

## ADVIES VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD OVER BEVEILIGING EN INACTIVERING VAN LABIELE BLOED-PRODUCTEN

### HGR 7662

#### 1. INLEIDING

Bij de bereiding van labiele bloedcomponenten zijn volgende stappen van cruciaal belang voor de veiligheid van deze producten :

1. recruterende van vrijwillige, niet betaalde donors
2. informeren van de donors over infectieziekten die overgedragen worden via bloedcomponenten
3. selectie van de donors
4. laboratoriumanalyses: serologie, NAT testen
5. kwaliteitsbewaking
6. beveiliging van de producten
  - 6.1. pathogeen inactivering
  - 6.2. quarantaine van plasma

Het risico op overdracht van virale infecties via labiele bloedproducten is zeer klein, maar blijft bestaan ondanks de continue verbetering van de bereidingsprocessen. Het residuele risico op overdracht van hepatitis B en C ligt in de grootte orde van 1/250000, voor HIV in de grootte orde van 1/2000000. Dit blijvend risico is het gevolg van het laattijdig verschijnen van merkers van het betrokken virus. Het zal kleiner worden bij het systematisch uitvoeren van NAT testen, doch zal ook dan niet nul worden. Bovendien zouden andere virussen (Parvovirus, Cytomegalvirus,...) of andere infectieuze agentia kunnen aanwezig zijn in de producten.

Omdat de screening testen voor virale merkers steeds gevoeliger geworden zijn is het bacteriële risico het belangrijkste geworden. Dit risico moet echter gerelativeerd worden voor wat betreft het plasma: bacteriën repliceren nauwelijks bij – 30 °C, temperatuur van bereiding en bewaring van dit product.

#### 2. PATHOGEEN INACTIVERING VAN LABIELE BLOEDPRODUCTEN

Bedoeling van deze methoden is de pathogene agentia te inactiveren die ondanks zorgvuldige selectie van de donors en virale screening toch nog zouden aanwezig zijn in de producten. Het gaat hierbij om virussen, zowel vrije als celgebonden als provirale vormen, om bacteriën, protozoa en Treponema (bijlage 1).

Daarnaast beogen een aantal van deze technieken ook de inactivering van leukocyten die verantwoordelijk kunnen zijn voor de overdracht van intracellulaire infectieuze agentia (CMV, HIV, HTLV-1), voor de secretie van cytokines, voor Graft versus Host disease (GvHD) en voor immunomodulatie.



## **Bruikbare methoden**

### 1. Solvent/Detergent (SD) behandeling van FFP

Het lipiden kapsel van virussen wordt vernietigd door de inwerking van de combinatie van een organisch solvent (tri-n-butylfosfaat) en een detergent (Triton X-100).

1.1. enkel virussen met een lipiden kapsel worden geïnactiveerd, niet ingekapselde virussen zoals HAV of parvovirus B19 blijven intact.

1.2. voor deze bewerking worden pools (+- 350l) gemaakt van een groot aantal individuele giften, wat een nadeel betekent van deze methode.

1.3. De concentratie en de biologische activiteit van de meeste plasma eiwitten blijft goed bewaard.

Gevoelige eiwitten zoals stollingsfactor VIII, proteïne-S en  $\alpha_2$ -antiplasmine worden gedeeltelijk verwijderd of beschadigd.

SD plasma wordt sedert 1991 in routine gebruikt. De efficiëntie en de veiligheid van deze methode zijn bewezen.

Hoewel SD plasma minder aanleiding geeft tot transfusiële reacties dan individuele eenheden plasma werden recent enkele gevallen beschreven van ernstige fibrinolyse na toedienen van SD plasma aan patiënten die een levertransplantatie ondergingen. Deze technologie kan niet toegepast worden op cellulaire producten omdat ze de lipidenlaag van de celmembranen zou aantasten en dus de cellen zou vernietigen.

### 2. Methyleen blauw (MB) behandeling van FFP

*Methyleen blauw* (MB) en andere phenothiazines absorbeert UV en zichtbaar licht, waardoor het geëxciteerd wordt. MB bindt op proteïnen en lipoproteïnen van de membraan van virussen met een lipidenkapsel en op nucleïnezuren.

MB is hydrofiel waardoor het niet gemakkelijk in de cellen kan binnendringen. Bijgevolg kan het niet gebruikt worden voor foto-inactivatie van intracellulaire pathogenen.

Fotodynamische reactie als gevolg van de inwerking van MB in combinatie met zichtbaar licht tast proteïnen, lipiden, cholesterol en aminozuren aan.

2.1. inactieveert gekapselde virussen, zoals HBV, HCV en HIV.

2.2. kan uitgevoerd worden op individuele plasma eenheden.

2.3. zelfde effect op labiele plasma eiwitten als SD.

2.4. Wordt sedert 1992 in verschillende landen gebruikt.

Paul-Ehrlich instituut uitte recent bezorgdheid over de mogelijk mutagene eigenschappen van MB en gaf geen toelating voor gebruik in Duitsland. Maar een Franse firma ontwikkelde een systeem waarbij na behandeling MB wordt verwijderd uit plasma zodat mogelijk mutageniciteit geen rol meer speelt.

### 3. Behandeling door foto-inactivatie – Psoraleen

Foto-inactivatie is gebaseerd op het gebruik van een photosensitiser en een welbepaalde lichtbron. Photosensitisers zijn organische kleurstoffen die licht kunnen absorberen. Bij belichting worden deze stoffen geëxciteerd tot een hoger energieniveau en kunnen ze reageren met een substraat of met andere moleculen. Sommige van deze kleurstoffen bewerkstelligen *photodynamische reacties*: ze genereren in de eerste plaats actieve zuurstof soorten, die verschillende celstructuren kunnen veranderen en het virus kapsel kunnen breken. Andere stoffen veroorzaken *photochemische reacties*: ze zijn in staat cellen binnen te dringen en irreversibel de nucleïnezuren van virussen en leukocyten te modificeren in de

afwezigheid van zuurstof. Een bepaalde stof kan beide typen reacties bewerkstelligen. De nieuwe technologieën maken ook gebruik van componenten die met cellulair of viraal nucleïne-zuren reageren en ze irreversibel veranderen. Sommige van deze nieuwe componenten hebben geen externe energiebron nodig om geactiveerd te worden.

#### Psoraleen S-59

Psoraleen inactieveert een waaier van gekapselde virussen in PC : o.a. cel-vrij, cel-gebonden en proviraal HIV, CMV, HBV, HCV.

Inactieveert gram positieve en gram negatieve bacteriën : PC waren nog steriel na 5 dagen bewaring.

Inactieveert leukocyten, waaronder T-lymfocyten: ze kunnen niet meer prolifereren en de cytokine synthese wordt geïnhibeerd. Behandeling met S-59 is dus efficiënt in het vermijden van FNHTR en van GvHD.

De plaatjesfunctie wordt niet significant aangetast door de behandeling (in vitro en in vivo testen).

Geen mutageen effect.

Dit product zal beschikbaar zijn voor de inactivering van PC en plasma in de tweede helft van 2002 (overzicht trials in bijlage 4). Onzekerheden blijven bestaan in verband met de nevenwerkingen op lange termijn van de Psoraleen-molecule.

Overzicht van andere methoden die in ontwikkeling zijn (bijlage 2 en 3).

### 3. QUARANTINE PLASMA

Het plasma wordt bij voorkeur afgenomen via plasmaferese. Het wordt verdeeld in eenheden van ongeveer 200 ml, ingevroren en gedurende 6 maanden in quarantaine gehouden. Wanneer de donor zich na deze periode opnieuw aanmeldt wordt de virale screening opnieuw uitgevoerd. Als deze testen negatief zijn wordt het plasma vrijgegeven voor bedeling.

Voordeel van deze methode:

1. er wordt gewerkt met plasma afkomstig van één donor
2. de invoering van de NAT testen zal nog een hogere veiligheid bieden
3. de voorraad kan in het transfusiecentrum zelf beheerd worden op voorwaarde dat men over een perfect logistiek systeem beschikt.

Nadeel van de methode:

1. mogelijk risico's gebonden aan een falend systeem van voorraadbeheer
2. geen invloed op infectieuze agentia waarvoor niet getest wordt
3. geen invloed op ongekende pathogenen
4. geen invloed op bacteriën

### 4. BESPREKING

In het document van de Raad van Europa "Pathogen inactivation of labile Blood products" wordt het volgende besloten: "Pathogen inactivation of labile blood products will diminish the risk of transfusion-transmitted disease and immunomodulatory disturbances. However, in view of the anticipated high costs of the procedures and the remarkable current safety standard of labile product, decisions on the implementation need careful consideration."

#### Pathogeen inactivatie

- Pathogeen inactivering daarentegen biedt wél een oplossing naar ongekende agentia toe : tijdens de verschillende processen worden microbiologische pathogenen op niet selectieve wijze vernietigd.
  1. De SD methode, die nu op het Belgisch plasma wordt toegepast, heeft tal van voordelen : ze kan op grote schaal worden toegepast en ze levert een product op dat in de praktijk zijn doeltreffendheid heeft bewezen. Nadeel van deze methode is het

feit dat gewerkt wordt met grote plasma pools. Het zou beter zijn dat SD wordt toegepast op kleine pools van 30 tot 50 liter plasma zoals dat gebeurt in Frankrijk. Het mogelijke risico op overdracht van vCJD blijft echter groter bij gebruik van pools dan bij gebruik van individuele eenheden plasma.

2. De nieuwere methoden van inactivering, zoals methyleenblauw en psoraleen, kunnen worden toegepast op individuele eenheden plasma. Ze zijn efficiënt voor virussen en meestal ook voor bacteriën.
  - In de laatst ontwikkelde techniek voor **methyleen blauw** inactivering wordt het toegevoegde product na behandeling verwijderd zodat het mutageen effect niet langer speelt. Deze techniek kan in een transfusiecentrum op individuele bloedzakjes toegepast worden.
  - De **psoraleen S-59** methode is veelbelovend, maar zal ons inziens vooral toepassing vinden voor PC waar bacteriële contaminatie nog steeds een issue is. Bovendien bestaat er momenteel geen andere methode voor de celcomponenten.

#### Quarantaine plasma

- Quarantaine plasma biedt een veiligheid die vergelijkbaar is met die van erythrocytenconcentraat. Dit procédé kan lokaal in een transfusiecentrum worden toegepast maar de logistieke moeilijkheden mogen niet onderschat worden. Deze methode biedt uiteraard geen beveiliging ten opzichte van agentia waarvoor niet gescreend wordt, m.a.w. ten opzichte van ongekende agentia en ten opzichte van bacteriën.

## 5. BESLUIT

Voor wat betreft plasma is het tot nu toe in België enkel toegelaten om SD plasma toe te dienen. De leden van de raad zijn van oordeel dat een methode voor plasma-inactivering nodig is en dat de MB-techniek, toegepast op individuele eenheden, de voorkeur verdient ten opzichte van de SD-methode (Pool).

De techniek van foto-inactivering met Psoraleen is bruikbaar voor PC, aangezien er geen andere beschikbaar is, maar met enig voorbehoud in verband met de nevenwerkingen van psoraleen op lange termijn.