

## LE RISQUE BACTÉRIEN TRANSFUSIONNEL

Pascal Morel <sup>a,\*</sup>, Marie Deschaseaux <sup>a</sup>, Daniel Talon <sup>b</sup>, Xavier Bertrand <sup>b</sup>

### Résumé

La contamination bactérienne des produits sanguins (PSL) constitue aujourd'hui le plus important des risques infectieux de la transfusion sanguine. La contamination des PSL peut conduire à des incidents transfusionnels liés à la contamination bactérienne (ITCB) de gravité variable en fonction de facteurs déclenchant propres au PSL, à la bactérie, au receveur et d'autres encore mal élucidés. Les connaissances progressent en matière de fréquences de contamination des dons et des différents PSL, mais la définition précise de l'incidence des ITCB se heurte encore à la difficulté de leurs reconnaissances et à la certitude de l'imputabilité à la transfusion. La sensibilisation des acteurs du système d'hémovigilance à la reconnaissance et à la prise en charge des ITCB, la définition de procédures d'enquêtes et d'analyse bactériologiques des échantillons informatifs, doivent permettre d'améliorer encore le recensement des cas et fournir les informations indispensables à la mise en place de méthodes de prévention efficaces. Toute sévérité et tout PSL confondu, 1 ITCB survient tous les 142 000 PSL distribués. Les concentrés de plaquettes (CP) sont majoritairement à l'origine des accidents avec 1 cas toutes les 25 000 unités distribuées. Le nombre de décès avec ce produit est aujourd'hui de l'ordre de 1 décès pour 200 000 distribués.

En France, les efforts ont porté jusque-là sur la prévention de la contamination à l'étape de prélèvement du don et sur la prévention de la prolifération des bactéries dans les PSL. Les améliorations de la stratégie de prévention du risque bactérien sont une des priorités de l'Établissement français du sang. Les places respectives à réserver aux techniques de détection des bactéries et aux méthodes d'inactivation des agents pathogènes sont débattues actuellement. La culture automatisée (bioMérieux), les méthodes ScanSystem<sup>®</sup> (Hemosystem) et BDS<sup>®</sup> (Pall) sont, dans notre expérience, les procédés de détection les plus aboutis. En ce qui concerne les méthodes d'inactivation des agents pathogènes, la méthode Intercept<sup>®</sup> (Baxter) est à l'étape ultime avant sa commercialisation.

**Bactéries – effets indésirables – hémovigilance – infection bactérienne – risque transfusionnel – transfusion sanguine.**

<sup>a</sup> Établissement français du sang Bourgogne – Franche-Comté  
B.P. 1937

25020 Besançon cedex

<sup>b</sup> Laboratoire d'hygiène  
Centre hospitalier universitaire de Besançon  
1, bd Alexandre-Fleming  
25030 Besançon cedex

\* Correspondance  
pascal.morel@efs.sante.fr

article reçu le 10 avril, accepté le 7 juillet 2003.

© Elsevier France.

### Summary

*Bacterial contamination of blood components (BCs) represents today the highest infectious risk of blood transfusion. BC contamination may lead to more or less severe transfusion reactions due to bacterial contamination (TRBCs), depending on their origin : bacteria growth, the BC itself or unknown origin. Although the rate of donated blood or BC contamination is known it is still difficult to assess the actual incidence of TRBCs, as it is difficult to identify them and relate them to transfusion.*

*Through continuous education of hemovigilance actors in identifying and dealing with TRBCs, as well as drawing up procedures to perform inquiries and specific bacterial analyses, case reporting can be further improved, in order to achieve more efficient prevention. For all severity and for all BC type, 1 case of TRBC occurs with 142 000 distributed BC. The residual risk is particularly high when it affects platelet concentrates (PCs). For all severity, 1 case occurs with 25 000 distributed PCs and one death occurs with 200 000 distributed units.*

*In France, efforts have focused on the prevention of contamination during donation - involving measures such as rejecting the first few millilitres of donated blood and improving skin disinfection - and the prevention of bacterial proliferation - notably by removing leukocytes and ensuring high-quality storage of donated blood. Improving strategies for reducing the risks of bacterial contamination is one of the priorities of the French national blood transfusion service (l'Établissement français du sang - EFS). There is currently considerable debate about the relative importance of bacterial screening methods and methods for inactivating pathogens present in BC. Automated culture (bioMérieux) and the ScanSystem<sup>®</sup> (Hemosystem) and BDS<sup>®</sup> (Pall) method are the most advanced detection systems available, to our knowledge. In term of pathogen inactivation system for platelets, Intercept<sup>®</sup> (Baxter) is nearing the commercial market.*

**Bacteria – adverse effects – hemovigilance – bacterial infection – transfusion risk – blood transfusion.**

### 1. Introduction

La transfusion sanguine reste un complément thérapeutique indispensable à la survie d'environ 500 000 malades chaque année en France. Elle repose sur l'utilisation annuelle dans notre pays de 2 500 000 produits sanguins labiles (PSL). Il s'agit de produits thérapeutiques d'origine humaine, dont les risques immunologiques et infectieux conduisent chaque année à des accidents pour certains mortels. La transfusion de PSL est donc réservée à des indications parfaitement définies et limitées où elle est considérée comme irremplaçable et indispensable.

Les risques infectieux ont été soulignés dans les années 1980 avec la transmission des virus du sida ou de l'hépatite C. Aujourd'hui, le

risque de transmission des virus VIH, VHC, VHB, bien que demeurant la crainte essentielle des malades transfusés, doit être considéré comme maîtrisé (respectivement un don contaminé tous les 2 500 000 ; 5 000 000 ; 450 000). Cependant, la médiatisation du risque viral ou plus récemment celui de nouveaux agents infectieux émergents (prions) d'une part et l'amélioration constante des techniques de prélèvement et de préparation des PSL d'autre part, ont conduit à reléguer au second plan les autres risques infectieux, notamment le risque bactérien. La contamination bactérienne des dons ou des PSL est pourtant connue de longue date. Les progrès du matériel de prélèvement, ainsi que ceux de la préparation des PSL, avaient permis de réduire ce risque, au point qu'il a été considéré comme maîtrisé au regard du risque viral, prépondérant au cours des années 1980. La mise en place du système d'hémovigilance en France dès 1994, avec la notification obligatoire des incidents transfusionnels (IT), a permis d'enregistrer, à l'échelle nationale de mai 1994 à janvier 1999, 185 incidents transfusionnels liés à la contamination bactérienne (ITCB) des PSL, dont 18 décès, soit 1,7 accidents par mois et 1 décès tous les quatre mois lié à cette cause [1]. L'analyse de ces observations est à l'origine non seulement d'une remise en cause des connaissances concernant ce type d'accident (notamment en terme de définition d'incidence et de facteurs déclenchants), mais également d'une nouvelle définition de leur prise en charge [7]. Dans le cadre de la démarche d'amélioration constante de la sécurité transfusionnelle, la prévention des ITCB des PSL est devenue une des priorités de l'Établissement français du sang (EFS).

## 2. Définition

Les « incidents transfusionnels par contamination bactérienne des PSL » (ITCB) correspondent aux accidents bactériens d'expression clinique immédiate grave ou non. Le tableau clinique, qui peut être bruyant, apparaît dans un délai court (au cours ou dans les 2 h) après le début de la transfusion. Les caractéristiques de la bactérie en cause et sa quantité déterminent la gravité et le délai de survenue du tableau clinique.

Il est vraisemblable qu'en marge des cas cliniquement exprimés coexistent des cas de transmission bactérienne aux malades, lors de la transfusion, sans expression clinique immédiate et qui ne sont pas pris en compte aujourd'hui.

## 3. Mécanisme d'apparition des ITCB

C'est à l'étape de prélèvement du don que se produit l'inoculation des bactéries dans les PSL. Elle est consécutive, soit à une bactériémie asymptomatique ou à une infection préexistante chez le donneur, soit à l'introduction de bactéries de la flore cutanée au moment de la ponction veineuse [3].

La grande variété des bactéries inoculées à l'étape de prélèvement s'explique par les réservoirs d'origine des bactéries impliquées. Pour une contamination lors de la ponction veineuse, ce sont toutes les bactéries de la flore commensale et transitoire de la peau et les bactéries de l'environnement qui sont susceptibles de contaminer le don. Dans le cas de bactériémie ou d'infection préexistante chez le donneur, ce sont toutes les bactéries susceptibles de passer dans le flux sanguin, et en particulier les entérobactéries, qui peuvent être impliquées. Les bactéries inoculées à l'occasion de la traversée de la peau constituent le contingent le plus fréquemment révélé dans les études de détection systématique par culture.

La proportion de dons contaminés par des bactéries est de l'ordre de 2 %, avec des extrêmes de 0,6 à 4 %, mais reste difficile à éva-

luer [3]. Deux facteurs interviennent pour réduire la proportion de PSL contaminés.

- 1) Les méthodes de préparation qui favorisent la bactéricidie et l'élimination des bactéries (l'utilisation de l'effet bactéricide des leucocytes et la déleucocytation).
- 2) L'incapacité pour certaines souches bactériennes de survivre ou de proliférer dans les PSL.

Les concentrés de globules rouges (CGR) sont propices au développement des souches cryophiles dont *Yersinia enterocolitica* est caractéristique. Les plaquettes possèdent une activité antibactérienne propre et sont en mesure de réduire, à elles seules, la prolifération bactérienne [14]. Cependant, leur mode de conservation à la température de 22 °C en fait la catégorie de PSL la plus à risque.

La prolifération au cours du stockage du PSL, conduisant à l'accroissement du nombre de bactéries et/ou à la production de molécules toxiques (toxines et/ou endotoxines), représente un réel danger transfusionnel et un risque vital pour le malade transfusé. Il est possible d'individualiser schématiquement trois catégories de comportements de souches dans les PSL.

- 1) Les souches qui ne sont plus revivifiables (c'est-à-dire qui ne sont plus capables d'être révélées en culture) après un séjour dans un PSL.
- 2) Les souches qui subsistent dans le PSL à des concentrations constantes ou avec de très faibles augmentations à l'échelle de la durée de vie du PSL.
- 3) Les souches qui ont la faculté de proliférer dans le PSL au cours de sa période de validité et constituent le risque transfusionnel et la cible des méthodes de prévention.

Le tableau I représente le comportement de trois souches bactériennes dans les concentrés de plaquettes (CP) à l'occasion d'études menées sur l'efficacité de méthodes de détection. Bien qu'il ne soit pas possible de définir un seuil précis, une contamination supérieure à  $10^4$ ,  $10^5$  CFU/mL (fonction du type de bactéries en cause) est considérée comme le seuil au-delà duquel l'ITCB sera d'expression clinique immédiate et grave [5].

## 4. Fréquence

Il a été montré que les dons de sang total étaient fréquemment contaminés par des bactéries de la flore cutanée [3]. Les mesures préventives mises en œuvre au cours du processus de préparation PSL telles que les modalités de transport, les étapes de pré-stockage (qui favorisent la bactéricidie des leucocytes) ou encore la déleucocytation... permettent de réduire la prévalence de contamination des PSL issus des dons [5,12], qui ne serait plus que de l'ordre de 0,5 % – avec des variations importantes de 0,04 % à 2,5 % en fonction des études.

La France dispose, grâce au réseau d'hémovigilance, de la plus importante cohorte de ce type de complications de la transfusion. L'analyse de la fréquence de survenue des ITCB doit prendre en compte la variation des critères de validation au fil des années, qui se sont adaptés aux difficultés rencontrées [7]. Au cours de la dernière période, de 1999 à 2001, les données du réseau d'hémovigilance faisaient état d'1 cas d'ITCB pour 142 000 PSL distribués (tableau II) [11]. En terme de gravité, il faut souligner que les accidents mineurs représentent la majorité des cas enregistrés, quelle que soit la période étudiée (de 60 à 88 %) depuis 1994, date de mise en œuvre de l'hémovigilance. Les cas qui se sont manifestés par une menace vitale représentent de 11 à 26 % en fonction des périodes, et les décès de 2,5 à 10 % des cas. Depuis 1994, si le nombre des ITCB reste comparable, leur gravité semble diminuer [1].

**Tableau I / Prolifération de trois bactéries dans des mélangés de concentrés de plaquettes pour des contaminations volontaires permettant d'atteindre une concentration de 10<sup>8</sup> CFU/mL.**

		<i>C. amycolatum</i> n CFU/ml	<i>E. coli</i> (CIP n° 105901) n CFU/ml	<i>E. coli</i> (CIP n° 7642) n CFU/ml
Avant spiking*		0	0	0
Après spiking*	Immédiatement	17	15	12
	24 h après	10	0	13 467
	30 h après	10	0	180 000
	36 h après	1	0	550 000
	48 h après	6	0	5.10 <sup>6</sup>
	72 h après	25	0	> 10 <sup>7</sup>
	120 h après	117	0	NR
	168 h après	1 068	0	NR

\* Spiking : contamination volontaire.  
*E. coli* (CIP n° 105901) qui ne peut pas proliférer, *E. coli* (CIP n° 7642) qui prolifère facilement (10<sup>8</sup> CFU/mL en 48 h) et *Corynebacterium amycolatum* (CIP n° 103821) qui présente une longue phase de latence des bactéries.

## 5. Diagnostic

### 5.1. Diagnostic clinique

Le tableau clinique, décrit en général dans la littérature pour un ITCB, correspond au tableau d'une contamination bactérienne massive du produit sanguin. La sémiologie est celle d'un choc septique ou endotoxinique précédé ou non de signes non spécifiques. En marge de ce tableau sévère, il existe une symptomatologie moins évocatrice, composée de fièvre, frissons, signes cutanés divers, nausées, voire vomissements. Les observations de l'hémovigilance et l'étude Bachem ont permis de confirmer que les symptômes fièvre et frissons sont les plus fréquemment rencontrés [10]. Dans 30 % des accidents mineurs, ils sont la seule expression clinique de l'ITCB [10, 11].

Cette expression clinique mineure peut être la conséquence d'une absence ou d'une faible prolifération de la bactérie. Mais le même PSL utilisé après un délai de conservation plus long (après prolifération de la bactérie) pourrait engendrer des conséquences beaucoup plus graves. En d'autre terme, les accidents mineurs doivent être considérés comme le réservoir des accidents graves. L'expression sémiologique mineure peut être à l'origine d'une absence de prise en compte d'authentiques ITCB et donc, outre la sous déclaration qu'elle engendre, ne pas conduire aux mesures de sauvegarde permettant de bloquer les autres PSL issus du même don, et ainsi éviter les accidents en chaîne. Cette absence de signe pathognomonique rend difficile leur reconnaissance, ce qui conduit M.A. Blajchman à proposer dès 1998 que tout incident transfusionnel présentant les symptômes résumés dans le *tableau III* soit considéré comme un ITCB et entraîne les mesures de sauvegarde et les investigations à visée bactériologique [2].

### 5.2. Diagnostic positif

La preuve incontestable d'un ITCB repose sur la mise en évidence de la contamination du malade, la présence de la bactérie en cause dans le PSL et la preuve de la transmission de la bactérie par le PSL au malade. Les hémocultures effectuées chez le malade, l'analyse bactériologique des PSL transfusés et d'autres échantillons informatifs (PSL issus du même don, échantillon du PSL conservé à l'EFS, tubes échantillons prélevés chez le donneur et chez le malade avant transfusion...) doivent conduire au diagnostic de certitude. Cette certitude

**Tableau II / Fréquence de survenue des incidents transfusionnels liés à la contamination bactérienne (ITCB) des PSL en France pour la période 1999-2001 en fonction du type de PSL.**

Produits sanguins (PSL)	Toutes gravités	Décès
Tous PSL	1 / 142 000	1 / 1 800 000
Concentrés de plaquettes d'aphérèse	1 / 22 000	1 / 248 000
Mélanges de concentrés de plaquettes	1 / 25 000	1 / 100 000
Concentrés de globules rouges	1 / 245 000	1 / 5 900 000

**Tableau III / Quand doit-on suspecter un ITCB chez un malade transfusé ?**

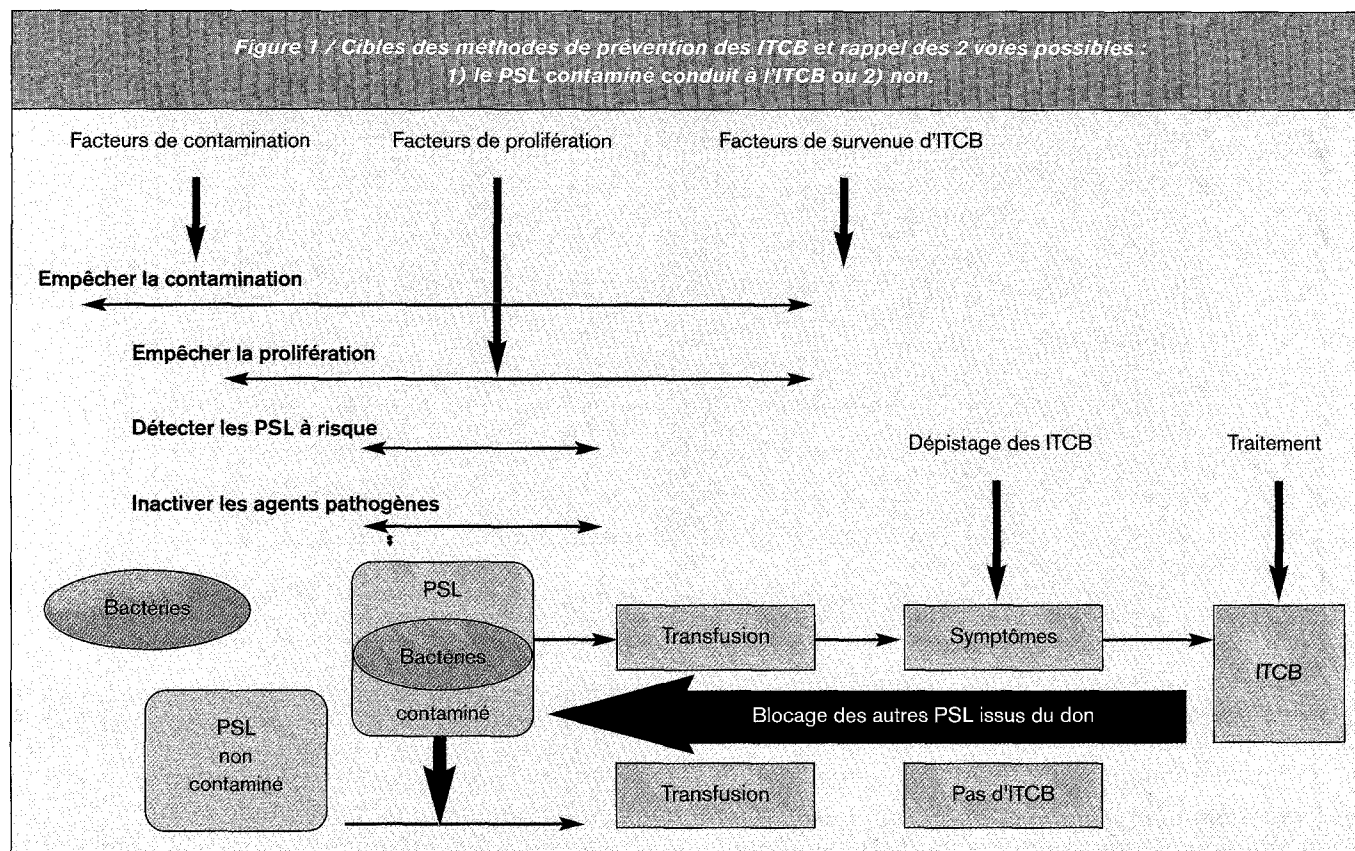
S'il au cours ou dans les 2 heures qui suivent la transfusion, est (sont) observé(s)
1. Fièvre de 38 °C ou plus (ou une augmentation de 1 °C *) et/ou
2. La survenue de frissons et/ou
3. Une tachycardie > 120/min (ou ↑ 30 /min) et/ou
4. Une chute de la TA (↓ 30 mm pour la systolique) et/ou
5. Les symptômes suivants : nausées, vomissements, diarrhée, dyspnée, hémorragie, oligurie et/ou état de choc.

\* Par rapport à la valeur avant transfusion. Selon M.A. Blajchman, 1998 [2].

est acquise par la mise en évidence de la même bactérie (phénotype et génotype) dans les hémocultures du malade et dans le PSL transfusé, corroborée éventuellement par la présence de la bactérie dans un autre produit issu du même don.

### 5.3. Diagnostic étiologique

Il est exceptionnel que l'origine de la contamination du PSL soit rapportée. Dans l'expérience française, pour les 5 premières années de l'hémovigilance, cette origine n'est établie que pour 6 cas sur les 50 (d'imputabilité 3 ou 4) [1]. Pour établir avec certitude cette origine, il est nécessaire de mener des investigations orientées en fonction de



la bactérie en cause. Ces investigations s'intéresseront aux consommables, aux donneurs, aux personnels, aux locaux. Le délai entre le prélèvement du don et l'ITCB peut être de plusieurs jours, voire semaines, ce qui rend difficile la mise en évidence de la souche en cause dans son réservoir d'origine.

#### 5.4. Diagnostic différentiel

Il ne s'agit pas d'une bactériémie. La symptomatologie peut être due à une toute autre cause (incompatibilité immunohématologique, immunologique...).

Il s'agit d'une bactériémie, mais les PSL ne sont pas en cause. Cette situation est fréquente, compte tenu des malades auxquels sont généralement destinés les PSL. La fréquence avec laquelle des septicémies sont découvertes à l'occasion de la transfusion doit retenir l'attention.

Par ailleurs, une contamination des PSL peut être découverte en l'absence de septicémie chez le receveur (hémocultures du receveur négatives). Il peut s'agir d'une contamination accidentelle du PSL après l'IT (lors des investigations) [10]. Cette situation, fréquente, est à l'origine d'une perte d'informations précieuses et donc constitue un frein majeur à la compréhension des ITCB.

## 6. Méthodes de prévention

L'amélioration de la prévention du risque d'ITCB repose schématiquement sur quatre axes (figure 1).

- 1) Réduire la contamination des PSL par des bactéries.
- 2) Empêcher la prolifération des bactéries lorsqu'elles ont été introduites dans le don ou les PSL.

3) Détecter les dons / PSL contaminés et surtout ceux dans lesquels les bactéries ont proliféré.

4) Ou « stériliser les PSL » ou inactiver les agents pathogènes présents dans les PSL, c'est-à-dire mettre en œuvre des méthodes qui détruisent avant leur prolifération les bactéries éventuellement présentes dans les PSL.

#### 6.1. Limiter la contamination des PSL

Les recommandations et les différents référentiels utilisés en transfusion visent à limiter l'introduction de bactéries aux cours des processus de prélèvement et de préparation des PSL (kits stériles à usage unique ; préparation en système clos). L'étape de prélèvement du don fait logiquement l'objet d'une attention particulière. Des mesures de précaution concernent la sélection médicale et biologique des donneurs. La ponction veineuse est encadrée par des règles d'hygiène et des procédures de désinfection de la peau strictes. Le détournement des 30 premiers millilitres du don est la dernière mesure de prévention généralisée en France [3]. Il reste cependant à progresser en matière d'hygiène au niveau du prélèvement, avec notamment l'amélioration de la désinfection de la peau (particulièrement la phase de détersion qui apparaît insuffisante) et une meilleure connaissance des facteurs de risque des bactériémies du sujet sain [9]. L'hygiène de l'environnement des PSL et des locaux dans lesquels sont prélevés les dons pourrait être améliorée [8].

#### 6.2. Empêcher la prolifération des bactéries

Au regard du nombre probable de dons contaminés, il apparaît indispensable de mettre en œuvre des méthodes visant à empêcher la prolifération. Les premières étapes de stockage, dès le prélèvement jusqu'à la préparation PSL, visent à utiliser au mieux le pouvoir bactéricide des polynucléaires [12]. La déleucocytation contribue également à

réduire le risque de prolifération. Une attention particulière doit être apportée aux transports des PSL vers les établissements de soins et à leur conservation dans les unités de soins. Lorsque la rupture du système clos est nécessaire à la réalisation de transformations des PSL, la réduction des délais d'utilisation à 6 heures est systématique.

### 6.3. Détecter des produits sanguins contaminés

Elle vise à éviter la transfusion d'un PSL dans lequel des bactéries ont été introduites et ont réussi à proliférer. Aujourd'hui, seul l'examen visuel du PSL, avant sa distribution et avant sa transfusion, est recommandé. Il doit permettre de révéler des anomalies de couleur, de texture..., qui peuvent être symptomatiques d'une contamination bactérienne.

De nombreuses méthodes de révélation des bactéries, ou de leur prolifération dans les PSL, sont à l'étude [6]. Leur application aux PSL se heurte à plusieurs difficultés.

**1) Le faible inoculum :** la contamination est consécutive soit à une bactériémie infra clinique du donneur, soit à l'inoculation de bactéries lors de la ponction veineuse. Dans tous les cas, la contamination des PSL se fait avec des quantités très faibles de bactéries. Ainsi, la plupart des méthodes de révélation nécessitent actuellement une phase de prolifération (enrichissement) pour atteindre des quantités détectables.

**2) Bactéries non revivifiables :** la notion de bactéries non cultivables ou non revivifiables est à prendre en compte dans l'interprétation des analyses effectuées pour des PSL. Ces bactéries sont susceptibles d'échapper aux méthodes de détection par culture.

**3) Représentativité de l'échantillon analysé :** l'analyse doit être réalisée sur un échantillon qui soit représentatif du PSL à analyser. Les PSL sont des milieux hétérogènes. Il faut donc prendre en compte le risque de faux négatifs liés à l'absence de bactérie dans l'échantillon de prise d'essai à analyser.

**4) La spécificité :** une méthode de détection ne doit révéler que les PSL à risque. Lorsque l'on utilise des méthodes très sensibles, telles que l'amplification génique par PCR (*polymerase chain reaction*), la détection concerne les bactéries mortes et/ou en très faible quantité voire les génomes libres et leur révélation n'est alors pas corrélée à un risque transfusionnel.

**5) La détection universelle :** compte tenu de la variété des espèces susceptibles d'être rencontrées, il est nécessaire de faire appel à des méthodes capables de toutes les détecter.

### 6.4. Inactiver les agents infectieux

L'inactivation de tous les agents infectieux (virus, bactéries, parasites) présents dans les PSL est certainement le moyen radical de prévenir la survenue d'ITCB.

Les méthodes proposées doivent répondre aux exigences en termes d'efficacité, de préservation du PSL et de toxicité. Pour les bactéries, cette opération d'inactivation doit être précoce pour agir avant la prolifération et la production de molécules toxiques. L'éventualité d'une génotoxicité résiduelle de ces molécules chez le malade transfusé et son pouvoir mutagène, tératogène et carcinogène est une crainte théorique, qui participe au retard d'implémentation de cette solution.

## 7. Perspectives en matière de prévention

Les projets en matière de détection des bactéries comme d'inactivation des agents pathogènes se sont intéressés en premier lieu aux CP. Trois méthodes de détection sont disponibles : la culture automatisée, la

méthode ScanSystem® et la méthode intitulée Bacterial detection system (BDS®). Une méthode d'inactivation des pathogènes est en voie de commercialisation.

### 7.1. La culture automatisée

Il s'agit d'une adaptation d'un automate d'hémoculture (BacTAlert®, bioMérieux) à la détection des bactéries dans les PSL. L'automate fonctionne en continu et le principe repose sur la détection colorimétrique de la production de CO<sub>2</sub>. Elle permet de révéler les bactéries par la mise en évidence de leur prolifération. Un échantillon du CP est prélevé stérilement. Il est inoculé dans un flacon d'hémoculture. La culture est effectuée sur 5 jours. Le protocole proposé par bioMérieux prévoit l'ensemencement de deux flacons standards (un en aérobie et un en anaérobie) avec 4 mL du CP, 24 h après le prélèvement du don. Les résultats des programmes de surveillance de la contamination sont en faveur de l'utilisation du seul flacon d'hémoculture aérobie. La question d'une quarantaine supplémentaire du CP après l'inoculation des flacons d'hémoculture pour favoriser la détection d'une contamination massive est à discuter. Plusieurs pays ont généralisé, en 2001, le contrôle des CP par culture avec les deux flacons, et leurs résultats pourront rapidement apporter de nouveaux éléments.

### 7.2. La cytométrie en phase solide

Une méthode faisant appel à la cytométrie en phase solide, dénommée ScanSystem® (HemoSystem), a été développée. Elle s'effectue en deux temps : la préparation de l'échantillon à tester et la révélation. La révélation nécessite un cytomètre à balayage, développé pour détecter des événements rares, et déjà utilisé dans d'autres applications. Cette méthode permet de détecter les bactéries elles-mêmes. Les résultats sont obtenus sous forme d'une numération des événements détectés et chaque événement est validé par l'utilisateur à l'aide d'un microscope à épifluorescence asservi au cytomètre. La révélation permet de détecter une bactérie viable ou non, cultivable ou non.

Les résultats obtenus montrent que la méthode ScanSystem® est en mesure de détecter de 10<sup>2</sup> CFU / mL à 10<sup>3</sup> CFU / mL dans 100 % des cas en fonction des souches. Ce seuil de détection permet d'envisager de prélever l'échantillon à analyser entre 30 et 36 h (enrichissement) après le don et de l'analyser immédiatement. Le résultat définitif est disponible en 75 min. L'équipe de T. Schneider de l'EFS Nord-de-France, site de Lille, a étudié la faisabilité et la spécificité de la méthode en réalisant l'analyse sur plus de 800 CP. Aucun faux positif n'a été observé.

### 7.3. Bacterial Detection System® (BDS)

La société Pall propose une méthode intitulée Bacterial Detection System® (BDS), qui révèle la prolifération des bactéries en mesurant la consommation de l'oxygène. Elle consiste à prélever, 24 h après le don, 3 mL du CP en dérivation sur la poche, et à sélectionner les bactéries par filtration, en retenant les cellules sanguines. L'analyse est réalisée après 24 heures d'incubation en mesurant la consommation d'oxygène dans la petite poche qui recueille le produit de cette filtration. Un taux inférieur à 19,5 % révèle la présence et la prolifération de bactéries. Les résultats montrent la possibilité de détecter en 48 à 54 h la contamination d'un CP avec de bons résultats dans la détection des contaminations des CP par les bactéries à Gram négatif. Cette méthode n'est pas en mesure de révéler les bactéries anaérobies et n'est pas en mesure de détecter 100 % des bactéries à croissance lente ou différée, mais ses performances doivent être discutées au vu de sa simplicité de mise en œuvre.

### 7.4. Inactivation

Les sociétés Cereus et Baxter ont développé conjointement un procédé utilisant l'Amotosalen HCL (S-59) associé à une irradiation par

rayonnement ultraviolet pour l'inactivation des virus, des bactéries et des parasites dans les CP (Intercept®). Les psoralènes s'intercalent dans les hélices d'ARN ou d'ADN et soumis à la lumière UVA, ils réagissent avec les bases azotées nucléotidiques. Une réaction secondaire a lieu avec une seconde base pour former une liaison irréversible bloquant la réplication de l'ADN et de l'ARN. L'Amotosalen est dégradé en photo-dérivés non actifs et un dispositif permet, en fin de procédure, de retirer les résidus de psoralène et les dérivés photo-induits. La procédure d'inactivation est optimisée, des consommables (kits) permettant de traiter les différents types de CP sont disponibles, ainsi qu'un photo-illuminateur piloté par microprocesseur.

Les effets bénéfiques de ce procédé pour le receveur sont nombreux : suppression de la transmission du CMV, prévention de la GvH transfusionnelle, réduction des fièvres / frissons liés à la production de cytokines en cours de conservation du CP.

La mise en œuvre précoce de cette méthode permet l'inactivation des bactéries sans difficulté [4]. Une étude de phase III a été réalisée en Europe et aux États-Unis [13]. Cette méthode est optimisée et adaptée à l'activité transfusionnelle. Elle est en mesure de prévenir le risque bactérien et de limiter le risque viral. Elle devra être appréciée au vu de son impact en terme de réorganisation, de perte fonctionnelle des CP et des craintes relatives à sa toxicité à long terme.

## 8. Conclusion

Le risque bactérien constitue aujourd'hui le risque infectieux transfusionnel le plus important. De nombreuses questions restent posées, concernant les facteurs de risque des ITCB. Le système

d'alerte mis en place par l'hémovigilance, qui vise en premier lieu à éviter les accidents en chaîne (plusieurs PSL à partir d'un don), doit encore progresser pour améliorer la compréhension des ITCB.

Il apparaît indispensable de travailler à la standardisation des enquêtes étiologiques par la mise en place de procédures qui, du service de soin jusqu'au laboratoire de bactériologie, permettent un recueil exhaustif et fidèle des informations nécessaires à la reconnaissance et à l'imputabilité de l'ITCB. Une enquête rigoureuse lors de chaque suspicion et une documentation de l'incident doivent permettre d'établir de façon formelle l'infection du malade, la contamination du PSL et de mettre en œuvre l'enquête découvrant l'origine de la contamination du PSL. Lorsque le PSL n'est pas massivement contaminé, il faut imaginer que la symptomatologie puisse être mineure et craindre que d'authentiques ITCB ne soient pas reconnus donc non explorés. La fréquence des ITCB avec les CP reste stable à 1/25 000.

Il est nécessaire de poursuivre l'amélioration de l'hygiène des conditions de prélèvement et de rechercher les moyens d'éviter la prolifération en cours de conservation. Trois méthodes de détection et une méthode d'inactivation peuvent concourir dès à présent à réduire, voire supprimer ce risque. LEFS a constitué un groupe national d'étude, afin d'apprécier les avantages et les inconvénients respectifs de chacune de ces méthodes et de définir la stratégie la mieux adaptée aux connaissances du moment.

## Remerciements

Merci à Isabel Gravier pour la relecture et la mise en forme du manuscrit.

## Références

- [1] Andreu G., Morel P., Forestier F., Debeir J., Rebibo D., Janvier G., Hervé P., Haemovigilance network in France : Organization and analysis of immediate transfusion incident reports from 1994 to 1998, *Transf.* 42 (2002) 1356.
- [2] Blajchman M.A., Bacterial contamination and proliferation during the storage of cellular blood products, *Vox Sang.* 7 (1998) 155-159.
- [3] Bruneau C., Perez P., Chassaigne M., Allouch P., Audurier A., Gulian C. et al., Efficacy of a new collection procedure for preventing bacterial contamination of whole-blood donation, *Transf.* 41 (2001) 74-81.
- [4] Corasch L., Inactivation of viruses, bacteria, protozoa and leukocytes in platelet and red cell concentrates, *Vox sang.* 78 (Suppl. 2) (2000) 205-210.
- [5] Mitchell K.M.T., Brecher M.E., Approaches to the detection of bacterial contamination in cellular blood products, *Transf. Med. Rev.* 13 (2) (1999) 132-144.
- [6] Morel P., Deschaseaux M., Bertrand X., Naegelen C., Thouverez M., Talon D., Dépistage des bactéries dans les concentrés de plaquettes : perspectives, *Transf. Clin. Biol.* 9 (2002) 250-257.
- [7] Morel P., Leconte des Floris M.F., Debeir J., Pelissier E., Hervé P., Intérêt de l'hémovigilance dans l'amélioration de la démarche diagnostique et dans la prévention des incidents transfusionnels liés à la contamination bactérienne des produits sanguins, *Rev. Fr. Lab.* 330 (2001) 35-38.
- [8] Morel P., Naegelen C., Masse M., Lamy C., Leprat R., Talon D., Suivi de la biocontamination de l'environnement des produits sanguins labiles : place dans une démarche d'action qualité, *Transf. Clin. Biol.* 5 (1998) 251-259.
- [9] Perez P., Bruneau C., Chassaigne M., Salmi L.R., Noël L., Audurier A. et al., Multivariate analysis of determinants of bacterial contamination of whole-blood donations, *Vox Sang.* 82 (2002) 55-60.
- [10] Perez P., Salmi L.R., Follea G., Schmit J.L., De Barbeyrac B., Sudre P. et al., Determinants of transfusion associated bacterial contamination : results of the french bacthem case-control study, *Transf.* 41 (2001) 862-872.
- [11] Rebibo D., « I am burning », 27<sup>e</sup> Congress of the International Society of blood Transfusion, Vancouver, British Columbia, August 24-29, 2002.
- [12] Sibliji L., Lafeuillade B., Ros A., Le Petit J.C., Pozzetto B., Reduction of *Yersinia enterocolitica* load in deliberately inoculated blood : the effects of blood prestorage temperature and WBC filtration, *Transf.* 42 (2002) 422-427.
- [13] Van Rhenen D., Gulliksson H., Pamphilon D., Cazenave J.P., Ljungman P., Davis K. et al., S-59 (Helinx) photochemically treated platelets (pit) are safe and effective for support of thrombocytopenia : results of the euroSprite phase 3 trial (abstract), *Blood* 96 (2000) 819.
- [14] Yeaman M.R., The role of platelets in antimicrobial host defense, *Clin. Infect. Dis.* 25 (1997) 951-970.