

TERUMOBCCT
Unlocking the Potential of Blood

MIRASOL СИСТЕМА ИНАКТИВАЦИИ ПАТОГЕНОВ

БЕЛАЯ КНИГА

Инактивация патогенов в лабильных продуктах донорской крови:
Обзор рекомендаций и действие системы Mirasol против вирусных возбудителей

I. ПРЕДИСЛОВИЕ

Технологии инактивации/редукции патогенов (PRT) разрабатываются в целях снижения риска передачи инфекции через компоненты крови. В данном документе обобщена научная и нормативно-правовая информация, связанная с технологиями редукции/инактивации патогенов (PRT), позволяющими снизить риск передачи вирусных инфекций через компоненты крови при переливании. Технологии инактивации/редукции патогенов (PRT) также эффективны против паразитов и бактерий, которые могут попадать в кровь и снижать безопасность трансфузии.

В 2007 году участники Канадской конференции по достижению соглашения по вопросам инактивации патогенов (ИП) пришли к выводу, что упреждающий подход в соответствии с принципом предосторожности приведет к сокращению теоретического риска и позволит поддержать доверие общественности к поставщикам продуктов крови. Участники конференции рекомендовали разработать универсальные методы ИП. Однако если универсальных методов ИП для всех компонентов не существует, было рекомендовано разработать универсальные методы для определенных компонентов.¹

В 2008 году Консультативный комитет США по безопасности и доступности крови (ACBSA) заявил, что накопленные доказательства об эффективности и безопасности технологий инактивации патогенов (PRT) позволяют скоординировать и направить усилия на внедрение технологий инактивации патогенов в области переливания крови. Эта упреждающая стратегия предотвратит заражение компонентов крови и будет препятствовать возникновению значительных рисков при переливании новых средств.²

В 2009 году в результате дебатов в Европейском парламенте по теме «Влияние климатических изменений на здоровье человека» было принято решение о том, что необходимо принимать профилактические меры для снижения риска распространения патогенов с донорской кровью и компонентами крови.³ В результате этих дебатов были предоставлены свидетельства того, что возникающие новые и мутирующие известные вирусы продолжают создавать угрозу при переливании крови. Этот фактор ставит новые задачи, помимо существующих общепринятых аспектов безопасности переливания крови: во-первых, выбор подходящих доноров и, во-вторых, скрининг донаций на известные инфекционные агенты.

В 2010 году Европейский комитет по переливанию крови при Совете Европы организовал симпозиум по вопросам внедрения технологий инактивации патогенов. Этот симпозиум проходил в Европейском директорате по качеству лекарственных средств и здравоохранения (EDQM) в Страсбурге. После этого симпозиума в список практических рекомендаций были включены вопросы разработки общего инструмента внедрения инактивации патогенов, относительной оценки преимуществ и рисков технологии редукции патогенов (PRT) в различных условиях (которые затем при необходимости должны быть внедрены), а также вопросы разработки мероприятий гемонадзора и стандартов оценки препаратов, прошедших инактивацию патогенов и поступивших на рынок.⁴

Редукция патогенов в компонентах крови, как представляется, будет следующим шагом на пути повышения уровня безопасности крови и поддержания доверия к учреждениям, проводящим работу с донорской кровью, а также к органам здравоохранения. Однако наблюдается отсутствие последовательности в определении критериев принятия решений в отношении реализации технологии инактивации патогенов (PRT), используемых регламентирующими органами и организациями, работающими с донорской кровью. Этот непоследовательный подход к реализации может препятствовать или ненадлежащим образом задержать развертывание технологий инактивации. Аналогичная ситуация наблюдалась 30 лет назад, когда произошла одна из самых крупных катастроф в области здравоохранения в истории: загрязненные пулы плазмы, используемые для производства факторов свертывания крови, стали причиной широкого распространения вируса ВИЧ-1 среди популяции пациентов, лечение которых зависело от поступления факторов свертывания крови.⁵

Ниже приводятся самые последние рекомендации, разработанные международными агентствами для применения технологии инактивации патогенов (PRT) в целях повышения безопасности лабильных компонентов крови, и обсуждение этих рекомендаций.

II. ДЕЙСТВУЮЩИЕ РУКОВОДЯЩИЕ ПРИНЦИПЫ ТЕХНОЛОГИИ РЕДУКЦИИ ПАТОГЕНОВ (PRT)

a. Руководство по подготовке, использованию и обеспечению качества компонентов крови, издание 16-е, 2011 г. Составлено Директоратом Совета Европы по качеству лекарственных средств для здравоохранения⁶

Это Руководство устанавливает рекомендуемые процедуры стандартизации качества европейских продуктов крови. Ссылки на технологии инактивации/редукции патогенов (PRT) даны в Главе 5, Часть С этого Руководства (Тромбоцитные компоненты): «Срок хранения может быть продлен до семи дней, при условии принятия мер по выявлению или ликвидации бактериального заражения». Эта рекомендация действует в течение последних 10 лет.

Другое упоминание PRT внесено в первый раз в Главу 5, Часть D этого Руководства (Компоненты плазмы): «Процедура инактивации патогенов, в среднем, снижает риск инфицирования вирусами с оболочкой (например, гепатитом В, гепатитом С и ВИЧ) по крайней мере в тысячу раз». По этой ссылке видно, что концентрация вирусов таким образом может быть снижена до 3 logs/мл или на 99,9 %.

b. Руководящие указания по инактивации вирусов и процедуре их редукции для обеспечения вирусной безопасности продуктов плазмы человеческой крови.—Технический отчет Всемирной организации здравоохранения, Серия 924, 2004 г., Приложение 4⁷

Валидация процедур инактивации и ликвидации вирусов, Технический отчет ВОЗ, стр. 163: «Реализация надежного и эффективного процесса может снизить концентрацию или инактивировать значительное количество вируса, обычно до 4 logs и более...»

Эти руководящие указания направлены на поддержку и консультирование государств-участников в целях обеспечения качества и безопасности медицинских продуктов на основе плазмы. Эти руководящие указания не заменяют собой требования различных отдельных регламентирующих органов, а предназначены для оказания помощи национальным регламентирующим органам и производителям, которые менее знакомы с процедурами инактивации вирусов. Эти руководящие указания были разработаны в дополнение к Требованиям ВОЗ по сбору, обработке и контролю качества крови, компонентов крови и производных плазмы.

Эти указания ВОЗ относятся к производству продуктов плазмы человеческой крови и вирус-инактивированной плазмы для переливания, которые были получены из пулов плазмы или от индивидуальных доноров. Однако данный документ рассматривает только проблему инактивации/удаления вирусов из пулов плазмы (ориентировочный размер пула плазмы, приведенный в Руководящих указаниях ВОЗ, составляет 10000 единиц, но не рассматривает отдельные единицы продуктов из крови, такие как свежемороженая плазма (СЗП), концентраты тромбоцитов и эритроцитов, полученные от отдельных донаций. В Главе 3 Раздела 3.1 Технического отчета ВОЗ, озаглавленного «Вирусы, вирусная нагрузка и методы скрининга», говорится, что содержание вирусов гепатита В, гепатита С и ВИЧ в пуле плазмы может достигать 10000 геном-эквивалент/мл (стр. 159).

Значения показателей инактивации, указанные в Техническом отчете ВОЗ, часто относятся к применению нескольких процедур удаления/инактивации и (или) скрининга, плюс процедуры инактивации, предназначенных для получения окончательного безопасного продукта (стр. 164). Многоступенчатые производственные процессы удаления/инактивации могут быть использованы только при промышленном фракционировании плазмы, когда количество исходного материала составляет, по крайней мере, 1000 единиц пулов плазмы. Для индивидуальной обработки лабильных клеточных компонентов стратегией выбора может стать скрининг в сочетании с технологией инактивации патогенов.

III. РИСК ВИРУСНОГО ЗАРАЖЕНИЯ ЧЕРЕЗ ПЕРЕЛИВАНИЕ КРОВИ И ДЕЙСТВИЕ СИСТЕМЫ MIRASOL ПРОТИВ ВИРУСНЫХ АГЕНТОВ

Документальные отчеты о случаях передачи ВГВ, ВГС и ВИЧ путем переливания крови показали, что вирусная нагрузка на компонент крови от одного донора не превышает 4 logs.⁸ Предварительный скрининг донорской крови посредством

проведения чувствительных иммунологических тестов или тестов с использованием нуклеиновой кислоты (NAT) позволил выявить и забраковать донорскую кровь с более высокой вирусной нагрузкой. Важно отметить, что тесты NAT не всегда способны отличить инфекционные вирусные геномы от abortивных геномов. Исходя из данных, полученных при исследовании культур клеток и животных моделей, было установлено, что для обеспечения 100%-ой инфекционности требуется, по крайней мере 100 г-экв вируса гепатита В или гепатита С, и 10000 г-экв вируса иммунодефицита человека.⁹ Корреляция между инфекционностью вируса и его количеством (в геном-эквиваленте) может варьироваться в зависимости от вида вируса, а также для различных штаммов одного и того же вируса.

В системе Mirasol для инактивации патогенов и остаточных лейкоцитов в продуктах крови, используемых для переливания, используется рибофлавин (витамин В2) и ультрафиолетовое (УФ) излучение. В Таблице 1 представлены данные, относящиеся к степени инактивации патогенов гепатита В, гепатита С, ВИЧ и ЦМВ, а также некоторых типов бактерий, при работе этой системы.¹⁰ В соответствии с указаниями Европейского директората по качеству лекарственных средств для здравоохранения и с данными Технического отчета ВОЗ,^{6,7} эти вирусы рассматриваются как патогены, наиболее часто передаваемые посредством переливания крови. В соответствии с указаниями Комитета по патентованным лекарственным препаратам (CPMP), в настоящее время не существует какой-либо практической системы анализов для выявления наличия вируса гепатита В.¹¹ Эффективность системы Mirasol при инактивации большинства вирусов (кроме вируса гепатита В и цитомегаловируса) определялась показателем полуинфицирующей дозы культуры ткани (цитопатической дозой ТЦД50 (TCID₅₀)).

Для человеческого вируса гепатита В с целью оценки влияния технологии инактивации патогенов на полный геном репликационно-компетентного вируса гепатита В был разработан тест с полимеразной цепной реакцией (ПЦР). Основываясь на пределе обнаружения и верхнем пределе геномной фрагментации, снижение концентрации (г-экв/мл) может быть установлено в пределах $\geq 1,5$ и $\leq 4,0$ logs. В настоящее время ведутся исследования для дальнейшего определения точных уровней инактивации вируса гепатита В. Для цитомегаловируса работа этой системы оценивалась с использованием модели переливания *in vivo* на лабораторных мышах. При использовании этой модели переливания (на лабораторных мышах) не было обнаружено передачи ЦМВ, после того как заранее введенный вирус, связанный и не связанный с клетками, был обработан системой Mirasol.

Система Mirasol также весьма эффективна против грамположительных и грамотрицательных бактерий, выявленных программами гемонадзора в качестве часто встречающихся загрязняющих патогенов.¹² Обработка приводит к более чем 4-log уменьшению уровней концентрации бактерий, а при исследовании действия системы Mirasol на бактерии с низким значением титра было показано, что она более эффективно инактивирует бактерии, чем воспроизводит методы обнаружения бактериальной культуры (BacT/ALERT®, bioMérieux, Inc., Durham, NC).¹³

IV. ВЫВОД И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Достаточно сложно оценить характеристики нового патогена и сроки, когда он станет новой угрозой при переливании крови. Наиболее важной характеристикой может стать упреждающий характер инактивации патогенных микроорганизмов. В модельном эксперименте, поставленном в Канадской службе крови, было выявлено, что медицинские расходы, связанные с последствиями для реципиента вследствие возникновения нового патогена, могут быть снижены на 20%, при условии применения эффективного метода инактивации патогенов в продуктах из тромбоцитов или плазмы. Разумеется, этот эффект был бы гораздо более действенным при наличии общей системы для всех лабильных компонентов.¹⁴

Снижение риска, которое можно достичь с помощью технологии инактивации патогенов, зависит от эпидемиологии донора, вирусной динамики и существующих мер по безопасности на местах. Таким образом, это снижение следует понимать не как некое фиксированное число, а как диапазон. В зависимости от процесса скрининга, осуществляемого на месте, технология инактивации патогенов может исключить остаточный риск заражения во время раннего периода сероконверсии и в условиях низкой хронической вирусемии, уменьшить риск передачи репликационно-компетентного вируса и ограничить распространение новых появляющихся вирусов.

Необходимость внедрения технологии инактивации патогенов должна рассматриваться индивидуально для каждой страны, с учетом эпидемиологических характеристик ее населения. Кроме того, следует учитывать общие проблемы в этих популяциях, возникающие под действием новых экологических факторов, таких как изменение климата и векторов миграции человека, животных и насекомых. Внедрение инактивации в клиническую практику должно базироваться на строгом гемонадзоре и надзоре за препаратами, поступающими на рынок.

Таблица 1. Показатели инактивации патогенов с помощью системы Mirasol.

Вирус	Геном	Оболочка	Степень инактивации в Logs
Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), связанный с клетками	одноцепочечная РНК	Да	5,9
Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), внутриклеточный	одноцепочечная РНК	Да	4,5
Вирус гепатита В (ВГВ)	двухцепочечная ДНК	Да	4 logs, г-экв/мл ^a
Вирус гепатита С (ВГС)	одноцепочечная РНК	Да	$\geq 4,1$
Мышиный ЦМВ	двухцепочечная ДНК	Да	Передача 6 logs вируса, не связанного с клетками, предотвращена
			Передача 6 logs вируса, связанного с клетками, предотвращена
Бактерии	Результат метода окрашивания по Граму	Частота возникновения ^b	Степень инактивации в Logs
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (Эпидермальный стафилококк)	Положительный	33%	$\geq 4,6$
<i>Escherichia coli</i> (Кишечная палочка)	Положительный	13%	$\geq 4,4$
<i>Staphylococcus aureus</i> (Золотистый стафилококк)	Отрицательный	10%	4,8

^aПредел чувствительности теста - 2,5 logs г-экв/мл.

^bЧастота возникновения - это частота обнаружения отдельных видов по суммарному количеству сообщенных случаев, взятых из предоставленных отчетов.

V. ССЫЛКИ

- ¹ Klein HG, et al., "Pathogen Inactivation: Making Decisions About New Technologies. Report of a Consensus Conference." *Transfusion* 2007; 47(12): 2338-2347.
- ² Bracey A, "HHS Advisory Committee on Blood Safety and Availability (ACBSA), Letter to Assistant Secretary of Health, Donald Wright: Recommendations Regarding Pathogen Reduction Technology in the U.S.," Department of Health and Human Services, January 28, 2008 <http://www.hhs.gov/ash/bloodsafety/advisorycommittee/recommendations/resjan08.pdf#>.
- ³ Climate Change Impact on Human Health, Meeting Report and Conclusion, European Parliament; November 2009.
- ⁴ Symposium on Implementation of Pathogen Reduction Technologies for Blood Components, European Committee (Partial agreement) on Blood Transfusion (CD-P-TS), Council of Europe, 2011.
- ⁵ Manuel C, et al., "The Drama of Blood Contamination in France. An Approach to Public Health." *Presse Med* 2000; 29(10): 5467-5552.
- ⁶ *Guide to Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components*, 16th Edition, EDQM, Council of Europe, 2011.
- ⁷ WHO Technical Report 2004, Series No. 924, Annex 4, page 150-224.
- ⁸ Kleinman SH, et al., "Infectivity of Human Immunodeficiency Virus-1, Hepatitis C Virus and Hepatitis B Virus and Risk of Transmission by Transfusion." *Transfusion* 2009; 49(11): 2454-2489.
- ⁹ Weusten JJ, et al., "Mathematical Modeling of the Risk of HBV, HCV and HIV Transmission by Window Phase Donations Not Detected by NAT." *Transfusion* 2002; 42: 537-548.
- ¹⁰ Ruane P, et al., "Photochemical Inactivation of Selected Viruses and Bacteria in Platelet Concentrates Using Riboflavin and Light." *Transfusion* 2004; 44: 877-885.
- ¹¹ European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP) 2001.
- ¹² Brecher ME and SN Hay, "Bacterial Contamination of Blood Components." *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 195-204.
- ¹³ Goodrich R, et al., "A Laboratory Comparison of Pathogen Reduction Technology Treatment and Culture of Platelet Products for Addressing Bacterial Contamination Concerns." *Transfusion* 2008; 49: 1205-1216.
- ¹⁴ Kleinman S et al., "Modeling the Risk of an Emerging Pathogen Entering the Canadian Blood Supply." *Transfusion* 2010; 50: 2592-2606.

TERUMOBCT

Terumo BCT, Inc.

10811 West Collins Ave.
Lakewood, Colorado 80215-4440
США

Тел. в США: 1.877.339.4228
Тел: +1.303.231.4357
Факс: +1.303.542.5215

Terumo BCT Europe N.V.

Europe, Middle East and Africa
Ikaroslaan 41
1930 Zaventem
Бельгия

Тел: +32.2.715.05.90
Факс: +32.2.721.07.70

Terumo BCT (Asia Pacific) Ltd.

Room 3903-3903A, 39/F
ACE Tower, Windsor House
311 Gloucester Road
Causeway Bay, Гонконг

Тел: +852.2283.0700
Факс: +852.2576.1311

Terumo BCT Latin America S.A.

La Pampa 1517-12th Floor
C1428DZE
Buenos Aires
Аргентина

Тел: +54.11.5530.5200
Факс: +54.11.5530.5201

Terumo BCT Japan, Inc.

20-14, 3-chome
Higashi Gotanda, Shinagawa-ku
Токио, 141-0022
Япония

Тел: +81.3.6743.7890
Факс: +81.3.6743.9800