

Aggiornamenti in medicina trasfusionale: dalla produzione alla terapia con emocomponenti

**L'inattivazione dei patogeni tra emergenze
epidemiologiche ed opportunità di
miglioramento della sicurezza trasfusionale**

Paola Maria Manzini

*Direttore SCI Immunoematologia e Medicina trasfusionale
AO S. Croce e Carle Cuneo*

La sottoscritta, in qualità di Relatrice dichiara che

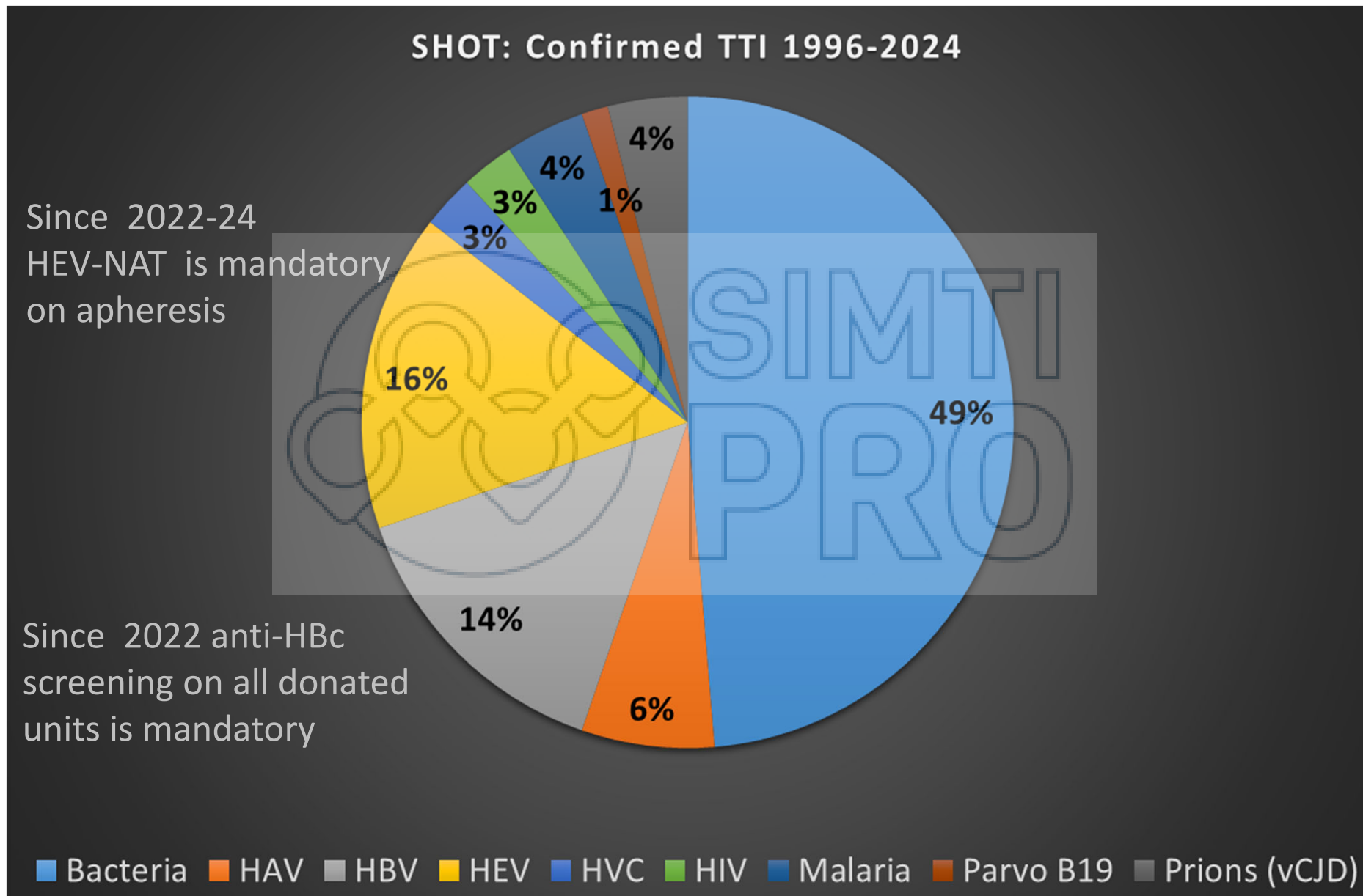
nell'esercizio della Sua funzione e per l'evento in oggetto, NON È in alcun modo portatrice di interessi commerciali propri o di terzi; e che gli eventuali rapporti avuti negli ultimi due anni con soggetti portatori di interessi commerciali non sono tali da permettere a tali soggetti di influenzare le mie funzioni al fine di trarne vantaggio.



Obiettivo: riduzione del rischio di TTI

Strategia	Metodologia	Problematiche
<ul style="list-style-type: none">Anamnesi sintomatologia e fattori di rischio	<ul style="list-style-type: none">Rapporto diretto col donatore	<ul style="list-style-type: none">Soggetto asintomatico o nega fattori di rischio
<ul style="list-style-type: none">Strategie di raccolta	<ul style="list-style-type: none">Disinfezione cuteSacca di diversioneSistemi chiusi	<ul style="list-style-type: none">Efficacia della disinfezioneApertura dei sistemi
<ul style="list-style-type: none">Screening	<ul style="list-style-type: none">Conoscere patogenoSviluppare test	<ul style="list-style-type: none">Sensibilità/Specificità testFasi finestraInfezioni occulte
<ul style="list-style-type: none">Lavorazioni	<ul style="list-style-type: none">Metodiche inattivazione	<ul style="list-style-type: none">Riduzione della carica infettanteDanno componentiDanno cellulareTempiCosti

Obiettivo: riduzione del rischio di TTI



Metodiche di inattivazione

Caratteristiche teoriche:

- Virtuale sterilizzazione
- devono essere in grado di danneggiare patogeno senza danneggiare i componenti della sostanza da inattivare o le cellule
nè accorciarne l'emivita
- Devono inattivare con un solo trattamento il maggior numero di patogeni possibili
- Il prodotto trattato non deve contenere alla fine del trattamento sostanze potenzialmente dannose per il pz che riceve la trasfusione
- Deve essere applicabile in termini di tempistiche di trattamento
- Deve essere applicabile in termini di costi (aggiungere un vantaggio tale o prevenire un danno così severo da superare il costo di effettuazione)

Metodiche di inattivazione che danneggiano lipidi

Trattamento solvente/detergente

Utilizzano le proprietà di solventi organici (tri-n-butil-fosfato) e detergenti non ionici (triton X-100)

- Efficace contro patogeni che possiedono membrane lipidiche es.: lipid-enveloped viruses (HIV, HBV, HCV, HTLV, EBV, CMV)
- Inefficaci su virus non capsulati es.: HAV, HEV, Parvovirus B19
- Inefficace su prioni

Non danneggia quasi nessuna struttura o funzione delle proteine plasmatiche se si esclude Proteina S coagulativa, alfa-1antiplasmina e alfa-1 antitripsina (con uso di grandi dosaggi sul paziente → calo del dosaggio di proteina S a livelli potenzialmente trombofilici)

Metodiche di inattivazione che danneggiano lipidi

Trattamento solvente/detergente

Utilizzato nella produzione di plasma GRADE dall'industria di plasma-derivazione

Provette allegate al plasma conferito vengono testate per HAV e Parvovirus B19

Plasma conferito negativo per HAV e Parvo B19 entra a formare grandi pool poi sottoposti a trattamento S/D

Nella produzione di altri emoderivati intervengono inoltre una serie di altri trattamenti (pastorizzazione a 60°C per 10h, separazione per cromatografia, nanofiltrazione) che contribuiscono all'inattivazione.

Metodiche di inattivazione che danneggiano acidi nucleici Amotosalene + UVA, Riboflavina + UV, Blu di Metilene + luce visibile, Luce UV

Utilizzano sostanze che si intercalano al DNA o all'RNA e prevengono replicazione di un grande spettro di microorganismi (virus, batteri, parassiti).

Sono stati considerati molto promettenti perché praticamente tutti i patogeni hanno acidi nucleici (esclusi prioni) essenziali per i loro cicli vitali mentre sia globuli rossi che piastrine non possiedono nucleo.

Alcuni virus non capsulati sono risultati relativamente resistenti a questi metodi → verosimile difficoltà di queste sostanze a penetrare efficacemente nel nucleo-capside

Metodiche di inattivazione che danneggiano acidi nucleici

Amotosalene + UVA

Praticamente nessun impatto su fattori della coagulazione né sulle proteine plasmatiche

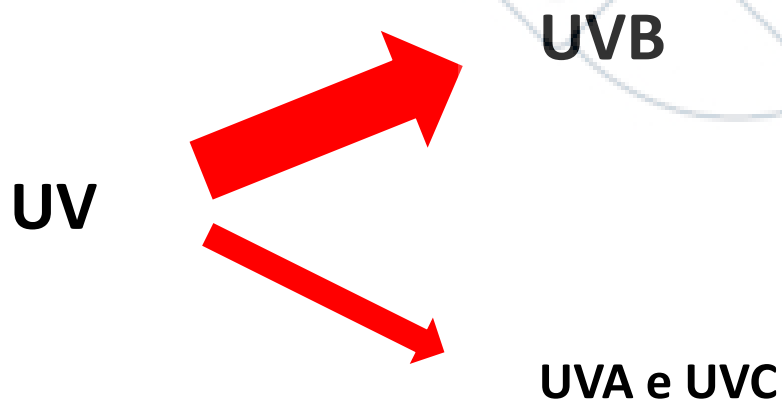
Amotosalene residuo → rimosso dal prodotto trattato alla fine del trattamento per prevenire eventuali effetti collaterali e tossicità

Utilizzato su plasma, concentrati piastrinici, crioprecipitato

Metodiche di inattivazione che danneggiano acidi nucleici

Riboflavina + UV

Luce UV rompe ponti tra acidi nucleici → vitamina B2 si lega agli acidi nucleici → attivazione della B2 da parte UV ossida Guanina → previene replica di DNA e RNA.



Metodiche di inattivazione che danneggiano acidi nucleici

Riboflavina + UV

Praticamente nessun impatto su fattori della coagulazione né sulle proteine plasmatiche

Vitamina B2 è una vitamina idrosolubile con ottimo profilo di sicurezza → non necessita di essere rimossa

Utilizzato su plasma, concentrati piastrinici, crioprecipitato, (sangue intero).

Metodiche di inattivazione che danneggiano acidi nucleici

Blu di Metilene + luce visibile

Riduzione di alcuni fattori della coagulazione (Fattore VIII, fattore V, fibrinogeno)

Danneggia acidi nucleici di lipid-enveloped viruses (HIV, HBV, HCV, HTLV, EBV e CMV, Chikungunya, Dengue). Il Blue di metilene lavora solo su prodotti preventivamente leucodepleti (non penetra le membrane cellulari per inattivare i virus intracellulari).

Blue di Metilene residuo → rimosso dal prodotto trattato alla fine del trattamento per prevenire discolorazioni cute e mucose

Utilizzato su plasma, concentrati piastrinici, crioprecipitato

Metodiche di inattivazione che danneggiano acidi nucleici

Luce UV (da sola)

Danneggia acidi nucleici senza utilizzo di crosslink chimici.

Utilizzato su concentrati piastrinici



Potenziali benefici delle metodiche di inattivazione

Potenziale di aumentare sicurezza degli emocomponenti ed emoderivati riducendo o eliminando microorganismi che residuano nonostante prevenzione e screening

Particolarmente interessanti per patogeni con le seguenti caratteristiche:

- Infezioni asintomatiche
- Infezioni con fasi finestra molto lunghe
- Infezioni emergenti (Dengue, Chikungunya) o patogeni non ancora tipizzati per i quali non sia disponibile lo screening

Altri potenziali benefici (1)

- Riduzione del rischio di trasmissione della malaria e altri parassiti (trial Ghana 2016) → 226 adulti trasfusi con sangue intero trattato o no con riboflavina + UV → percentuale di trasmissione con la trasfusione ridotta dal 22% al 4%
- Studi in vitro hanno dimostrato che questi trattamenti sono efficaci (riduzione da 3,3 a 7 log) anche Trypanosoma cruzi, Babesia e Leishmania.
- Maggior parte dei virus (incluso SARs-Cov-2)
- Batteri (riduzione da 4 a 5 Log) → Linee guida FDA → dal 2019 utilizzare strategie per riduzione del rischio legato a contaminazione batterica delle plts (inclusa inattivazione). Alcuni paesi come Francia inattivazione plts obbligatoria dal 2017

Altri potenziali benefici (2)

- Prevenzione della GVHD (analogo a irradiazione)
- Possibile riduzione del danno polmonare (TRALI e TAD) → trial pz sottoposti chemioterapia citotossica avevano percentuali di eventi polmonari ridotta con plts inattivate rispetto a standard (1,7 vs 3,1%)
- Possibilità di allungare la scadenza dei concentrati piastrinici a 7 giorni
- Efficace contro CMV (sostituzione dello screening)

Potenziali limitazioni (1)

- Inattivazione incompleta (solo riduzione logaritmica ma non sterilità) → 2016 in Spagna, case report trasmissione HIV da donazione anti-HIV neg e NAT neg per HIV su minipool → buffy-coat non trattato e plasma trattato con Blue di metilene hanno trasmesso infezione a due riceventi.
- Metodi SD hanno permesso trasmissione di ParvoB19, HAV e HEV.
- Anche inattivazione batterica può non essere completa → FDA segnalato 3 casi tra il 2019 e il 2021, di sepsi da concentrati plts inattivati

Potenziali limitazioni (2)

- Impossibilità di inattivare i prioni
- Potenzialità di danneggiare proteine plasmatiche o componenti cellulari (fattori coagulazione e riduzione CCl e necessità di aumentare frequenza delle trasfusioni)
- Potenziali tossicità o stimolo alla formazione di neoantigeni
- Costi

Epidemia di Chikungunya Isole La Reunion 2005-2006

- Per Chikungunya non erano disponibili test di screening
- RBC e plasma → importati dalla Francia continentale
- Per la prima volta usate su larga scala metodiche di inattivazione su piastrine (scadenze non compatibili con importazione) donate da donatori asintomatici senza contatti potenzialmente a rischio
- Casi di trasmissione trasfusionale dell'infezione solo prima dell'introduzione delle strategie di mitigazione

Epidemia di Chikungunya Isole La Reunion 2025

- In Francia e nei suoi territori oltre confine dal 2022 inattivazione dei patogeni sui concentrati piastrinici è obbligatoria
- Aggiunta test NAT per Chikungunya
- Introduzione della vaccinazione di massa (vaccino disponibile al momento del picco epidemico (aprile 2025) → utilità riduzione della circolazione virus nella popolazione
- Sorveglianza sulle aree più a rischio → sospensione donatori
- Sospensione dei donatori x sintomi o per contatto con un caso
- Non necessaria importazione

E su emocomponenti cellulari??

In varie fasi di studio e sviluppo ci sono metodiche di inattivazione che sono in valutazione per trattamento del Sangue Intero o dei globuli rossi concentrati (GRC).

- Amustalina S-303 è trattamento con maggiori evidenze cliniche → usato per inattivare GRC
- Riboflavina + UV minor evidenza clinica → usato per inattivare sangue intero successivamente separato in GRC e Buffy-coat (utilizzabile per concentrati plts da pool).
- UV-C non ha ancora dati in vivo

Studi di farmacocinetica: recupero a 24h e sopravvivenza in circolo

Studi effettuati su volontari con globuli rossi o piastrine marcate.

Recupero a 24: % di cellule trasfuse ancora in circolo a 24h dalla trasfusione

Criteri FDA:

per GRC >75%



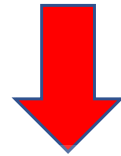
per plts > 66%

Sopravvivenza in circolo: numero di giorni in cui le cellule trasfuse rimangono in circolo.

deve essere 58% delle cellule fresche

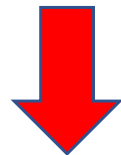
Studi di farmacocinetica: recupero a 24h e sopravvivenza in circolo

Sia S-303 che Riboflavina



GRC hanno ridotto recupero, ridotta sopravvivenza
Ma entro criteri accettabilità FDA

Riboflavina



Plts hanno recupero e sopravvivenza conformi al prodotto non trattato ma non ci sono studi su plts e sangue intero utilizzati in prossimità della scadenza

Trial clinici su pazienti

GRC trattati con S-303



cardiochirurgici, talassemici e falcemici, oncologici pediatrici



Non sono state osservate differenze rilevanti sui differenti endpoint
(IMA, IRA, mortalità)

In alcuni studi un lieve aumento del numero di unità trasfuse e un
ridotto intervallo trasfusionale per pz cronici

Comparsa di anticorpi anti-S-303 ha portato a variazioni procedurali

Trial clinici su pazienti

GRC ottenuti da sangue intero trattato con Riboflavina



1 solo studio che ha dimostrato una buona efficacia ma erano stati misurati pochi parametri

Non sono stati effettuati trial clinici per metodo UV-C

E su emocomponenti cellulari??

Nessuna delle attuali tecnologie è in uno stadio per permettere un'applicazione su larga scala.

Take home messages

Metodiche di inattivazione dei patogeni con maggiore o minore frequenza sono ormai utilizzate in routine su plasma e piastrine avendo dimostrato importanti vantaggi quali:

- Riduzione significativa della sepsi trasmessa dalla trasfusione piastrinica
- Riduzione trasmissione nuovi patogeni per cui non sia disponibile screening
 - Riduzione trasmissione virale

Metodiche su sangue intero e su GRC sono promettenti avendo dimostrato poca e non significativa riduzione di efficacia ma necessitano ancora di ulteriori studi sull'uomo