

Wybrane zagadnienia dotyczące inaktywacji czynników chorobotwórczych w składnikach krwi w świetle doniesień prezentowanych na 33. Regionalnym Kongresie *International Society of Blood Transfusion (ISBT)* w Göteborgu, 17–21 czerwca 2023 roku

Paulina Goczyńska^{ORCID}, Joanna Lasocka^{ORCID}, Elżbieta Lachert^{ORCID}

Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Goczyńska P, Lasocka J, Lachert E. Selected issues on pathogen inactivation in blood components; reports presented at the 33rd Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT) in Gothenburg, June 17–21, 2023. *J Transf Med* 2023; 16 (4): 278–283. DOI: 10.5603/jtm.99304. Należy cytować wersję pierwotną.

Wstęp

W trakcie 33. Regionalnego Kongresu *International Society of Blood Transfusion (ISBT)*, który odbył się w Göteborgu w dniach 17–21 czerwca 2023 roku, przedstawiono kilkanaście prac dotyczących inaktywacji czynników chorobotwórczych w składnikach krwi. Wyniki badań składników krwi poddanych inaktywacji czynników chorobotwórczych przedstawiono podczas sesji równoległej (*Parallel Session 8: Pathogen inactivation*) oraz sesji plakatowej (*Blood products, Pathogen inactivation*).

Podczas prezentacji ustnej Axel Seltsam z Ba-warskiego Czerwonego Krzyża przedstawił aktualny stan wdrożenia metod inaktywacji czynników chorobotwórczych w składnikach krwi. Podkreślił, że rozprzestrzenianie się czynników zakaźnych z regionów ich endemicznego występowania na inne obszary, w tym niedawna globalna pandemia COVID-19, nasiliły zainteresowanie metodami inaktywacji, które zwiększając bezpieczeństwo przetaczanych składników krwi, zwiększają także dostępność składników krwi. Metody inaktywacji czynników chorobotwórczych w składnikach krwi

ograniczają ryzyko przeniesienia bakterii [szczególnie w przypadku koncentratu krwinek płytkowych (KKP)], pasożytów oraz wirusów, a niektóre z nich inaktywują także limfocyty T, stanowiąc metodę stosowaną w profilaktyce choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (TA-GvHD, *transfusion-associated graft-versus-host-disease*). Obecnie do rutynowego stosowania wprowadzono systemy do inaktywacji czynników chorobotwórczych w osoczu i w KKP, których zasada działania opiera się na reakcjach fotodynamicznych i fotochemicznych. Wprowadzono opracowano kilka metod inaktywacji czynników chorobotwórczych w krwi pełnej (KP) i w koncentracie krwinek czerwonych (KKCz), to nadal żadnej z nich nie wdrożono do rutynowego stosowania. Najbardziej zaawansowane i budzące największe nadzieje na ich wprowadzenie są dwie metody — metoda inaktywacji czynników chorobotwórczych w krwi pełnej przy zastosowaniu systemu Mirasol oraz metoda inaktywacji w KKCz z zastosowaniem amustaliny i glutationu. W czasie prezentacji podkreślono, że zbyt małe zainteresowanie wdrożeniem metod inaktywacji w wielu

Adres do korespondencji: mgr Paulina Goczyńska, Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel. 22 349 6386, e-mail: pgoczynska@ihit.waw.pl

Nadesłano: 05.09.2023

Przyjęto do druku: 18.09.2023

Data pierwszej publikacji: 31.12.2023

Artykuł jest dostępny bezpłatnie na podstawie licencji Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) umożliwiającej jego pobranie oraz udostępnianie pod warunkiem wskazania autorstwa i wydawcy. Niedopuszczalne jest wprowadzanie jakichkolwiek zmian lub wykorzystanie komercyjne bez zgody wydawcy.

krajach jest spowodowane prawdopodobnie obawą przed potencjalnie obniżoną skutecznością inaktywowanych składników krwi, wzrostem kosztów ich otrzymywania oraz ewentualnymi reakcjami niepożądanymi. Jednakże już wyniki pierwszych badań klinicznych wykazały, że poddane inaktywacji składniki krwi mają wystarczającą skuteczność kliniczną i akceptowalny profil bezpieczeństwa, chociaż w niektórych sytuacjach klinicznych stosowanie inaktywowanych składników krwi może skutkować zwiększoną liczbą przetoczeń. Podczas prezentacji podkreślono, że wprawdzie wprowadzenie inaktywacji wiąże się z większym nakładem pracy, to ostatecznie badania stosunku korzyści do ryzyka oraz oceny ekonomiczne sugerują, że stosowanie inaktywacji w osoczu i w KKP znacznie ograniczyłoby przeniesienie zakażenia w przypadku pojawienia się nowego czynnika chorobotwórczego [1]. W kolejnej ustnej prezentacji przedstawiciel kilku francuskich centrów krwiodawstwa (Paryż, Marsylia, Nantes, Rennes, La Plaine St-Denis) podsumował wpływ wdrożenia 100% inaktywacji czynników chorobotwórczych w KKP/RW (koncentrat krwinek płytkowych w roztworze wzbogacającym) na ich otrzymywanie i wydawanie oraz na ryzyko przeniesienia zakażenia wraz z przetaczanym KKP. We Francji system Intercept wdrożono do rutynowego stosowania w listopadzie 2017 roku. Ryzyko przeniesienia czynników chorobotwórczych porównywano przed wprowadzeniem inaktywacji i po jej wprowadzeniu, obejmując lata 2013–2022. W podsumowaniu stwierdzono, że odsetek otrzymywanych KKP z krwi pełnej (mieszanka z roztworem wzbogacającym) wzrastał z 51% w 2013 roku do 72% w 2022 roku. Wydłużenie czasu przechowywania KKP inaktywowanego do 7 dni wprowadzono w 2019 roku. W 2018 roku odsetek KKP nadających się do podziału stanowił 30%, podczas gdy w 2022 roku stanowił już 96,5%. W przypadku KKP z aferezy jeszcze w 2017 roku preparatów tych nie poddawano dzieleniu, natomiast w 2022 roku odsetek dzielonych KKP z aferezy wynosił 11%. Podkreślono także, że wprowadzenie inaktywacji w KKP zaowocowało wydłużeniem czasu ich przechowywania, a w konsekwencji mniejszym odsetkiem zniszczeń z powodu przeterminowania. Wprawdzie KKP inaktywowane charakteryzowały się zmniejszoną liczbą krwinek płytkowych, a pacjenci wymagali zwiększonej liczby przetoczeń, to całkowita liczba przetoczonych KKP na pacjenta wzrosła nieznacznie. Stwierdzono także istotne ograniczenie przeniesienia bakterii wraz z przetaczanymi KKP [2].

Sesja plakatowa

W trakcie sesji plakatowej (*Pathogen inactivation*) przedstawiono 11 prac dotyczących metod inaktywacji czynników chorobotwórczych w składnikach krwi. Cztery prace odnosiły się do systemu Intercept. Jedna z prac dotyczyła badań KKCz otrzymanych z KP poddanej inaktywacji w systemie Mirasol i jedna — KKP poddanych inaktywacji w systemie Mirasol. Jedna praca dotyczyła badań porównawczych systemu Intercept i systemu Mirasol. Dwa ośrodki przedstawiły badania pilotażowe dotyczące inaktywacji — pierwszy z wykorzystaniem systemu Theraflex UV Platelets, zaś drugi z wykorzystaniem amustaliny i glutationu dla KKCz. Dwie prace dotyczyły systemu Theraflex MB Plasma. Ze względu na fakt, że każda z 11 prac we wprowadzeniu zawierała informacje dotyczące opisywanego systemu inaktywacji, zdecydowano, aby podstawowe informacje dotyczące systemów do inaktywacji czynników chorobotwórczych w składnikach zawrzeć w tabeli 1.

System Intercept

Centrum krwiodawstwa w Strasburgu od lat stosuje system Intercept do inaktywacji czynników chorobotwórczych w KKP. Celem pracy, zaprezentowanej przez przedstawicieli firmy Cerus oraz Centrum Krwiodawstwa w Strasburgu, była ocena *in vitro* KKP otrzymanych z kożuszków leukocyтарно-płytkowych poddanych inaktywacji w iluminatorze, w którym zamiast konwencjonalnej lampy UVA zastosowano prototypową lampę LED (*light emitting diode*). W badaniach porównywano 4 grupy KKP (n = 5 dla każdej grupy):

- KKP z PAS-C (InterSol)/osocze (55%/45%) poddane inaktywacji przy zastosowaniu iluminatora z konwencjonalną lampą UVA (INT100 o długości fali 320–400 nm, 3,9 J/cm²);
- KKP z PAS-C/osocze (55%/45%) poddane inaktywacji przy zastosowaniu iluminatora z lampą LED (350 nm, 3,3 J/cm²);
- KKP z PAS-E (SSP+)/osocze (55%/45%) poddane inaktywacji przy zastosowaniu iluminatora z konwencjonalną lampą UVA;
- KKP z PAS-E/osocze (55%/45%) i poddane inaktywacji przy zastosowaniu iluminatora z lampą LED.

Jakość i funkcję *in vitro* płytek krwi oceniano za pomocą wielu testów biochemicznych i czynnościowych w ciągu 7 dni przechowywania. Liczba płytek krwi była stabilna w trakcie całego okresu przechowywania we wszystkich badanych grupach.

Tabela 1. Systemy inaktywacji czynników chorobotwórczych w KKP i osoczu

System/parametr	Theraflex MB Plasma	Intercept	Mirasol PRT	Theraflex UV Platelets
Rodzaj składnika krwi	Pojedyncza jednostka osocza z krwi pełnej lub z aferezy	Pojedyncza jednostka osocza z krwi pełnej pulowane lub z aferezy; KKP w osoczu lub w PAS (InterSol, SSP+)	Osocze; KKP w osoczu lub w PAS (SSP+)	KKP, osocze w trakcie badań
Oznakowanie CE (rok)	2000	KKP: 2002; osocze: 2006	KKP: 2007; osocze: 2008	KKP: 2009
Fotoczułacz	Błękit metylenowy	Chlorowodorek amotosalenu (S-59)	Ryboflawina (witamina B2)	Nie zastosowano fotoczułacza
Fotoprodukty	Azur A, B, C; tionona	Dimery S-59	Lumichrom, lumiflawina, 2'ketoflawina, 4-ketoflawina, mononukleotyd, flawiny formylo metyloflawina	Brak
Warunki inaktywacji	Światło widzialne (590 lub 630 nm) 180 J/cm ²	UVA (320–400 nm) 3 J/cm ²	UV (280–400 nm) 6,24 J/cm ²	UVC (254 nm) 0,2 J/cm ²
Dodatkowe etapy	Leukoredukcja (Plasmaflex); usuwanie fotoczułacza i fotoproduktów (Blueflex)	Usuwanie fotoczułacza i fotoproduktów (CAD)	Nie dotyczy	Nie dotyczy

KKP — koncentrat krwinek płytkowych; PAS (*platelet additive solution*) — roztwór wzbogacający; UV (*ultraviolet radiation*) — promieniowanie ultrafioletowe; UVA (*ultraviolet radiation in the UV-A range*) — promieniowanie ultrafioletowe w zakresie UV-A (długość fali: 315–380 nm); UVC (*ultraviolet radiation in the UV-C range*) — promieniowanie ultrafioletowe w zakresie UV-C (długość fali: 100–280 nm); CE — Conformité Européenne

Ekspresja integryny $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ i glikoproteiny VI (GPVI) pozostała stabilna, podczas gdy ekspresja glikoproteiny GPIIb α (receptor dla czynnika von Willebranda) i glikoproteiny V ulegała obniżeniu we wszystkich badanych grupach. Koncentraty krwinek płytkowych poddane naświetlaniu zarówno lampą UVA, jak i diodami LED wykazywały podobne zużycie glukozy, stężenie mleczanu, uwalnianie dehydrogenazy mleczanowej (LDH, *lactate dehydrogenase*) oraz podobną wartość pH. Na podstawie analizy wyników autorzy stwierdzili, że zastąpienie świetlówek UVA lampami LED w iluminatorze INTERCEPT nie miało wpływu na metabolizm, aktywację, żywotność oraz funkcje hemostatyczne krwinek płytkowych w KKP z kożuszków leukocytarno-płytkowych przechowywanych przez 7 dni w PAS-C lub PAS-E/osocze [3]. W 2021 roku w Stanach Zjednoczonych ukazało się doniesienie dotyczące infekcji bakteryjnej przeniesionej przez przetoczenie (TTBI, *transfusion-transmitted bacterial infections*) u biorcy KKP-Af. (KKP otrzymany metodą aferezy), poddanego inaktywacji z zastosowaniem systemu Intercept. Badania przesiewowe z pozostałości KKP po transfuzji wykazały obecność trzech bakterii — *Staphylococcus saprophyticus*, *Leclercia adecarboxylata* i *Enterobacter soli*. Nie ustalono, na którym etapie

doszło do kontaminacji — czy w trakcie pobierania czy preparatyki. Dopuszczając możliwość, że do zanieczyszczenia doszło przed inaktywacją, można by wyciągnąć wniosek, iż inaktywacja przy zastosowaniu systemu Intercept jest nieskuteczna wobec wyżej wymienionych czynników zakaźnych. W związku z powyższym firma Cerus przeprowadziła badania, których celem była ocena skuteczności inaktywacji *E. coli* samodzielnie i w połączeniu z *L. adecarboxylata* i *S. saprophyticus*. W tym celu do jednostki KKP-Af. dodano mieszaninę kultur *E. coli* oraz mieszaninę *E. coli*, *L. adecarboxylata* i *S. saprophyticus* (w stosunku 1:1:1), a następnie poddano inaktywacji z zastosowaniem systemu Intercept. Pobrano próbki przed dodaniem bakterii, po ich dodaniu oraz po inaktywacji. W żadnym badaniu mikrobiologicznym nie zaobserwowano wzrostu bakterii, co wskazuje na skuteczną inaktywację wyżej wymienionych czynników chorobotwórczych [4]. W kolejnej prezentacji plakatowej podkreślono, że w Europie system Intercept rutynowo jest stosowany do inaktywacji czynników chorobotwórczych zarówno w Zl. KKP (zlewany koncentracie krwinek płytkowych), jak i w KKP-Af., a w Stanach Zjednoczonych przede wszystkim do inaktywacji KKP-Af. (TRIMA® w 100% osoczu lub AMICUS® w mieszaninie 65% PAS-3/35%

osocza). W 2015 roku eksperci z komitetu ds. standaryzacji biologicznej (ECBS, *Expert Committee on Biological Standardization*) przy Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) we współpracy z Instytutem Paula Ehrlicha (PEI, *Paul-Ehrlich Institute*) zatwierdzili rozszerzony panel szczepów bakteryjnych stosowanych w celu oceny metod zwiększających bezpieczeństwo mikrobiologiczne składników krwi (*Spindler-Raffel et al, Vox Sang. 2015*). Celem pracy przedstawionej przez przedstawicieli firmy Cerus była ocena inaktywacji szerokiego spektrum szczepów bakteryjnych, które dodano do KKP-Af. w osoczu, do KKP-Af./RW (65% PAS-3/35% osocza) i do jednostki osocza. Stwierdzono, że system Intercept inaktywuje wysokie miana *K. pneumoniae* i *S. aureus* w osoczu. W przypadku KKP stwierdzono skuteczną inaktywację *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* i *S. epidermidis*. Dane te pokazują, że system Intercept w sposób skuteczny inaktywuje wskazane przez WHO szczepy bakterii, które odpowiadają za infekcje bakteryjne przenoszone przez przetoczenie [5]. Praca przedstawiona przez przedstawicieli szwedzkiego ośrodka transfuzjologicznego dotyczyła opracowanej przez ośrodek własnej metody pulowania i inaktywacji niewykorzystanego osocza. W szpitalu uniwersyteckim w Uppsali zaobserwowano wysoki odsetek zniszczeń osocza (ok. 25% z całych zapasów otrzymanych w 2018 r.), pierwotnie przeznaczonych dla pacjentów z poważnymi obrażeniami (np. wypadki komunikacyjne). Jednostki osocza w przypadku ich niewykorzystania (np. śmierć pacjenta) są ponownie przekazywane do szpitalnego banku krwi i przechowywane do 7 dni w celu ponownego zastosowania. W większości przypadków są one niewykorzystywane i utylizowane. W celu zapobiegania tak wysokim zniszczeniom opracowano metodę opartą na tworzeniu pul osocza z niewykorzystanych jednostek osocza. W tym celu zamrażano 100 jednostek ubogoleukocytarnego osocza (temp. $\leq -25^{\circ}\text{C}$), które po 7 dniach rozmrażano i przygotowywano 10 pul (po 10 jednostek). Każdą z pul dzielono następnie na 4 subpule (po 650 ml). Każdą subpulę poddawano inaktywacji w systemie Intercept, a po inaktywacji dzielono na 3 jednostki w konsekwencji, otrzymując 120 jednostek osocza inaktywowanego o objętości około 200 ml, które zamrażano i rozmrażano w zależności od zapotrzebowania. Na podstawie wykonanych badań kontroli jakości stwierdzono, że o ile samo zamrażanie i rozmrażanie nie wpłynęło znacząco na aktywność czynnika VIII i stężenie fibrynogenu, to wartości te uległy istotnemu statystycznie obniżeniu po procesie inaktywacji, ale nadal akcep-

towalnemu. Wartości te wynosiły odpowiednio 69% i 87% zawartości początkowej czynnika VIII i fibrynogenu. Autorzy pracy stwierdzili, że połączenie 10 jednostek osocza przed inaktywacją standaryzuje objętość i zawartość białka w jednostkach osocza oraz pozwala na zmniejszenie odsetka zniszczeń osocza do 12% [6].

System Mirasol PRT — inaktywacja czynników chorobotwórczych w koncentracie krwinek płytkowych

Od wprowadzenia w latach 90. XX wieku metod inaktywacji czynników chorobotwórczych w składnikach krwi przetoczenia stały się bardziej bezpieczne, ale inaktywacja wpływa negatywnie na jakość otrzymywanych preparatów, co powoduje niższe odzyskanie krwinek płytkowych w krążeniu biorcy, a w konsekwencji konieczność zwiększenia liczby przetoczeń u niektórych pacjentów. W celu poprawienia jakości krwinek płytkowych po inaktywacji KKP holenderscy badacze z *Sanquin Blood Bank* postanowili sprawdzić, czy dodanie do roztworu wzbogacającego PAS-E dodatkowych składników, takich jak pirogronian, glutation oraz witamina C, może korzystnie wpłynąć na jakość KKP po inaktywacji. W tym celu pulę 10 kożuszków leukocytarno-płytkowych podzielono na dwie części. Do pierwszej dodano PAS-E (T-PAS+ firmy Terumo BCT), do drugiej zaś PAS-E wzbogacony o glutation, pirogronian i witaminę C. Obie grupy preparatów poddawano inaktywacji przy zastosowaniu systemu Mirasol PRT i przechowywano do 8 dni. Na podstawie analizy wyników badań stwierdzono, że dodanie pirogronianu prowadzi do mniejszego zużycia glukozy, w konsekwencji czego powstaje mniej mleczanu, co skutkowało lepszym utrzymaniem pH. Zarówno glutation, jak i witamina C powodują obniżenie aktywacji (ekspresja CD62P) i mniejszy poziom apoptozy (aneksyna V). Autorzy podkreślili, że włączenie pirogronianu i przeciwutleniaczy do składu roztworu wzbogacającego może łagodzić niektóre skutki inaktywacji. Konieczne są jednak dalsze badania potwierdzające korzystny wpływ zmiany składu roztworu wzbogacającego na KKP oraz ocena, czy zmiany w składzie nie wpływają na skuteczność inaktywacji oraz skuteczność kliniczną [7].

System Mirasol PRT — inaktywacja czynników chorobotwórczych w krwi pełnej

Pomimo wieloletnich prac nadal nie wdrożono do rutynowego stosowania metody inaktywacji czynników chorobotwórczych w KKCz, najczęściej przetaczanym składniku krwi. Chociaż system Mirasol PRT do inaktywacji czynników chorobotwórczych w krwi pełnej uzyskał oznakowanie CE w 2015 roku, nie wpłynęło to na zwiększenie zainteresowania tą metodą inaktywacji. Pracownicy Regionalnego Centra Krwiodawstwa i Krwiolecnicstwa (RCKiK) w Łodzi oraz Instytutu Hematologii i Transfuzjologii we współpracy z firmą Terumo przedstawili część badań dotyczących jakości ubogoleukocytarnego koncentratu krwinek czerwonych (UKKCz) (PAGSM) otrzymanego metodą automatyczną z KP (*Reveos*), którą uprzednio poddano inaktywacji z zastosowaniem systemu Mirasol PRT (*Terumo BCT*). Do badań przeznaczono 40 jednostek KP, które podzielono na 2 grupy: badaną (B) — poddaną inaktywacji i kontrolną (C), z których otrzymano KKCz, przechowywane następnie w temperaturze 2–6°C do 42 dni. Badano ekspresję antygenów CD 44, CD 47 oraz aneksyny V. Porównując wyniki wyżej wymienionych parametrów w 1. i 42. dniu przechowywania, nie odnotowano istotnych różnic w ekspresji antygenów CD44, CD47 czy aneksyny V, co sugeruje brak wpływu metody inaktywacji czynników chorobotwórczych w KP przy zastosowaniu systemu Mirasol na ekspresję wyżej wymienionych antygenów w KKCz [8].

System Intercept a system Mirasol PRT

W 2021 roku Luksemburski Czerwony Krzyż wdrożył działania mające na celu zwiększenie samowystarczalności ich oddziały oraz zmniejszenie liczby zniszczeń KKP z powodu przeterminowania. W związku z powyższym przeprowadzono badania, w których porównano jakość KKP poddanych inaktywacji przy zastosowaniu systemu Mirasol z jakością KKP poddanych inaktywacji przy zastosowaniu systemu Intercept. Na podstawie analizy wyników badań wprowadzono system Intercept, a czas przechowywania KKP poddanych inaktywacji wydłużono do 6 dni. Jakość KKP w początkowym okresie wdrożenia systemu Intercept, a w szczególności KKP-Af., nie spełniała zakresu normy parametrów kontroli jakości (QC, *quality control*). W związku z powyższym postanowiono ocenić wpływ wprowadzonych zmian na wyniki QC, określić liczbę składników niespełniających zakresu norm QC oraz

oszacować liczbę zniszczeń z powodu przeterminowania, a także określić średni „wiek” wydawanych KKP. Do porównania użyto danych archiwalnych (KKP inaktywowanych systemem Mirasol) i bieżących (KKP inaktywowanych systemem Intercept). Dodatkowo wyszczególniono podział na KKP zlewany (*system Revos, Terumo BCT*) i KKP z aferezy (*Trima, Terumo BCT*). Na podstawie analizy wyników badań KKP poddanych inaktywacji w systemie Intercept zaobserwowano zwiększoną stratę krwinek płytkowych w Zl. KKP spowodowaną etapem usuwania resztek związku fotouczulającego i jego fotoproduktów (CAD, *compound adsorption device*). Straty w liczbie krwinek płytkowych nie obserwowano w KKP-Af., ponieważ inaktywacji poddawano KKP z wyższą niż standardowa liczbą krwinek płytkowych. Stwierdzono ponadto, że został wydłużony czas wydania z 2,73–4,03 dnia do 3,31–4,26 dnia (ze względu na konieczność inkubacji z CAD), co przy wydłużeniu czasu ważności i dobrych parametrach QC nie wpływa negatywnie na całość procesu otrzymywania i jakość KKP. Odsetek zniszczeń uległ zmniejszeniu i nie zaobserwowano wzrostu odsetka preparatów niespełniających wymogów QC [9].

System Theraflex MB Plasma

Podczas kongresu przedstawiono dwie prace plakatowe dotyczące inaktywacji czynników chorobotwórczych w osoczu przy zastosowaniu systemu Theraflex MB Plasma. Prace dotyczyły skuteczności inaktywacji bakterii i wirusów w osoczu przechowywanym w pojemnikach z tworzywa bez ftalanu dwu-2-etyloheksylu (DEHP, *Di(2-ethylhexyl) phthalate*) [10, 11].

System Theraflex UV-Platelets

Przedstawiciele Bawarskiego Czerwonego Krzyża przedstawili pracę dotyczącą wdrażania inaktywacji czynników chorobotwórczych w KKP przy zastosowaniu systemu Theraflex UV-Platelets, w którym zastosowano wyłącznie promieniowanie ultrafioletowe w zakresie UV-C (długość fali: 100–280 nm) (UV-C, *ultraviolet radiation in the UV-C range*), co powoduje, że biorcy KKP poddanego inaktywacji w tym systemie nie są narażeni na działanie nawet śladowych ilości związków chemicznych. Celem pracy było przeprowadzenie walidacji procesu i ocena jakościowa inaktywowanego KKP. Do tego celu wykorzystano 6 podwójnych jednostek KKP-Af., które podzielono na grupę badaną (B) — inaktywowane z wyko-

rzystaniem systemu *Theraflex UV Platelet* oraz grupę kontrolną (C). Wszystkie jednostki KKP przechowywano w temperaturze 22°C z wytrząsaniem. Wyniki badań kontroli jakości mieściły się w zakresie normy dla poszczególnych parametrów kontroli jakości, średnia zawartość krwinek płytkowych w obu grupach była zbliżona, obie grupy wykazywały także podobne wyniki odpowiedzi na szok hipotoniczny i „swirling”. W grupie badanej stwierdzono wprawdzie większe zużycie glukozy, jednak w obu przypadkach (C i B) glukoza była obecna jeszcze w 9. dniu przechowywania [12].

System z S-303 (amustaliną) i glutationem

Metody inaktywacji składników krwi zawierających czerwone krwinki są aktualnie w fazie intensywnych badań. Jedną z takich metod jest metoda chemiczna oparta na działaniu amustaliny (S-303) i glutationu (GSH). Amustalina sprawnie przechodzi przez błony komórek i otoczkowych wirusów i wbudowuje się w spiralne regiony kwasów nukleinowych, tworząc wiązania poprzeczne poprzez dialkilującą grupę. Amustalina reaguje także między innymi z fosforanami, białkami i wodą. Aby zapobiec tym niespecyficznym reakcjom, jest dodawany glutation (GSH, *γ-L-glutamyl-L-cysteinylglycyna*). Ze względu na fakt, że w licznych badaniach klinicznych w ostatnich latach stwierdzono tworzenie się neoantygenów i przeciwciał u pacjentów wrażliwych po zastosowaniu KKCz poddanych inaktywacji z zastosowaniem metody chemicznej (amustalina i glutation), naukowcy z Niemiec przeprowadzili badania, których celem było wskazanie optymalnej metody do oznaczania tych przeciwciał. Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono, że przeżycie czerwonych krwinek *in vivo* można badać z wykorzystaniem cytometru przepływowego za pomocą testu akrydyny lub biotyny (równorzędne testy). Jednocześnie podkreślono, że test z wykorzystaniem akrydyny nie wymaga dodatkowych etapów przygotowania [13].

Podsumowanie

Podczas 33. Kongresu ISBT przedstawiono bardzo różnorodne prace dotyczące inaktywacji. Oceniono jakość KKP poddanych inaktywacji w nowym, prototypowym iluminatorze zastosowanym w systemie Intercept, sprawdzono skuteczność systemu Intercept w stosunku do nowych szczepów bakterii w KKP oraz przeprowadzono pilotażowe badania oceniające korzyści z wpro-

wienia nowych związków chemicznych do roztworu wzbogacającego PAS-E, które pozwolą poprawić jakość KKP poddanych inaktywacji w systemie Intercept. Przedstawiono także pracę, kontrowersyjną z punktu widzenia polskich przepisów, której celem było obniżenie zniszczeń jednostek osocza. Przypomniano metodę inaktywacji czynników chorobotwórczych w KKP, w której zastosowano wyłącznie UVC. Wprawdzie metoda zastosowana w systemie Therflex UV Platelets otrzymała oznakowanie CE w 2009 roku, to jej zastosowanie wydaje się ograniczone. Niepokojące jest to, że wbrew oczekiwaniom bardzo mało prac dotyczyło systemów do inaktywacji czynników chorobotwórczych w KP i KKCz, co świadczy o tym, że rutynowe wprowadzenie systemów zwiększających bezpieczeństwo preparatów czerwonych krwinek jest jeszcze odległe w czasie. Skupiono się także na nowych wyzwaniach stawianych przed krwiodawstwem — między innymi na konieczności zmiany plastyfikatora w obecnie stosowanych zestawach do pobierania, przechowywania i preparatyki krwi, w tym do inaktywacji. Tematyka podjętych zagadnień świadczy o nieustannej chęci rozwoju i poprawiania parametrów otrzymywanych składników krwi, a tym samym otrzymywania składników krwi bardziej bezpiecznych i o wyższej jakości.

Konflikt interesów: nie zgłoszono

Piśmiennictwo

1. Seltsam A. Update on pathogen inactivation of whole blood, red blood cells, platelets and plasma. *Vox Sang.* 2023, PA08-L01, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
2. Richard P, Thibert J, Malard L et al. Implementation of 100% pathogen-reduced platelet concentrates in France: Impact on manufacturing and issuing of platelet concentrates as well as on the risk of transfusion-transmitted infections. *Vox Sang.* PA08-L02, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
3. Hechler B, Brouard N, Rudwill F, Mouriaux C, et al. In vitro biochemical and functional characteristics of stored (double-dose) buffy-coat platelet concentrates treated with amotosalen and a prototype UVA light-emitting diode illuminator. *Vox Sang.* 2023, P202, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
4. Krath M, Nahata P, McCormack M, Johnson A, et al. Amotosalen and UVA treatment of enterobacter soli, leclercia adecarboxylata and staphylococcus saerohycticus from a contaminated apheresis platelet unit. *Vox Sang.* 2023, P203, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
5. Nahata P, McCormack M, Johnson A, Stafford B, et al. Inactivation of WHO reference bacterial strains in platelet and plasma components using Amotosalen/UVA treatment. *Vox Sang.* 2023, P209, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
6. Auvinen M, Löf H, Knutson F. Pathogen reduced plasmas from maxi-pools combined with fast thawing for use in emergency situations. *Vox Sang.* 2023, P207, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).

7. Van Der Meer P, Groot S, Klei T. Improvement of platelet quality after pathogen inactivation. *Vox Sang.* 2023, P206, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
8. Bubiński M, Gronowska A, Lasocka J, Lachert E. Evaluation of CD44, CD47 and annexin V expression in leuko-reduced packed RBCs stored in additive solution obtained from WB subjected to pathogen inactivation and separation. *Vox Sang.* 2023, P212, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
9. Malvaux N, Defraigne F, Schuhmacher A. Initial experience of switching pathogen inactivation system with extended platelet shelf life. *Vox Sang.* 2023, P205, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
10. Gravemann U, Sumian C, Schulze T. Virus inactivation of plasma by methylene blue/light treatment using a DEHP-free bag system. *Vox Sang.* 2023, P204, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
11. Gravemann U, Sumian C, Schulze T. Bacteria elimination from plasma by methylene blue/light treatment using a DEHP-free bag system. *Vox Sang.* 2023, P208, DOI, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
12. Handke W, Dresel S, Seltsam A. Implementation of a UVC-based pathogen reduction treatment for apheresis platelets at regional blood service in Germany. *Vox Sang.* 2023, P210, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).
13. Benjamin RJ, Pitman JP, von Goetz M, et al. A pilot study tracking pathogen reduced RBCs in vivo using Surface acridine and biotin flow cytometric markers. *Vox Sang.* 2023, P211, doi: [10.1111/vox.13433](https://doi.org/10.1111/vox.13433).