérum salé isotonique. Le point d'entrée pour ce sepsis est une lésion endobuccale -jugulaire droite- ulcérée, associée à une tuméfaction de la joue en regard. On note par ailleurs une hémorroïde externe, inflammatoire.

La numération formule sanguine objective une aplasie avec 1 G/L de globules blancs dont 0.08 G/L de polynucléaires neutrophiles, associés à une anémie et une thrombopénie modérée. Les examens de biochimie outre l'insuffisance rénale aiguë montrent un syndrome inflammatoire biologique.

L'évolution clinique est initialement favorable après une prise en charge en réanimation : amines, antibiotiques large spectre (beta-lactamines, aminosides, glycopeptides). Les

hémocultures reviennent positives à *Pseudomonas Aeruginosa* sensible à la PIPERACILLINE-TAZOBACTAM.

De retour dans le service, on note une nette régression de la tuméfaction jugale, et de la lésion endobuccale, mais une aggravation semaine plus tard de l'inflammation du paquet hémorroïdaire. L'évolution loco-régionale est rapidement défavorable avec un diagnostic de cellulite périnéale sur reprise fébrile, érythème induré évoluant de l'anus au scrotum .

Au biologique : patient toujours neutropénique (560 PNN/mm³), anémié (9.8 g/dL) et thrombopénique (61 000), apparition d'une choléstase.

La prise en charge chirurgicale est refusée de part la neutropénie attendue au long cours sur la reprise évolutive de l'ostéomyélofibrose (perte du chimérisme du donneur, BOM montrant une involution adipeuse complète de la moelle) et la thrombopénie pour une chirurgie à haut risque hémorragique.

Transfusion thérapeutique de concentrés globulaires d'aphérèse :

Il est décidé de stimuler la croissance de la lignée granulocytaire par G-CSF (injection quotidienne) et de changer la stratégie anti-infectieuse (switch pour IMIPENEM et LINEZOLIDE), traitement antifongique empirique par AMPHOTERICINE B LIPOSOMALE, et prophylaxie des infections à pneumocystis par ATOVAQUONE ce qui permet une stabilité clinique ; et dans un second temps de réaliser une série de 5 transfusions de granulocytes d'aphérèse irradiés sur 8 jours.

Le produit cellulaire transfusé contient environ 80% de PNN dans le CGA. Les donneurs ont été stimulés la veille soit à H-18 et H-6 soit à H-18 et H-12.^{[L]_{SEP}} à la dose de 1 mg/10Kg poids de

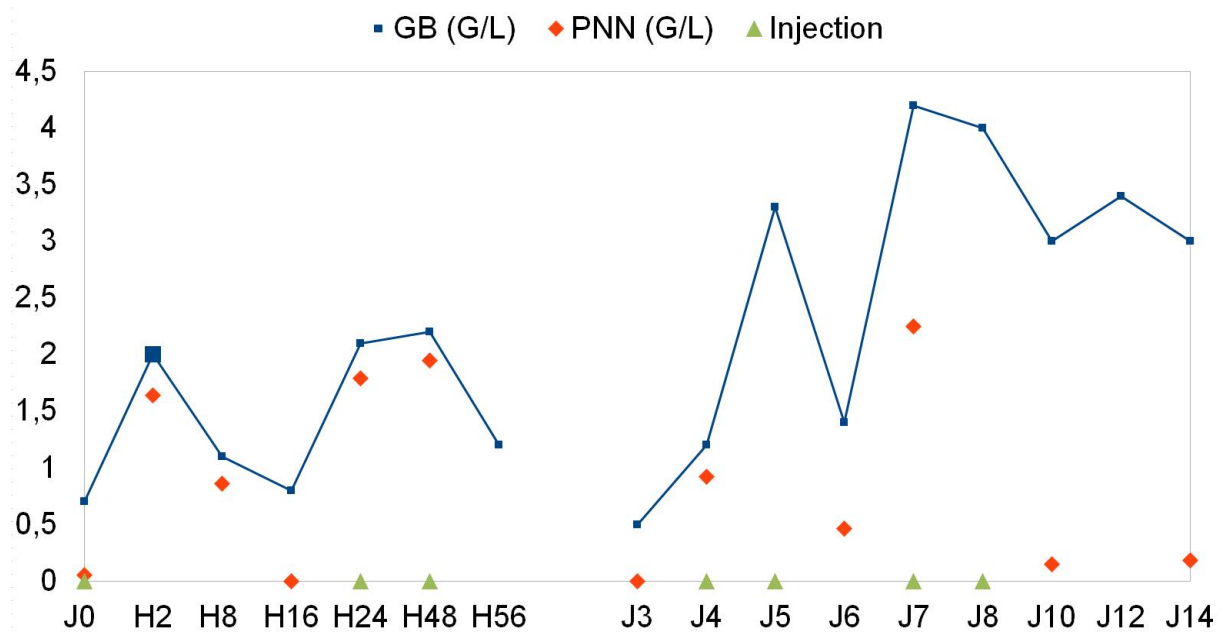
DEXAMETHASONE orale (Dectancyl® 0.5 mg). Le prélèvement est réalisé avec HYDROXYLETHYLAMIDON (Heafusine® 6% héparinée à la dose de 80UI /Kg poids).

Données quantitatives :

J0 : 3.6 10¹⁰PNN^{[L]_{SEP}}
J1 : 2.7 10¹⁰PNN^{[L]_{SEP}}
J2 : 3.5 10¹⁰PNN^{[L]_{SEP}}
J4 : 3.1 10¹⁰PNN^{[L]_{SEP}}
J5 : 6.2 10¹⁰PNN^{[L]_{SEP}}
J7 : 3.5 10¹⁰PNN^{[L]_{SEP}}
J8 : 4.4 10¹⁰PNN^{[L]_{SEP}}

Résultats

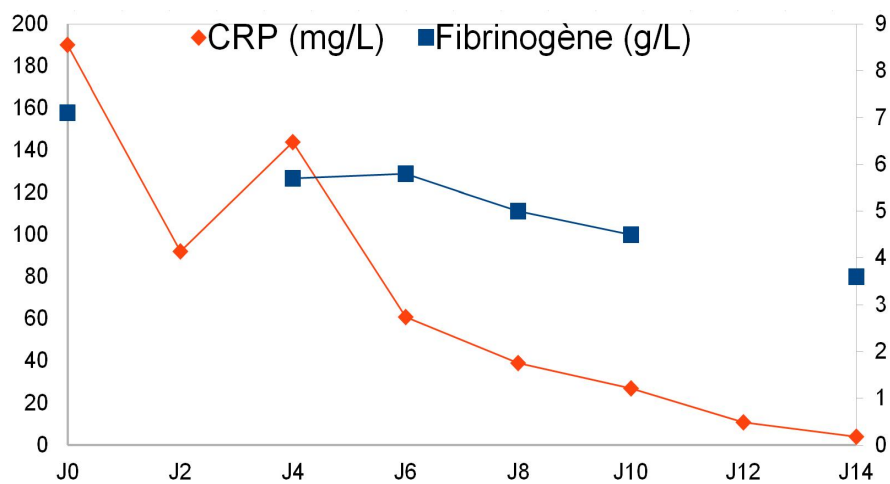
La quantité de polynucléaires neutrophiles (PNN) variait entre 2,7 et 6,2 10¹⁰ par CGA. La cinétique de recirculation des PNN est : une augmentation immédiate, à H2 le taux de globules blancs passe de 0,7 à 2 G/L (PNN de 0,05 à 1,6 G/L), suivie d'une diminution, 1,1 G/L (PNN 0,08) à H8, et d'un retour à l'état basal à la H16. Le rendement immédiat des transfusions se maintient au long de la procédure : GB entre 1,2 et 4,2 G/L (PNN : 0,9 à 2,3 G/L). Cliniquement une cicatrisation progressive est objectivée au terme de 9 jours de traitement. Le dernier pic fébrile est observé au 4ème jour de la procédure. Les marqueurs de l'inflammatoire (taux de fibrinogène et de CRP) décroissent. A l'arrêt des transfusions et malgré la persistance d'une neutropénie profonde, la cellulite ne ré-évolue pas. La tolérance clinique a été correcte. Le patient a pu bénéficier d'une seconde allogreffe.



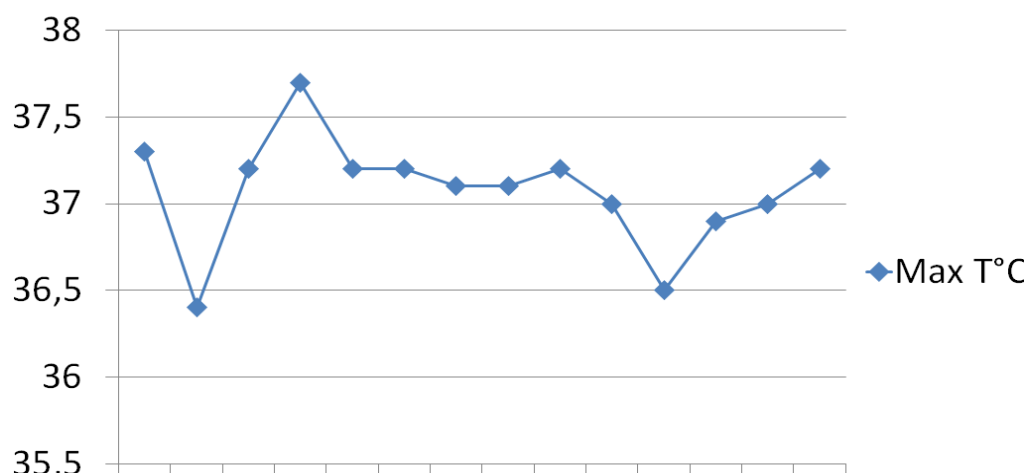
Cinétiques de circulation des globules blancs (GB) et des polynucléaires neutrophiles (PNN)

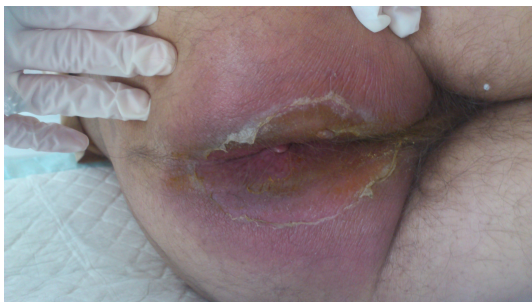
Evolution du taux circulant d'hémoglobine et de plaquettes (à faire)

Evolution du syndrome inflammatoire



Max T°C





Photos de haut en bas : cellulite à J-2, J0 et J5

Discussion

Indications

La transfusion de concentrés de granulocytes d'aphérèse (CGA) à visée thérapeutique est une procédure rare : 3 cas sont recensés en 10 ans sur le CHU de Montpellier. On ne recense aucun transfusion à visée prophylactique.

L'indication de la procédure dans les infections localisées est celle qui semble couronnée de plus haut taux de succès : 83% (1), contre 46% pour les sepsis (62% dans les sepsis d'origine bactérienne), 36% dans les infections fongiques invasives, 64% dans les pneumopathies et 75% dans les fièvres d'origine indéterminées.

Efficacité

Il est difficile de conclure que l'amélioration clinique soit du à la procédure de transfusion, étant donné la stratégie d'élargissement de spectre de l'antibiothérapie et l'administration concomitante de G-CSF.

Une revue de la littérature (2) reprend des séries historiques comparant la transfusion à l'antibiothérapie seule dans le traitement d'infections du neutropénique. 3 études sur les 7 analysées concluent à un bénéfice de la transfusion de CGA, 2 études montrent une tendance en faveur de la transfusion. Ces séries anciennes avaient pour principale limite de faibles quantités de granulocytes qui étaient de plus collectés par filtration ce qui altérait les qualités

fonctionnelles de ces cellules. Des séries de cas cliniques publiés rapportent une efficacité de la transfusion de CGA en grande quantité ($>10^{10}$ PNN/mm³), issus de donneurs stimulés par G-CSF et/ou corticoïdes, et recueillis par cytophérèse. Cependant une étude comparative randomisée (3) n'a montré aucun bénéfice en survie de la transfusion de CGA chez le patient neutropénique. Là encore des limites à cette étude ont été pointées du doigt : arrêt de l'étude sans avoir atteint les objectifs d'inclusion, infections non prouvées, non disponibilité de donneurs, stratégies anti-infectieuses non standardisées.

L'étude RING (4) en cours aux USA, contrôlée et randomisée compare des patients neutropéniques avec une infection fongique invasive, une bactériémie, une infection des tissus mous prouvée ou probable traités par transfusion de CGA contre agents anti-infectieux seuls (5).

En néonatalogie les essais sur la transfusion de CGA chez le patient neutropénique et en sepsis ont fait l'objet d'une méta-analyse par la Cochrane Collaboration (6). Celle-ci ne permet pas de conclure à un bénéfice de cette procédure thérapeutique.

Cinétiques

Dans cette observation la transfusion de granulocytes a été immédiatement suivie d'une recirculation de PNN et du maintien d'un taux supérieur à 0,5 G/L moins de 16h, néanmoins suffisant pour obtenir une amélioration clinique.

La faible recirculation et le tropisme des neutrophiles pour le site infectieux rendraient nécessaire des transfusions quotidiennes, voire bi-quotidiennes jusqu'à la sortie d'aplasie ou jusqu'au contrôle de l'infection (7).

Comme précisé plus haut, des quantités de granulocytes $>10^{10}$ /mm³ sont nécessaires pour obtenir une circulation de plus de 500 PNN/mm³. Dans ses recommandations l'AFSSAPS évoque un minimum de $2 \cdot 10^{10}$ granulocyte /mm³, conformément aux données de la littérature (8). En pratique la quantité dans les poches proposées par l'Etablissement Français du Sang (EFS) varie entre 2 et $8 \cdot 10^{10}$.

Tolérance

Dans notre observation les transfusions de CGA n'ont donné lieu à aucun effet indésirable. Les effets classiques décrits dans la littérature sont les réactions à la transfusion connus à l'époque pré-déleucocytation des produits sanguins labiles. La réaction de type frissons-hyperthermie peut dans les cas les plus graves conduire à une hypotension artérielle. Le tropisme des leucocytes pour le parenchyme pulmonaire peut entraîner une détresse respiratoire.

La transfusion d'un produit cellulaire allogénique s'apparente à une greffe tissulaire. Dès lors il existe un risque important d'alloimmunisation anti-HLA. Comme tout allogreffé de moelle notre patient a reçu des produits sanguins irradiés en prévention de la réaction du greffon contre l'hôte post-transfusionnelle.

La fabrication d'anticorps anti-leucocytaires, qu'ils soient ciblés contre les lymphocytes ou les polynucléaires neutrophiles, diminue le rendement transfusionnel des CGA, que ce soit en terme de cellules circulantes ou en terme de cellules trappées par le site infecté. Ces anticorps sont aussi mis en cause dans les détresses respiratoires post transfusion de CGA. Le monitoring de l'apparition d'anticorps anti-leucocytes n'est pas clairement défini, les méthodes utilisées sont l'agglutination, la cytotoxicité, l'immunofluorescence. Les cellules doivent être testées rapidement après le prélèvement. (9, 10). La présence d'anticorps anti-leucocytes doit faire chercher un donneur HLA compatible sinon contre-indiquer la poursuite des transfusions. L'immunisation anti-érythrocytaire est prévenue par la transfusion iso-groupe. Si elle est impossible, des méthodes de désérythrocytations sont utilisées.

Concernant le risque infectieux, la faible durée de conservation des GCA ne permet pas de réaliser le diagnostic génomique viral, augmentant le risque théorique de transmission du VIH, du VHB ou du VHC.

Recueil, qualification biologique et distribution

La nécessité de stimuler la production et la mobilisation (« démargination ») des granulocytes ainsi que la faible durée de vie du produit cellulaire sont des contraintes conduisant à des modalités particulière de collection.

Il existe deux types de stimulation de production de granulocytes : l'injection de facteurs de croissance granulocytaires (G-CSF) ou la prise orale ou intra-veineuse de corticostéroïdes. Une étude japonaise (Ikemoto et al transfusion) montre même la supériorité de l'association G-CSF et DEXAMETHASONE au G-CSF seul avec de collection de $7,2 \cdot 10^{10}$ (+ $2 \cdot 10^{10}$) contre $5,7 \cdot 10^{10}$ (+ $1,7 \cdot 10^{10}$), $p = 0,006$. Cependant la réglementation française, par précaution, interdit la prescription de facteurs de croissance dans ce contexte, à des personnes en bonne santé, en l'attente de données de sécurité, et en pratique la majorité des centres nord-américains procèdent aussi à la stimulation par corticostéroïdes seuls (11). Le choix du corticoïde a aussi fait l'objet d'études. Il n'y a pas de différence entre la stimulation par 8 mg DEXAMETHASONE orale ou par 50 mg de PREDNISONNE intra-veineuse (12). Les effets secondaires de la stimulation par corticostéroïdes ont fait l'objet d'une revue (13). Il en ressort quelques cas de cataracte sous-capsulaires postérieures.

Le donneur en France est sélectionné parmi les donneurs en aphérèse (plasma ou plaquettes). Les contre indications spécifiques au don de globules blancs sont : des antécédents d'ulcère gastrique, d'allergie, une hypertension artérielle, un traitement récent par héparine, une coagulopathie ou un traitement médicamenteux en cours, quel-qu'il soit. Son statut sérologique négatif vis à vis des infections virales doit être récent : la contrainte du faible délais de transfusion du produit cellulaire ne permet pas d'attendre le résultat du diagnostic génomique (par dérogation à la réglementation en vigueur).

Le produit final contient au minimum $2 \cdot 10^{10}$ granulocytes, 2 à $4 \cdot 10^{11}$ plaquettes, et des globules rouges en quantité variable. Il est systématiquement irradié et devrait être transfusé dans les 24h suivant le don. Les délais peuvent-être ramenés à 6h avec l'organisation territoriale des centres EFS réalisant le recueil.

En pratique la procédure de don est peu standardisée, en raison de sa rareté, et du faible nombre de centres habilité à la réaliser (3 en France, les EFS de Lyon Sud, Besançon et Paris Neker).

Pour notre cas l'organisation a été la suivante : l'indication de transfusion de CGA a été posée après concertation entre hématologues allogreffeurs et non allogreffeurs, et la procédure coordonnée par l'unité d'aphérèse thérapeutique et pharmacovigilance. Les produits sanguins ont été demandé à l'EFS, qui centralise la procédure de recueil dans 3 établissements. Les produits ont été disponible 48h après la demande.

Conclusion

Notre cas illustre une utilisation classique de la transfusion thérapeutique de concentrés granulocytaires d'aphérèse : la complication infectieuse sévère d'une neutropénie prolongée, en association aux anti-infectieux. Elle permet de pallier une situation aigüe dans l'attente d'une reconstitution hématopoïétique. La faible durée de circulation des cellules transfusées que nous observons, ainsi que la rapidité d'efficacité laissent à supposer que les granulocytes sont concentrés au niveau du foyer infectieux. La procédure est lourde à mettre en place et n'est pas sans conséquences pour le donneur : administration de corticostéroïdes avec des cas décrits de cataracte secondaires, don en aphérèse, ni pour le receveur, avec un risque d'allo-

immunisation anti-HLA. De plus le manque de preuve de son efficacité à l'heure des thérapeutiques anti-infectieuses par antibiotiques et antifongiques efficace, cantonne la procédure à cette indication rare.

Bibliographie

1. Strauss, R.G. Granulocyte (neutrophil) transfusion therapy. In *Transfusion Therapy : Clinical Principles and Practice* (ed by B.D. Mintz, pp 133-448. AABB Press, Bethesda, MD.
2. [Strauss, R.G.](#) Role of granulocyte/neutrophil transfusions for haematology/oncology patients in the modern era. *British Journal of Haematology*. 2012 Aug;158(3):299-306.
3. Seidel MG1, Peters C, Wacker A, Northoff H, Moog R, Boehme A, Silling G, Grimminger W, Einsele H. Randomized phase III study of granulocyte transfusions in neutropenic patients. *Bone Marrow Transplant*. 2008 Nov;42(10):679-84.
4. Safety and Effectiveness of Granulocyte Transfusions in Resolving Infection in People With Neutropenia (The RING Study). ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00627393
5. Netelenbos T. Therapeutic granulocyte transfusions in adults: more evidence needed. *Transfusion and Apheresis Science*. 2013 Apr;48(2):139-40.
6. Pammi M1, Brocklehurst P. Granulocyte transfusions for neonates with confirmed or suspected sepsis and neutropenia. *The Cochrane Library*. 2011 Oct 5;(10):CD003956.
7. Christophe Barisien, Pascal Morel, Christian Coffe, Maribel Tavernier. La transfusion de concentrés de granulocytes : indications et contraintes. *Hématologie* 2009 Nov; 15 (6) : 478-83.
8. Transfusion de granulocytes: produits, indications. Recommandations. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, juin 2003.
9. Heim KF1, Fleisher TA, Stroncek DF, Holland SM, Gallin JI, Malech HL, Leitman SF. The relationship between alloimmunization and posttransfusion granulocyte survival: experience in a chronic granulomatous disease cohort. *Transfusion*. 2011 Jun;51(6):1154-62.
10. McCullough, J. Alloimmunization and granulocyte transfusion: a new study confirms old lessons. *Transfusion*. 2011 Jun;51(6):1128-31.
11. Ginzburg Y1, Kessler D, Narici M, Caltabiano M, Rebosa M, Strauss D, Shaz B. How do I provide leukapheresis products? Blood center experience and evidence for process improvement. *Transfusion*. 2013 Oct;53(10):2123-9.
12. Kolovratova V1, List J, Worel N, Jilma P, Leitner G. Administration of prednisolone intravenously or dexamethason orally in random donors reveals equal results in granulocyte collection: a single centre experience. *Vox Sanguinis*. 2012 Jul;103(1):75-8.
13. Strauss RG, Johnson AT. Cataracts and corticosteroids in granulocyte donors. *Transfusion*. 2011 May;51(5):904-7.

