

Patogénna inaktivácia transfúzných liekov


Kľúč k bezpečnosti transfúznej terapie



Mgr. Lucia Kočišová – NTS SR SC Bratislava

MultibariEROVÝ systém:

 **Národná transfúzna služba SR** využíva pri zabezpečovaní kvality a bezpečnosti krvi a krvných zložiek základný princíp multibariérového systému bezpečnosti transfúzných liekov.

 Ide o systém viacerých na seba nadväzujúcich opatrení, ktoré majú **minimalizovať** riziko prenosu infekčných ochorení, alebo iných nežiadúcich účinkov transfúzie.



- 1 Výber darcu**
Vyradenie rizikových darcov ešte pred odberom krvi
- 2 Laboratórne testy**
Povinné testovanie na prítomnosť infekčných agensov
- 3 Spracovanie/skladovanie**
Dodržiavanie SPPTL pri príprave a skladovaní TL
- 4 Kontrola kvality**
Systém kvality TL
- 5 Patogénna inaktivácia**
Dodatočná technologická bariéra

Význam patogénnej inaktivácie:

Proaktívna stratégia:

- Na rozdiel od povinného skríningového testovania (sérológia, NK), ktoré deteguje konkrétne patogény, PI pôsobí preventívne aj proti **neznámym hrozbám**, ktoré ešte nemusia byť zahrnuté v povinnom testovaní.



PI znižuje riziko nevyšetrených patogénov

Bakteriálna kontaminácia

- Prevencia septických šokov – bakteriálna kontaminácia je jednou z najčastejších príčin vážnych potransfúzných komplikácií a úmrtí.



PI znižuje riziko septických reakcií

**Bezpečnejší
TL**

Diagnosticke okno

- Napriek moderným testom, ktoré skracujú diagnostické okno na dni, stále existuje malé riziko prenosu.



PI toto riziko prakticky eliminuje, čím vytvára ďalšiu úroveň bezpečnosti nad rámec testovania.

Nové patogény

- Skutočnosť, že vírusy, ktoré sú zvyčajne endemické v tropických oblastiach, nedávno spôsobili ohniská nákazy v západných krajinách, dokazuje, že tieto patogény sa môžu objaviť a ohroziť bezpečnosť transfúzie kedykoľvek.



Preventívny účinok PI



INTERCEPT Blood System™



INTERCEPT Blood System je zdravotnícka pomôcka triedy III pozostávajúca z:

- INTERCEPT™ súpravy – obsahujúcej amotosalén
- iluminátora INTERCEPT™ – zdroj UVA žiarenia

určená na ex vivo prípravu a skladovanie:

- plazmy
- trombocytov z aferézy
- trombocytov z celej krvi

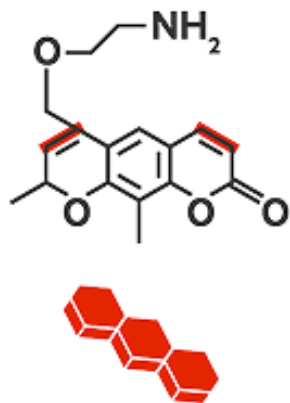


Technológia spracovania:



Amotosalén

Fotoaktívna syntetická zlúčenina psoralénu

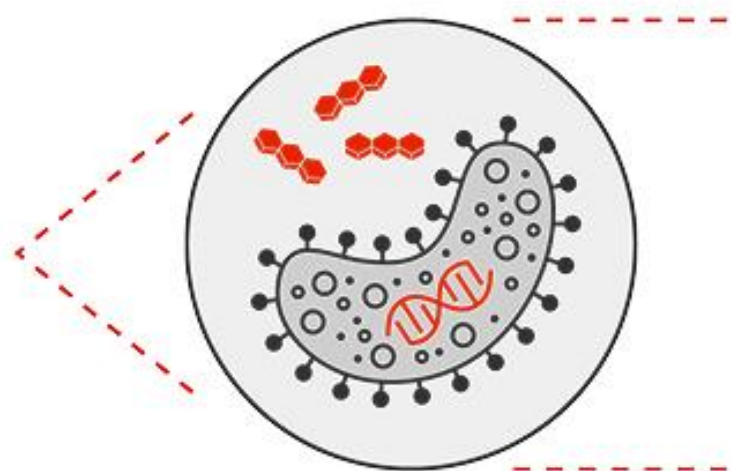


UVA

Ultrafialové žiarenie vo vlnovej dĺžke 320 – 400 nm



Mechanizmus účinku:



1

Interkalácia

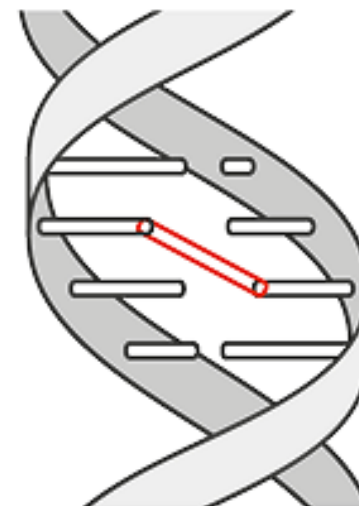
Amotosalén sa reverzibilne interkaluje do helikálnych oblastí DNA a/alebo RNA.



2

Aktivácia UVA žiarením

- ožiarenie UVA svetlom
- aktivácia amotosalénu
- kovalentné väzby

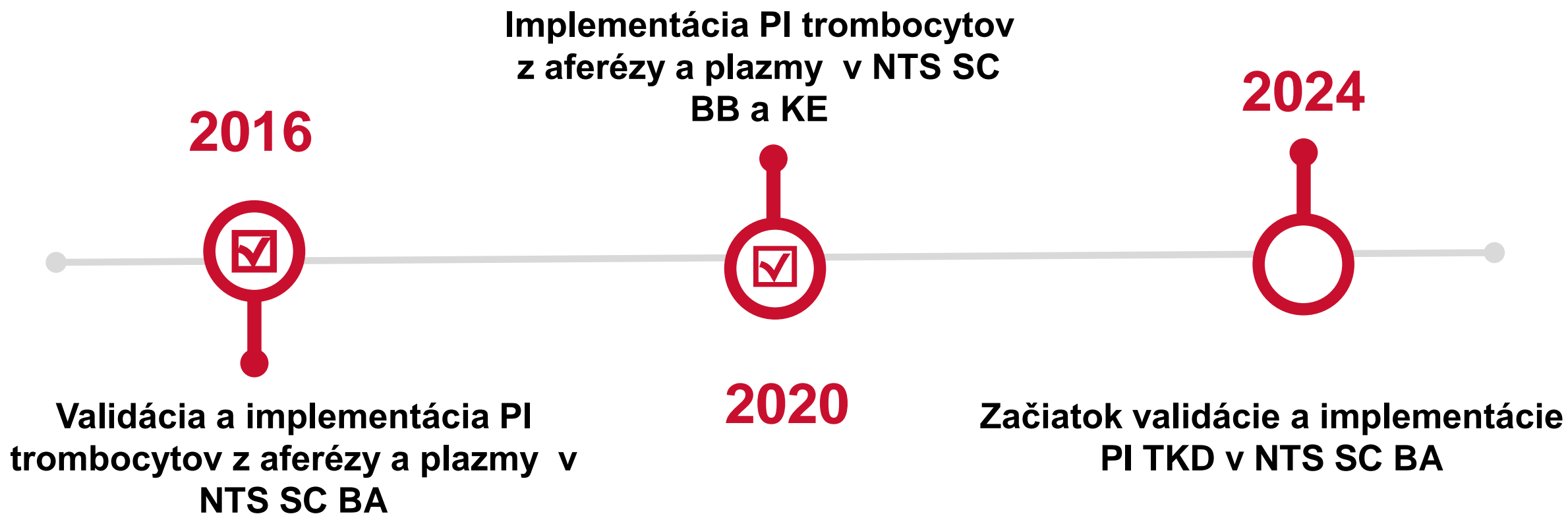


3

Inaktivácia

- aktivovaný amotosalén vytvára cross-link
- DNA/RNA sa nemôže replikovať
- inaktivácia patogénov

Implementácia procesov patogénnej inaktivácie v NTS SR



Patogénna inaktivácia plazmy systémom Intercept:

1

Príprava plazmy

- Plazma čerstvá nezamrozená/ plazma čerstvo zmrazená
- Pool 5 – 7 plaziem rovnakého typu a krvnej skupiny
- Vizuálna kontrola (bez prímеси erytrocytov, iktericity, chylozity)

2

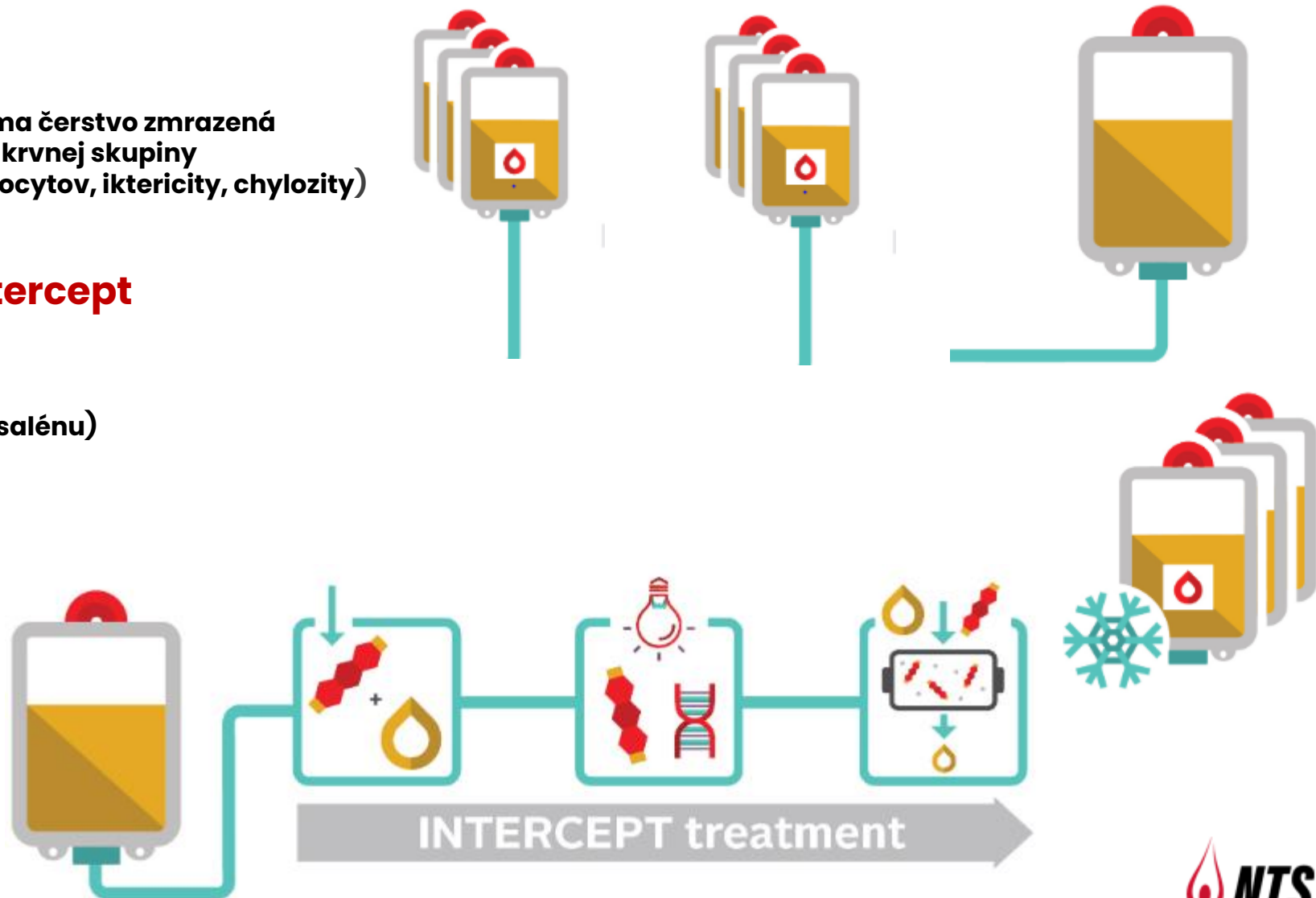
Spracovanie systémom Intercept

- Pridanie amotosalénu k plazme
- Osvetlenie UVA
- CAD – (adsorpcia zvyškového amotosalénu)
- Rozdelenie do skladovacích nádob
- Kontrola kvality
- Zamrazenie

3

Skladovanie/Expedovanie

- -25°C a menej – 36 mesiacov od odberu najstaršej plazmy.

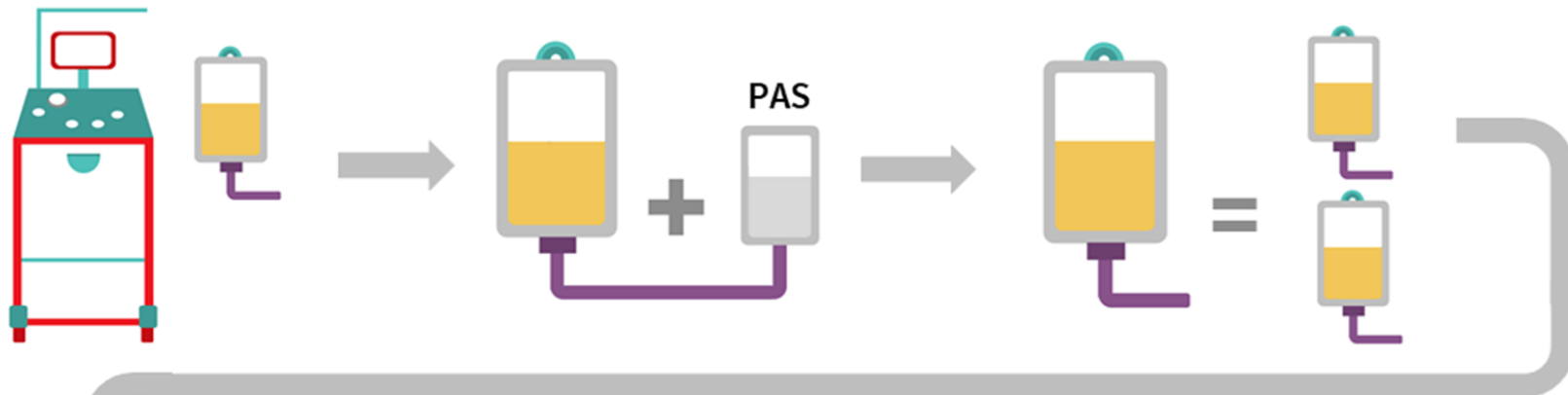


Patogénna inaktivácia TAD systémom Intercept:

1

Príprava trombocytov

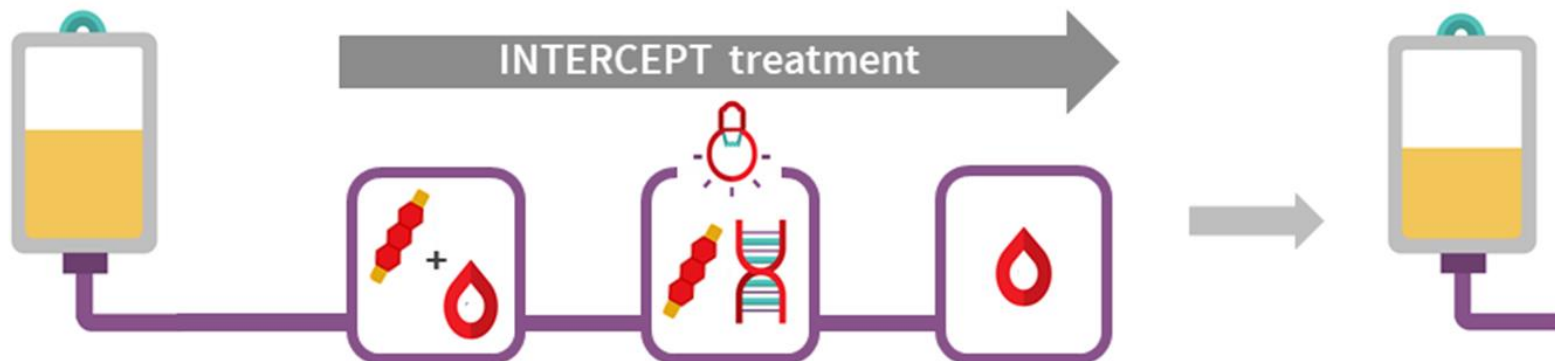
- Separácia trombocytov pomocou aferézy
- Kontrola kvality / vizuálna kontrola



2

Spracovanie systémom Intercept

- Pridanie amotosalénu k trombocytom
- Osvetlenie UVA
- Premiešavanie s CAD (adsorpcia zvyškového amotosalénu)
- Rozdelenie do skladovacích nádob
- Kontrola kvality



3

Skladovanie/Expedovanie

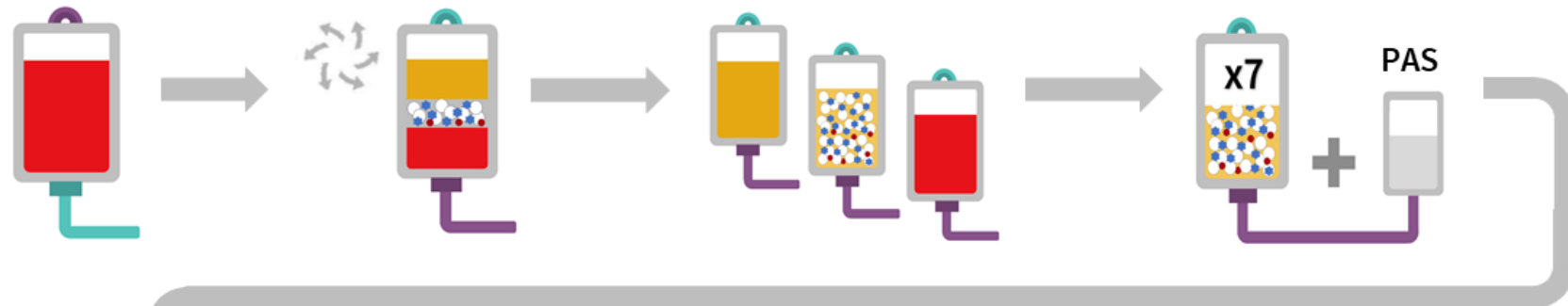
- +20°C až +24°C za neustáleho premiešavania na tromboagitátore
- Exspirácia - 7 dní od odberu

Patogénna inaktivácia TKD systémom Intercept:

1

Spracovanie celej krvi a príprava buffy-coatov

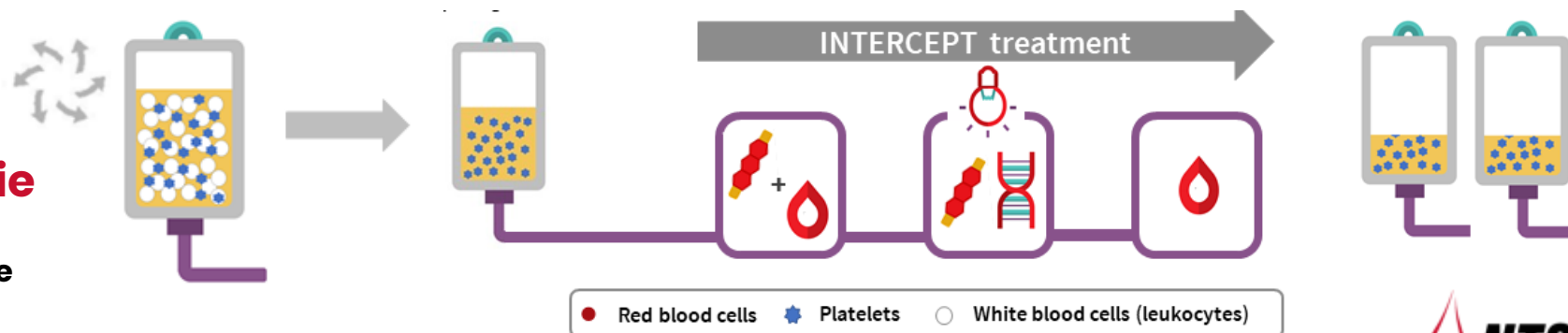
- Centrifugácia odberov celej krvi
- Separácia jednotlivých zložiek krvi
- Pool 7 BC + prídavný roztok
- Centrifugácia koncentráту trombocytov
- Separácia TKD + deleukotizácia



2

Spracovanie systémom Intercept

- Pridanie amotosalénu k trombocytom
- Osvetlenie UVA
- Premiešavanie s CAD (adsorpcia zvyškového amotosalénu)
- Rozdelenie do skladovacích nádob
- Kontrola kvality



3

Skladovanie/Expedovanie

- +20°C až +24°C za neustáleho premiešavania na tromboagitátore
- Exspirácia - 7 dní od odberu

Kontrola kvality

Plazma

| Leukocyty | menej ako 1×10^6 /TU |
|-------------------|--|
| Erytrocyty | menej ako $6,0 \times 10^9$ /l |
| Trombocyty | menej ako 50×10^9 /l |
| F VIII | nie menej ako 50 UI na 100 ml v jednotkovom množstve v priebehu prvého mesiaca po zmrazení |
| Fibrinogén | minimálne 60 % z hodnoty nameranej v čerstvo odobratej plazme |

Trombocyty

| Trombocyty | viac ako 200×10^9 /TU |
|-------------------|---|
| Leukocyty | menej ako 1×10^6 /TU |
| pH | viac ako 6,4 pri 20°C – 24°C na konci času uchovávaní |

Účinok patogénnej inaktivácie:

- Tento systém slúži na inaktiváciu širokého spektra vírusov, parazitov, baktérii ako aj kontaminujúcich darcovských leukocytov.



Vírusy



Parazity



Baktérie



Leukocyty

Ochrana pacientov pred vírusmi

Na zaistenie bezpečnosti transfúzných liekov NTS SR využíva súbor skriningových vyšetrení, ktorý zahŕňa kombináciu:

- **povinného skriningu** – HBV, HCV, HIV, Syphilis,
- **sezónneho skriningu** – WNV, HAV, P B19
- **selektívneho testovania** – Malária, Chagasova choroba

Napriek existencii tohto rozsiahleho a neustále sa rozširujúceho panelu testov v súčasnosti nie je možné testovať prítomnosť všetkých vírusov a to z dôvodu vysokých nákladov.

V neklinických štúdiách **INTERCEPT Blood System** pre trombocyty a plazmu preukázal inaktiváciu nasledujúcich vírusov:



Trombocyty

Obalené vírusy

HIV-1 (bunkovo asociovaný)***
HIV-1 (bez bunkový)
Klinický izolát HIV-1
Klinický izolát HIV-2
Latentný provírusový HIV-1

HBV (kmeň MS-2)

HCV (kmeň Hutchinson)

HTLV-I (vírus ľudskej T-lymfocytovej leukémie)**

HTLV-II (vírus ľudskej T-lymfocytovej leukémie)**

Cytomegalovírus asociovaný s bunkami (CMV)***

Vírus bovinej vírusovej hnačky (BVDV, modelový vírus pre ľudské HCV)

Vírus kačacej hepatitidy B (DHBV, modelový vírus pre ľudský HBV)

PRV (vírus pseudorabies, model pre CMV)

Západonílsky vírus

SARS-CoV (ľudský koronavírus)

Vírus Chikungunya

Vírus chrípky A H5N1 (vtáčia chrípka)

Neobalené vírusy

Vírus katarálnej horúčky oviec, typ 11

Kalicivirus

Ľudský adenovírus-5

Parvo (Parvovírus B19)

Plazma

Obalené vírusy

HIV-1 (bunkovo asociovaný)**

HIV-1 (bez bunkový)

HBV (kmeň MS-2)

HCV (kmeň Hutchinson)

HTLV-I (vírus ľudskej T-lymfocytovej leukémie)**

HTLV-II (vírus ľudskej T-lymfocytovej leukémie)**

WNV (Západonílsky vírus)

SARS-CoV (ľudský koronavírus)

BVDV (Vírus bovinej vírusovej hnačky, modelový vírus pre ľudské HCV)

DHBV (Vírus kačacej hepatitidy B, modelový vírus pre ľudský HBV)

Vírus Chikungunya

Vírus chrípky A H5N1 (vtáčia chrípka)

Neobalené vírusy

BTv (Vírus katarálnej horúčky)

Ľudský adenovírus-5

Parvo (Parvovírus B19)

Ochrana pacientov pred parazitmi

Globálna zmena klímy podporuje šírenie vektorov

- Prípady infekcií začína hlásiť čoraz vyšší počet krajín, ktoré v minulosti nemali skúsenosti s výskytom parazitárnych ochorení prenášaných komármi.
- V neendemických oblastiach predstavujú riziko buď **cestovatelia, alebo imigranti** prichádzajúci z vysoko endemických oblastí.

V neklinických štúdiách **INTERCEPT Blood System** pre trombocyty a plazmu preukázal inaktiváciu nasledujúcich parazitov:



Trombocyty

*Plasmodium falciparum*** (malária)

Trypanosoma cruzi (Chagasova choroba)

Leishmania mexicana (metacyklická promastigotická fáza)

Leishmania major Jish (amastigotická fáza)

Babesia microti (babesióza)

Plazma

*Plasmodium falciparum*** (malária)

Trypanosoma cruzi (chagasova choroba)

Babesia microti (babesióza)

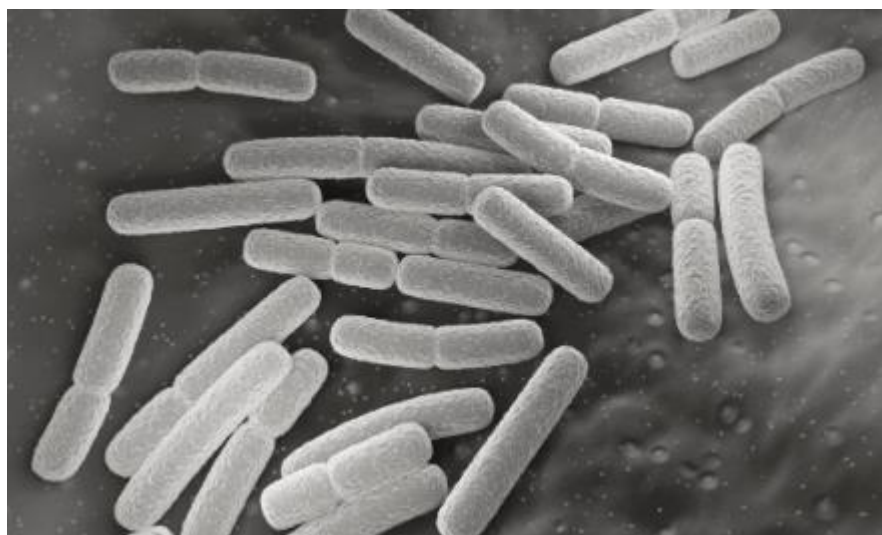
Ochrana pacientov pred baktériami

NTS SR zabezpečuje odber a následné spracovanie odberov krvi a zložiek krvi v súlade s prísnyimi **aseptickými** protokolmi. Napriek týmto opatreniam zostáva bakteriálna kontaminácia kritickým problémom, najmä pri trombocytoch koncentrátoch, kde sú podmienky skladovania ideálne pre rýchly mikrobiálny rast.

Medzi možné, hoci zriedkavé zdroje kontaminácie patria:

- Darca s asymptomatickou bakteriémiou (subklinická prítomnosť baktérií v obeh).
- Nedostatočná asepsia pokožky pred venepunkciou.
- Narušenie sterility počas výrobného procesu alebo pri manipulácii s TL.

V neklinických štúdiách **INTERCEPT Blood System** pre trombocyty a plazmu preukázal inaktiváciu nasledujúcich baktérii:



Trombocyty

Gram-pozitívne baktérie

Staphylococcus epidermis
Staphylococcus aureus
Streptococcus pyogenes
Listeria monocytogenes
Corynebacterium minutissimum
Bacillus cereus (vrátane spór)
Bacillus cereus (vegetatívny)
Bifidobacterium adolescentis
Propionibacterium acnes
rod Lactobacillus
Clostridium perfringens (vegetatívna forma)

Gram-negatívne baktérie

Escherichia coli
Serratia marcescens
Klebsiella pneumoniae
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella choleraesuis
Yersinia enterocolitica
Enterobacter cloacae
Anaplasma phagocytophilum (agent HGE)**
Spirochēty
Treponema pallidum (syfilis)
Borrelia burgdorferi (lymská borelióza)

Plazma

Gram-negatívne baktérie

Klebsiella pneumoniae
Yersinia enterocolitica
Anaplasma phagocytophilum (agent HGE)

Gram-pozitívne baktérie

Staphylococcus epidermidis

Spirochēty







Treponema pallidum (syfilis)**
Borrelia burgdorferi (lymská borelióza)

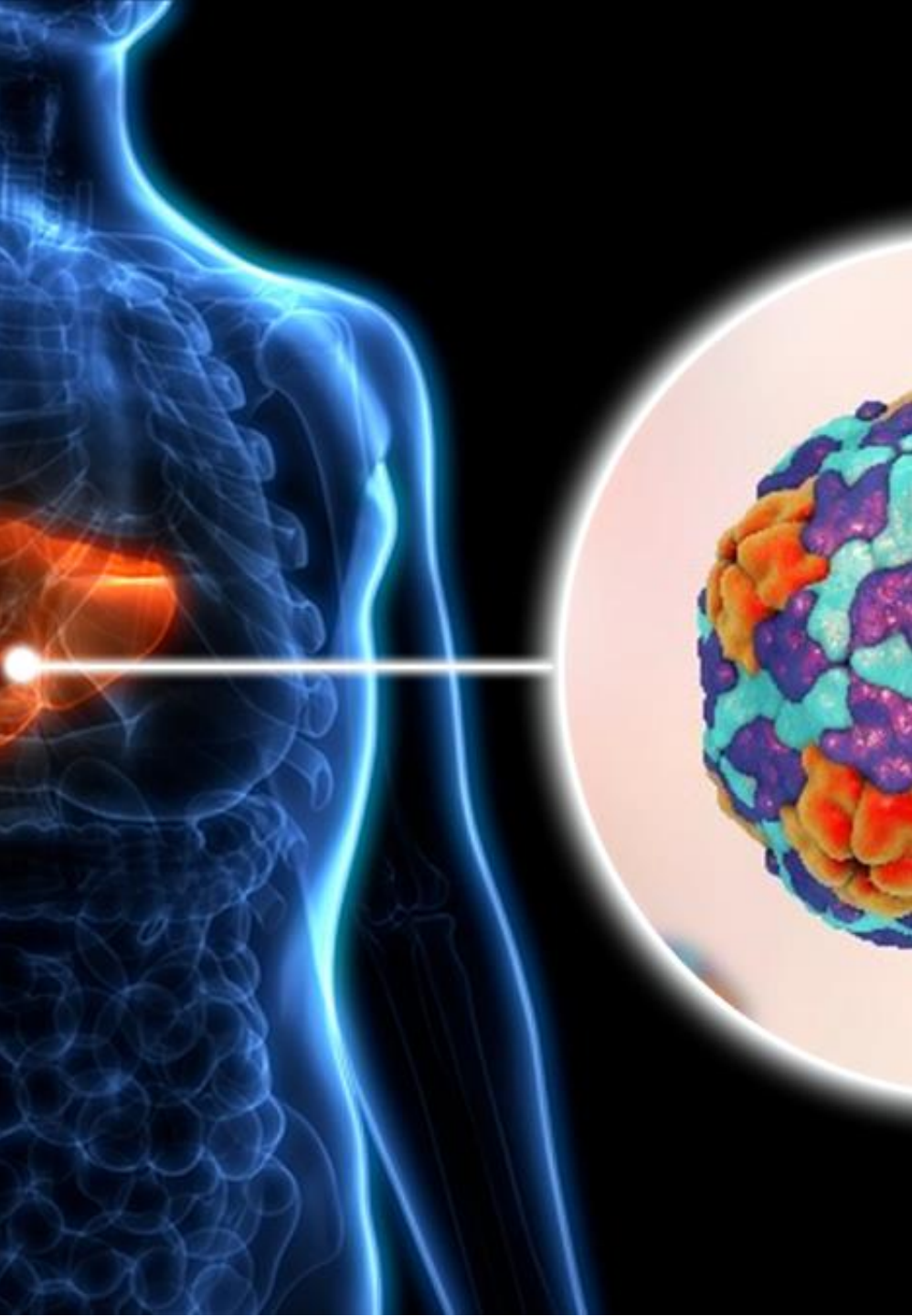
Ochrana pacientov pred neinfekčnými rizikami

Zníženie rizika nežiaducich účinkov u pacientov po transfúzii

Reziduálne leukocyty, molekuly viazané na leukocyty, zápalové molekuly (chemokíny a cytokíny), IgA, ako aj anti-HLA a HNA protilátky v darovanej krvi a krvných produktoch môžu zvyšovať riziko **nežiaducich potransfúzných reakcií**.



-  **TA-GvHD** – Transfúziou vyvolaná choroba štep proti hostiteľovi
-  **FNHTR** – Febrilné nehemolytické transfúzne reakcie
-  **TRALI** – Akútne poškodenie pľúc súvisiace s transfúziou
-  **ARDS** – Pľúcne poškodenie, vrátane syndrómu akútnej respiračnej tiesne
-  **ATH** – Alergické/anafylaktické transfúzne reakcie
-  **HTR** – Hemolytické transfúzne reakcie



Limity patogénnej inaktivácie

Patogénna inaktivácia predstavuje významný krok k zvyšovaniu bezpečnosti transfúzných liekov – **napriek tomu nezabezpečuje úplnú elimináciu všetkých patogénov.**

Účinnosť môže byť ovplyvnená:

- Typ mikroorganizmu – najmä neobalené vírusy s **vysokostabilnou proteínovou kapsidou**, ktorá predstavuje efektívnu fyzikálnu bariéru pre fotochemické činidlo.
- Vírusová nálož
- Biologické vlastnosti
- Technologické limity metódy

Patogény vykazujúce odolnosť voči INTERCEPT™

- Hepatitída A
- Hepatitída E
- Parvovírus B19
- Poliovírus
- *Bacillus cereus*

Kontraindikácie:

Použitie transfúzných liekov spracovaných systémom INTERCEPT je kontraindikované u novorodencoch liečených pomocou fototerapeutických zariadení vyžarujúcich špičkovú energiu s vlnovou dĺžkou menšou ako **425 nm a/alebo majú dolnú hranicu šírky emisného pásma < 375 nm**, pretože hrozí vznik erytému v dôsledku potencionalnej reakcie medzi ultrafialovým svetlom a zvyškovým amotosalénom.



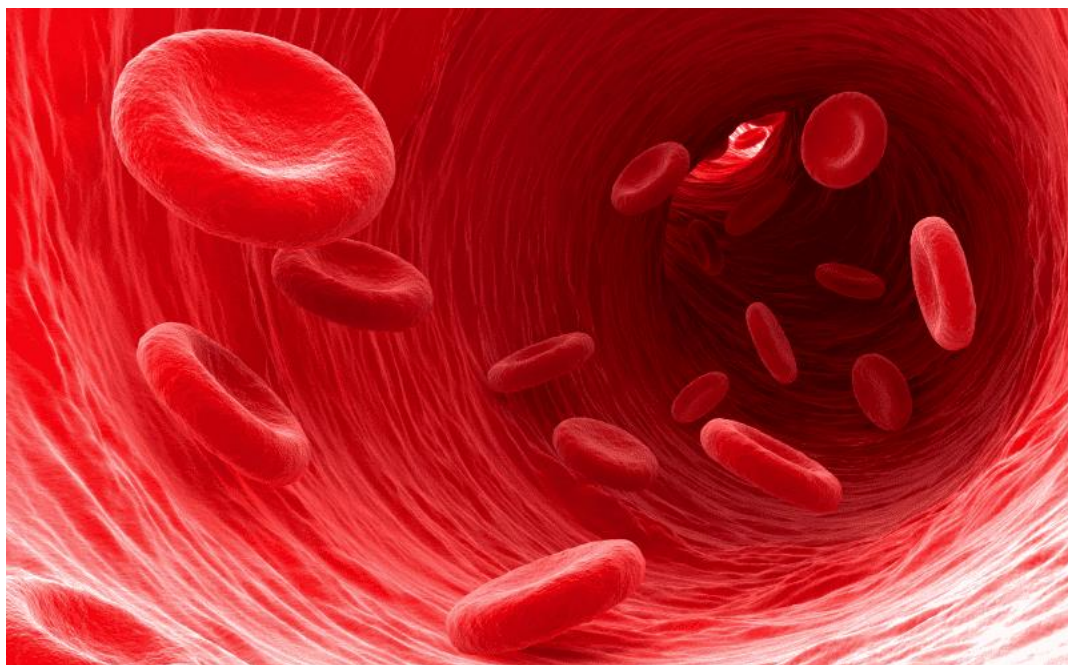
Použitie transfúzných liekov spracovaných systémom INTERCEPT je kontraindikované u pacientov s anamnézou alergickej reakcie na amotosalén alebo psoralény.





Čo nás čaká v budúcnosti?

 Zatiaľ čo technológia patogénnej inaktívácie plazmy a trombocytových koncentrátov predstavuje **v súčasnej hemoterapii štandard**, implementácia PI pri erytrocytových prípravkoch zostáva technologickou výzvou z dôvodu špecifických optických vlastností hemoglobínu.

Na tento účel bol vyvinutý špeciálny systém **INTERCEPT Red Blood Cells**, ktorý inaktivuje patogény chemickou reakciou bez potreby svetla – Technológia **S-303**



 V marci 2024 boli oznámené úspešné výsledky III. fázy klinických skúšok (štúdia ReCePI), ktoré potvrdili, že inaktivované erytrocyty sú rovnako bezpečné a účinné ako tie bežné.

 Systém **INTERCEPT Red Blood Cells** (technológia S-303) sa aktuálne nachádza v pokročilom štádiu **registračného procesu pre udelenie značky CE**, čo je nevyhnutným predpokladom pre jeho komerčnú implementáciu na trhu Európskej únie.

Ďakujem