

Transfüzyon pratiğinde '0' enfeksiyon riskine doğru

Dr. Yeşim Aydınok

Ege Üniversitesi Kan Merkezi

Hiçbir strateji '0' riski garanti edemez

- Bilinen bilinenler vardır
 - Bunlar bildiğimizi bildiklerimizdir

- Bilinen bilinmeyenler vardır
 - Bunlar bilmediğimizdir

- Bilinmeyen bilinmeyenler vardır
 - Bunları bilmediğimizdir

Transfüzyonla geçebildiği bilinen ve riskli transfüzyonla geçebildiği

Bilinmeyen yeni enfeksiyonların (Batı Nil Virusu, Dengue) potansiyel riski bilinmez ancak öngörülebilir

Eski deneyimler;
HIV: retrovirusların insan patojeni olduğu bilinmiyordu
vCJD: prionların transfüzyonlarla geçebildiği bilinmiyordu

HIV gibi kronik bir enfeksiyon ajanının ortaya çıkması riski en az 3 ve en fazla 10 yıl (ort. 5 yıl) olarak hesaplanmıştır. WNV, Dengue veya chikungunya gibi akut enfeksiyon ajanları, 1-2 yılda bir ortaya çıkarlar

Geleneksel transfüzyonla geçen viruslar halen transfüzyon güvenliği bakımından risk oluşturur

- Bağışçı değerlendirme & seroloji + NAT testleri, geçişi belirgin olarak azaltmıştır
- Bununla beraber NAT testleri dahi pencere dönemini tamamen elimine edememiştir

Virus	WP (days) for serology ¹	WP (days) for ID-NAT ^{1,2}	Risk of transmission in US ³
HIV-1	19 (p24; 15)	1.5-5.0	1:2 300 000
HCV	65	3.3	1:1 800 000
HBV	36	11.6	1:352 000

FDA licensed methods for infectious disease screening;

- *Serology tests; HBsAg, anti-HBc, anti-HIV1/2, anti-HCV and HTLV-I/II*
- *NAT tests; HCV-RNA, HIV-RNA and WNV-RNA*



Yeni ortaya çıkan enfeksiyon etkenleri potansiyel olarak transfüzyon güvenliğini tehdit ederler

Pathogen	Genus	Genome	Geographic area	Obligatory testing
HEV	Hepevirus	RNA	WW, highest in S	No
HTLV	Retrovirus	RNA	WW, high in Japan, t Africa, Caribbea	No
Dengue	Flavivirus	RNA	SEA, Latin America	No
WNV	Flavivirus	RNA	WW	Known Yes (only US)
Chikunguya				No
PVB19				No
Babesiosis	B. microti	Parasite	Most frequent US	Known Yes (only US)
vCJD	Prion	Prion	UK, US, Europe	Known No
Malaria	Plasmodium sp	Parasite	Africa, India, Indonesia	Known No
Chagas	Trypanasoma	Parasite	Latin America	Known No

Bilinmeyen veya tanınmayan patojenler?

Bu potansiyel patojenler , kan güvenliği üzerine potansiyel etkileri ve bu riskleri azaltacak sağlık ekonomisi analizleri bakımından ilgi alanıdır

Eritrosit süspansiyonları ile bakteriyel bulaş/sepsis

▶ FDA'ye 1995 -2004 yılları arasında 25 mortalite bildirilmiştir¹

▶ Mikroorganizmalar:

▶ Gram negatif bakteri (80%)

Klebsiella spp., Serratia spp., Escherichia coli, Pseudomonas spp. ve Yersinia enterocolitica

▶ Gram pozitif bakteri (20%)

Staphylococcus aureus ve epidermidis

Bulaşlı eritrosit süspansiyonunun transfüzyonu ile ilişkili mortalite >%60
(ölüm transfüzyondan sonra median 25 saatte gelişir)

Önleyici tutumlar²:

- Son zamanda GI hastalık, diş veya genitoüriner prosedür öyküsü olan donörlerin reddi **(ne sensitif ne de spesifik bir göstergedir)**
- Eritrosit süspansiyonlarının <2 hafta tüketimi Yersinia sepsisini önleyebilir **(NA)**

1. Niu MT, et.al. Transfusion Medicine Reviews, 2006, 20(2), 149-157.

2. Lindholm PF, et.al, Infectious Disorders-Drug Targets, 2011, 11, 45-56.

Trombosit süspansiyonları ile bakteriyel bulaş/sepsis

- ▶ Trombosit süspansiyonları saklama koşullarında (20-24 °C) bir çok bakteri çoğalması için uygun ortam yaratır
- ▶ En sık mikroorganizmalar: *Staphylococcus epidermidis* ve *Bacillus cereus*
- ▶ Çeşitli surveyans çalışmalarında bakteriyel bulaş 1:1000 ile 1:3000
- ▶ Trombosit süspansiyonlarıyla ilişkili sepsis 1:13000 ile 1:100000
(sıklıkla tanınmamakta ve raporlandırılmamaktadır)

Bakteriyel bulaş nedenli mortalite²:

- Havuz trombosit süspansiyonu transfüzyonu: 1:17000
- Aferez trombosit süspansiyonu transfüzyonu: 1:61000
- Fatalite ile sonuçlanan olguların çoğunda gram negatif bakteriler sorumlu (*Klebsiella pneumoniae*, *Eschericia Coli*, *Serratia marcescans*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa*)³

2004-2008 kültür negatif aferez trombosit ile sepsis riski 1:68697 ünite (n=26) ve ölüm 1:446535 ünite (n=4) bildirilmektedir⁴

1. Lindholm PF, et.al, *Infectious Disorders-Drug Targets*, 2011, 11, 45-56. 2. Ness P, et al, *Transfusion* 2001, 41(7), 857-51.
3. Niu MT, et.al. *Transfusion Medicine Reviews*, 2006, 20(2), 149-157. 4.Eder AF, et al, *Transfusion*, 2009, 28.

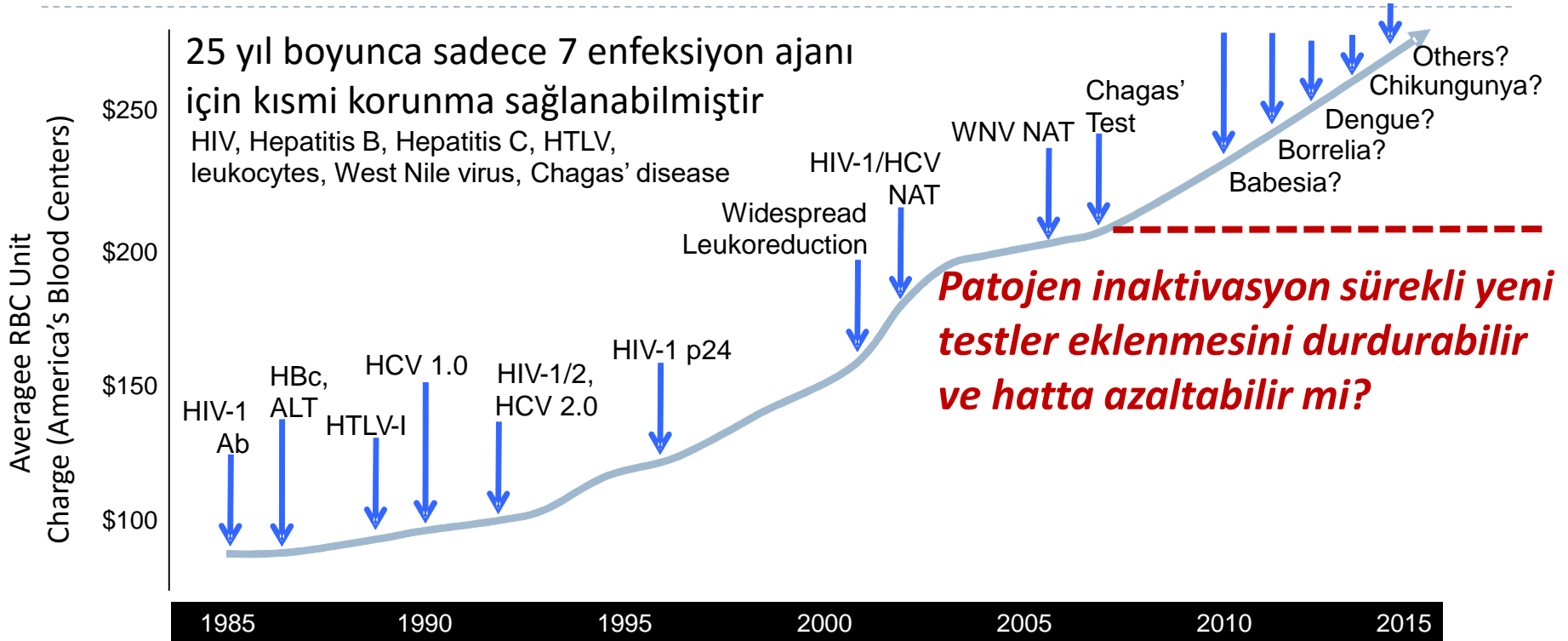
Transfüzyonla ilişkili enfeksiyonlarda risk ve klinik sonucun belirleyicileri

- ▶ Transfüzyon sayısı
 - ▶ Daha fazla transfüzyon alan hastalarda risk daha yüksektir
- ▶ Kan ünitelerine yeni ve saptanmamış bir enfeksiyon etkenin girdiği zaman yapılan transfüzyonlar
 - ▶ Daha uzun süre transfüzyon alan hastalarda risk daha yüksektir

Klinik sonucu etkileyen faktörler:

- Hastanın beklenen yaşam süresi
- Olumsuz klinik sonuca yatkınlığı yüksek hastalar

Güvenlik yaklaşımı pahalı yeni testlerin devamlı eklenmesini gerekli kılar



Bu ajanlar için rezidüel riskler halen vardır ve yeni patojenler halen kan komponentlerinin kontaminasyonundan sorumludur

Patojen inaktivasyon teknolojileri

- ▶ İnsan kaynaklı hücresel kan bileşenlerinin 'steril' üretimi için cazip bir yaklaşımdır
- ▶ Kan güvenliğini tehdit eden yeni veya yeniden ortaya çıkan patojenlere karşı pro-aktif ve daha global bir önlemi sağlayabilir
- ▶ Kan donörlerini enfeksiyon riski nedeniyle ret politikasını ve böylece kan stoklarının felç olma riskini ortadan kaldırabilir
- ▶ Giderek artan yeni tarama testlerine ciddi bir alternatif olabilir

- Tarihsel olarak hücresel olmayan ürün (plazma) patojen inaktivasyonu
 - Solvent Detergent (SD): büyük plazma havuzları
 - Methylene Blue (MB): tek ünite plazma
- Yeni patojen inaktivasyon teknolojileri (plazma, eritrosit ve trombositler)
 - S59-UVA (INTERCEPT) *Cerus*
 - S-303 (INTERCEPT) *Cerus*
 - Riboflavin-UV (Mirasol) *Terumo*
 - UV-C (Theraflex) *Macopharma*

Patojen İnaktivasyon Teknolojilerinin Lisansı için gerekli prosedürler

- ▶ Farmakokinetik ve toksikoloji çalışmaları
- ▶ Transfüzyonla geçen patojenler için invitro inaktivasyon çalışmaları
- ▶ Uygun saklama koşullarında invitro kalite çalışmaları
- ▶ Sağlıklı gönüllülerde, transfüzyon sonrası invivo ‘recovery’ ve ‘survival’ çalışmaları
- ▶ İlgili hasta popülasyonlarında güvenlik ve etkinlik için klinik çalışmalar



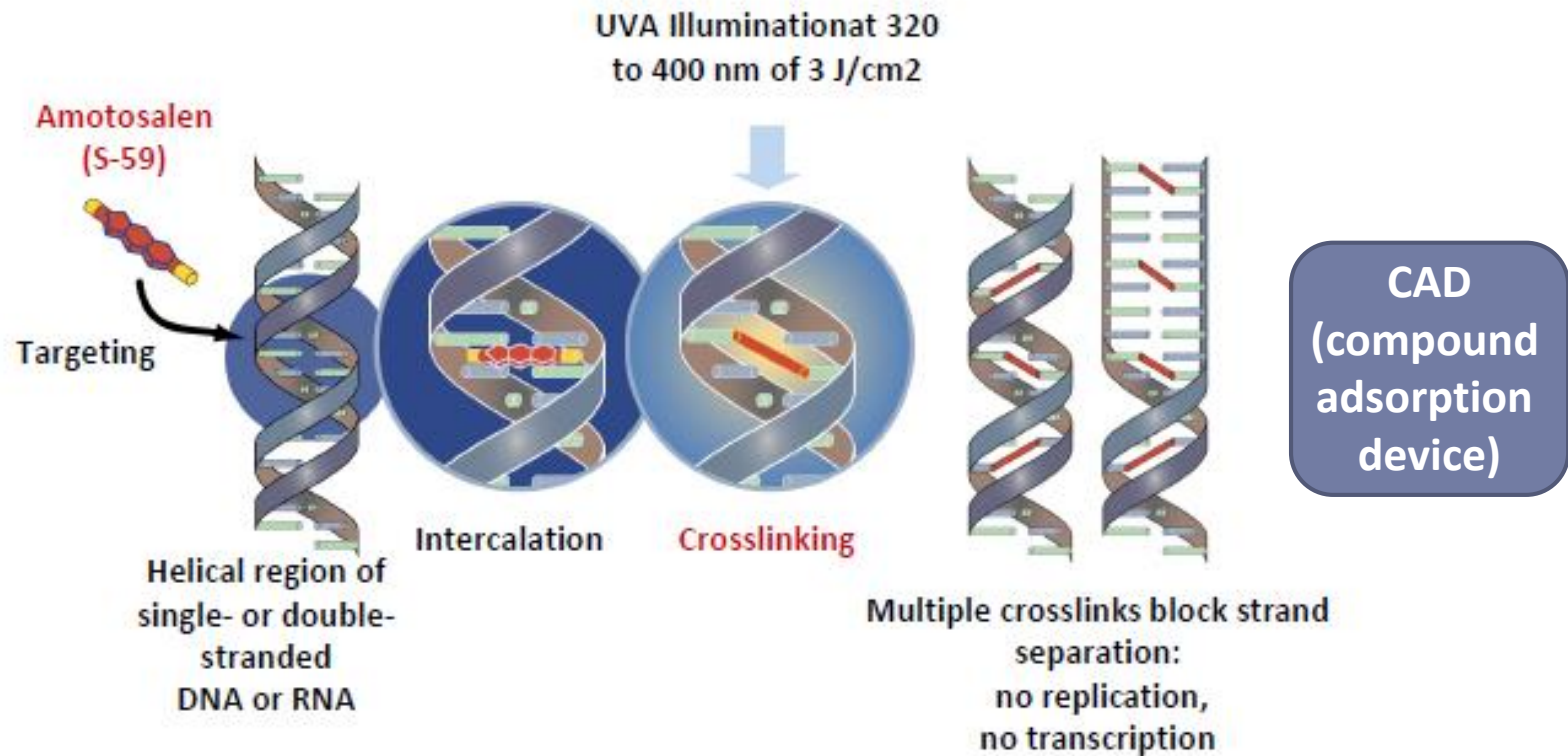
PI-Trombosit süspansiyonu: Toksikoloji çalışmaları

Toxicology	INTERCEPT S59-UVA	Mirasol Riboflavin-UV	Theraflex UVC
Acute toxicology	✓	✓	Toksikolojik çalışma gereği yok
Repeated dose	✓	✓	
General pharmacology	✓	gereksiz	
Reproductive toxicology	✓	✓	
Genotoxicity	✓	✓	
Carcinogenicity	✓	gereksiz	
Neonatal toxicology	✓	✓	
ADME* studies	✓	✓	
Occupational safety	✓	✓	
Neo-antigen formation	none	none	none

* Absorption, distribution, metabolism, elimination

► Intercept ve Mirasol rutin kullanımda ancak Theraflex henüz faz I çalışmasını tamamladı

INTERCEPT Trombosit: Etki mekanizması



Trombosit için Patojen İnaktivasyon Teknolojilerinde invitro inaktivasyon çalışmaları (*zarflı ve zarfsız viruslar*)

	INTERCEPT	riboflavin	UVC
HIV	>6.2	5.9	1.4
HBV	>5.5	(2.3)	
HCV	>4.5	(3.2)	-
WNV	>6.0	>5.1	5.4
SAR-CoV*	>5.8	-	-
Influenza	>5.9	(>5.0)	>5.3
Chikungunya	>6.4	2.1	-
DHBV (HBV model)	>6.2	-	-
BVDV (HCV model)	>6.0	5.8	>6.3
HAV	0	(1.8)	-
Parvo B19	3.5 to >5.0	(>5.0)	(5.46)
Adeno 5	>5.9	-	-
Calicivirus	1.7-2.4	-	-
Blue tongue	6.1-6.4	-	-
HIV	> 6.1	4.5	-
HTLV-I	4.7	-	-
HTLV-II	5.1	-	-
CMV	> 5.9	-	-



Trombosit için Patojen İnaktivasyon Teknolojilerinde etkinlik (*gram pozitif bakteri*)

	INTERCEPT	riboflavin	UVC
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	>6.6	4.2	4.8
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.6	4.0 (90% effectiveness)	>4.8
<i>Streptococcus pyogenes</i>	>6.8	2.2	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	>6.3	-	-
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	>6.3	-	-
<i>Bacillus cereus</i> (vegetative)	>6.0	1.9	>4.3
<i>Lactobacillus</i> sp.	>6.4	-	-
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	>6.2	-	-
<i>Propionibacterium acnes</i>	>6.2	>2.0	>4.5
<i>Clostridium perfringens</i>	>6.5	-	>4.7



Trombosit için Patojen İnaktivasyon Teknolojilerinde etkinlik (*gram negatif bakteri, spiroket ve parazitler*)

	INTERCEPT	riboflavin	UVC
<i>Escherichia coli</i>	>6.4	4.4	>4.0
<i>Serratia marcescens</i>	>6.7	4.0	>4.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>5.6	2.8	4.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.5	>4.6	>4.9
<i>Salmonella choleraesuis</i>	>6.2	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	>5.9	3.3	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	5.9	>2.0	>4.3
<i>Treponema pallidum</i>	>6.8	-	-
<i>Borrelia burgdorferi</i>	>6.8	-	-

	INTERCEPT	riboflavin	UVC
<i>Plasmodium falciparum</i>	>6.0	>3.2	4-5
<i>Trypanosoma cruzi</i>	>5.3	>6.0	-
<i>Babesia divergens/microti</i>	>5.3	>4.0	-
<i>Leishmania mexicana</i>	>5.0	-	
<i>Leishmania d. infantum</i>		>4.0	>1.4
<i>Leishmania major</i>	>4.3	>5.0	



INTERCEPT Plazma: Koagulasyon faktörleri konvansiyonel plazma ile benzer bulunmuştur

Factor (%)	FFP	INTERCEPT
Fibrinogen (g/l)	2.6 – 3.4	2.2 (N=186)
Factor II	88 - 114	93
Factor V	84 - 100	122
Factor VII	87 - 100	90
Factor VIII	85 - 112	97
Factor IX	93 - 98	79
Factor X	94	96
Factor XIII	114 - 133	110
ATIII	93 - 103	94
Protein C	81 - 108	101
Protein S	78 - 111	105
A2-antiplasmin	99 - 101	82
VWF	113	95

INTERCEPT Plazma: Etkinlik ve güvenliği konvansiyonel plazmalar ile benzer bulunmuştur

Phase I/II, 2 trials
42 healthy subjects

Phase 1
Amotosalen Kinetics
N = 15

Phase 2
Warfarin Reversal
N = 27

Phase II/III, 4 trials
203 patients / 5,000 units

Phase 2 Acquired
Coagulopathy –Pilot
N = 13

Phase 3A
Congenital
Coagulopathy
N = 34

Phase 3B
Acquired
Coagulopathy
N = 121

Phase 3C
TPE – TTP
N = 35

Post Marketing

Acquired
Coagulopathy
Liver Transplant
N = 427




Acquired
Immune TTP
N = 31

INTERCEPT Trombosit: Etkinlik ve güvenliği


- Invitro çalışmalar:
 - Hasarlı endotelde adezyon ve agregasyon fonksiyonları 7 güne kadar korunur
- Sağlıklı gönüllülerde 'recovery' ve 'survival' çalışmaları:
 - INTERCEPT trombositlerin 'recovery'i kontrol trombositlere göre daha düşük (%42.5 vs %50.3)
 - INTERCEPT trombositlerin 'survival'ı kontrol trombositlere göre daha düşük (4.8 vs 6.0 gün)

INTERCEPT Trombosit: Klinik Çalışma Verileri

INTERCEPT Blood System

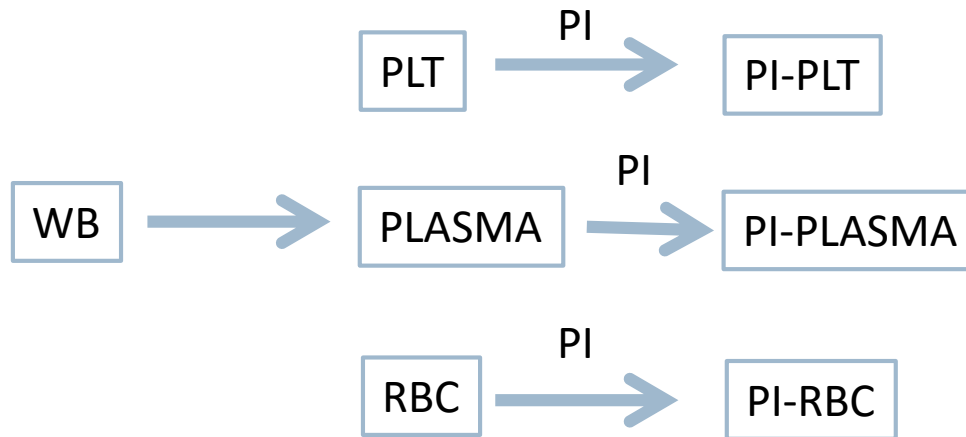
Clinical Study	# of "Test" Txns /Patients	Study Design	Primary Endpoint	Met Endpoint?
SPRINT, Apheresis ¹	2,678/318	Randomized, double-blind, parallel	Incidence of ≥ Grade 2 bleeding	
IPTAS, Buffy Coat ²	701/113	Randomized, single-blind, parallel	Incidence of ≥ Grade 2 bleeding	Terminated/ Inconclusive
TESSI, 7-Day, Buffy Coat ³	~100/101	Randomized, double-blind, parallel	1 hour CCI	
euroSPRITE, Buffy Coat ⁴	390/52	Randomized, double-blind, parallel	1 hour CCI	

- **Randomize kontrollü çalışmalarda:**
 - ✓ 1-saat CCI INTERCEP ve konvansiyonel trombosit benzer
 - ✓ 24-saat CCI INTRECEPT trombositte, konvansiyonel trombosit göre anlamlı azalır
 - ✓ Ancak hemostatik kapasitesi korunur ve kanama artmaz

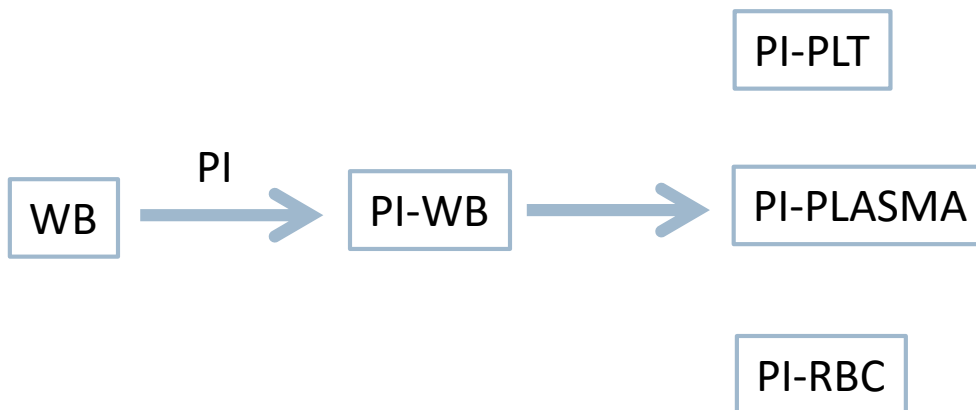
7-Day Storage Pilot, BC ⁹	20/9	Randomized, double-blind, cross-over	1 hour CCI	No
IPTAS, Apheresis ²	461/99	Randomized, single-blind, parallel	Incidence of ≥ Grade 2 bleeding	Terminated/ Inconclusive
MIRACLE, Apheresis, BC ¹⁰	303/56	Randomized, prospective, cross-over	1 hour CCI	No
PRESS, Buffy Coat ¹¹	~20/12	Randomized, double-blind, parallel	Thromboelastogram, CCI	

Mirasol

Patojen inaktivasyon (PI) teknolojileri



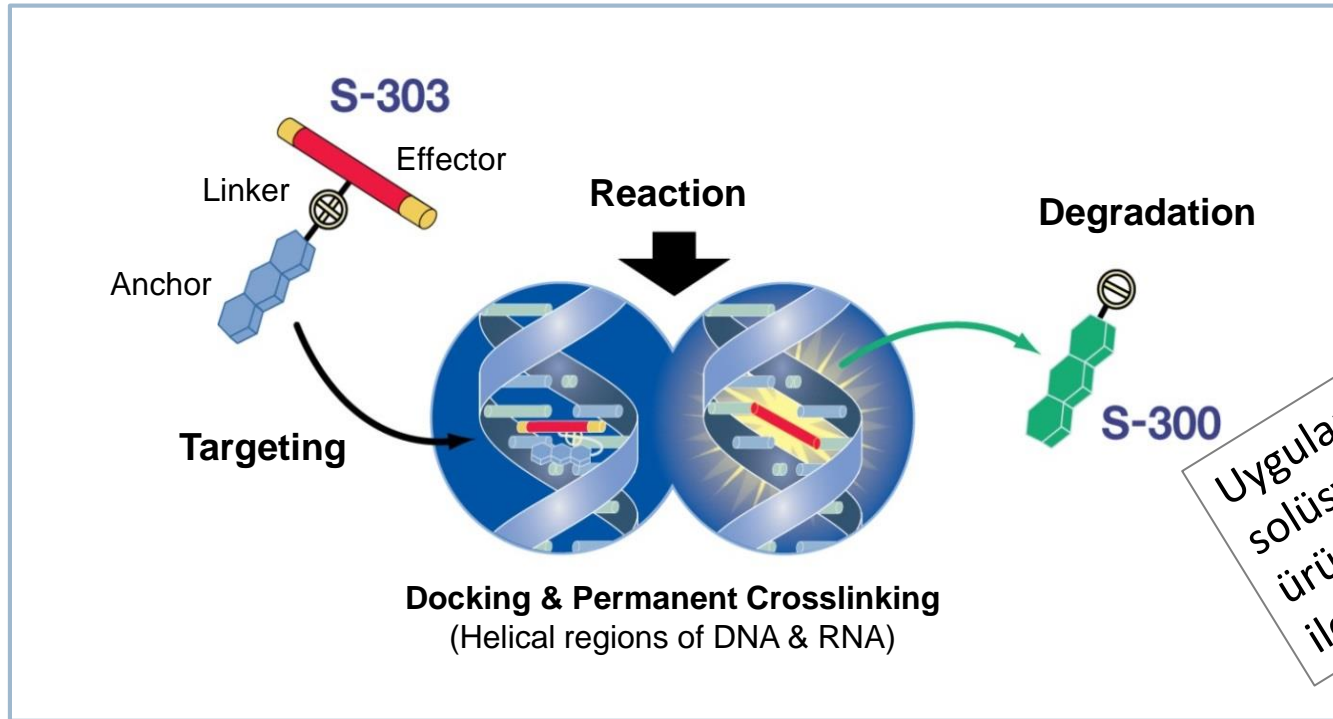
*Kimyasal inaktivasyon
S-303 & GSH
(ilave cihaz gerekmez)
INTERCEPT Sistem/CERUS*



*Fotokimyasal inaktivasyon
Riboflavin & UV light
(UV illuminator gerekir)
Mirasol Sistem/TerumoBCT*

INTERCEPT RBC; Etki mekanizması

- S-303 (0.2 mmol/L) efektör olarak bir alkilleyici ajanla ilişkili nükleik aside bağlanan bir ligand'dan ibarettir. Bu bileşik, nükleik asit ile kovalan bağlar oluşturur ve DNA/RNA'ı inaktive eder.
- Glutatyon (GSH, 20 mmol/L) efektörün diğer biyolojik maddelerle reaksiyona girmesini önler



Uygulamada kullanılan solüsyonlar ve yıkım ürünleri santrifügasyon ile uzaklaştırılır

Eritrosit için Patojen İnaktivasyon Teknolojilerinde etkinlik

Kan güvenliği açısından nihai hedef tüm virus, bakteri, parazit ve her tür çoğalan yapının inaktivasyonudur

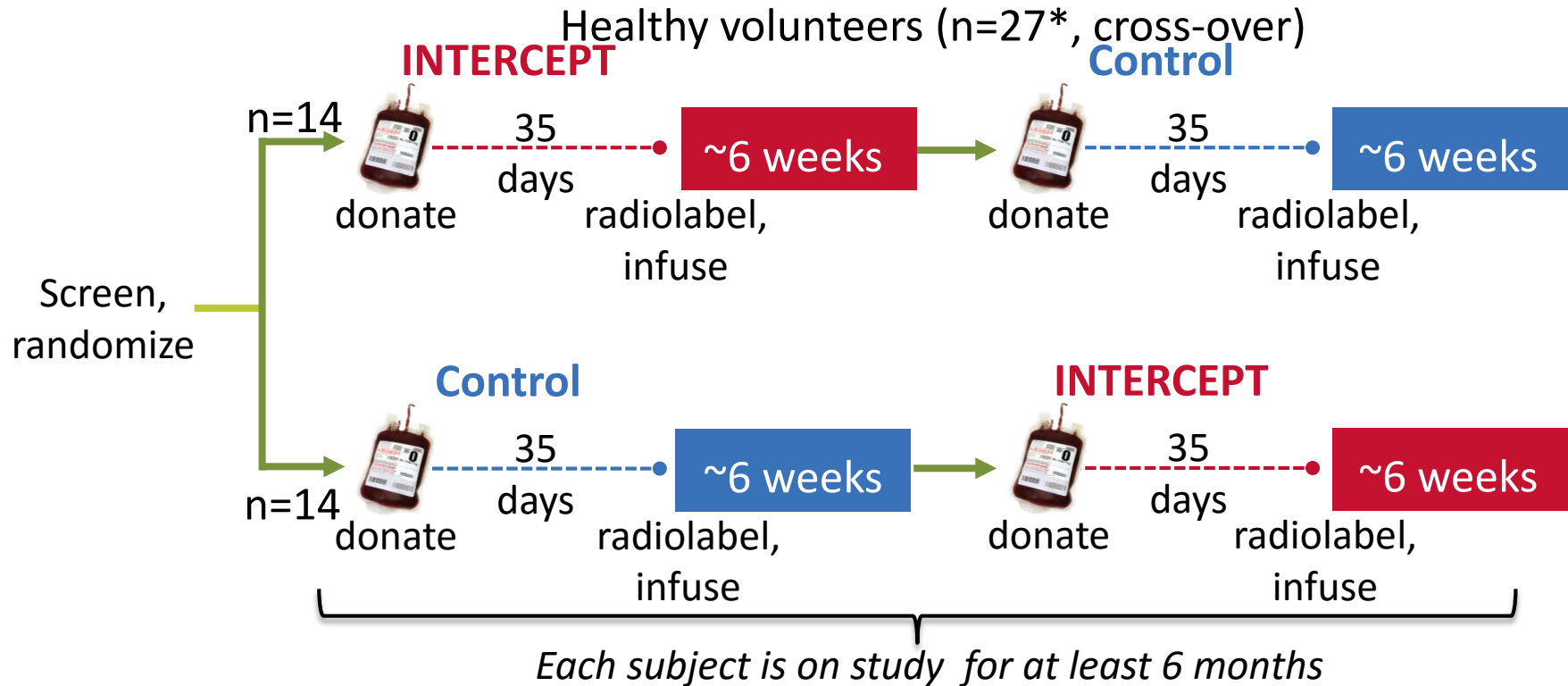
Pathogen	Mean log reduction		Pathogen	Mean log reduction	
	S303-GSH	Ribo-UV		S303-GSH	Ribo-UV
HIV-1/2 cell free	>6.5	Optik olarak eritrositlerde etkinliği düşük	B. microti	>5.5	Optik olarak yoğun eritrositlerde UV dağılım etkinliği daha düşük
HIV-1/2 cell ass.	>5.9		P. falciparum	>6.8	
PI teknolojilerinin sınırlılıkları: Prion'lar, HAV&HEV'de PI'a intrensek direnç Virusların aşırı yüksek titreleri: HBV, PB19					
HSV		Optik olarak eritrositlerde etkinliği düşük	Serratia spp.	5.1	Optik olarak yoğun eritrositlerde UV dağılım etkinliği daha düşük
WNV	>6.0		P. aeruginosa	4.5	
SARS	>6.5		E. coli	7.4	
Adenovirus	>7.4		S. aureus/epid.	>5.1/>6.9	
Bluetongue	≥6.0		L. monocytogenes	>7.1	
WBCs	>5				

INTERCEPT RBC: toksikoloji çalışmaları

Toxicology	INTERCEPT S-303 RBC
Acute toxicology	✓
Repeated dose	✓
General pharmacology	✓
Reproductive toxicology	✓
Genotoxicity	✓
Carcinogenicity	✓
Neonatal toxicology	✓
ADME* studies	✓
Occupational safety	✓
Neo-antigen formation	open

* Absorption, distribution, metabolism, elimination

INTERCEPT RBC: Recovery & Survival çalışmaları

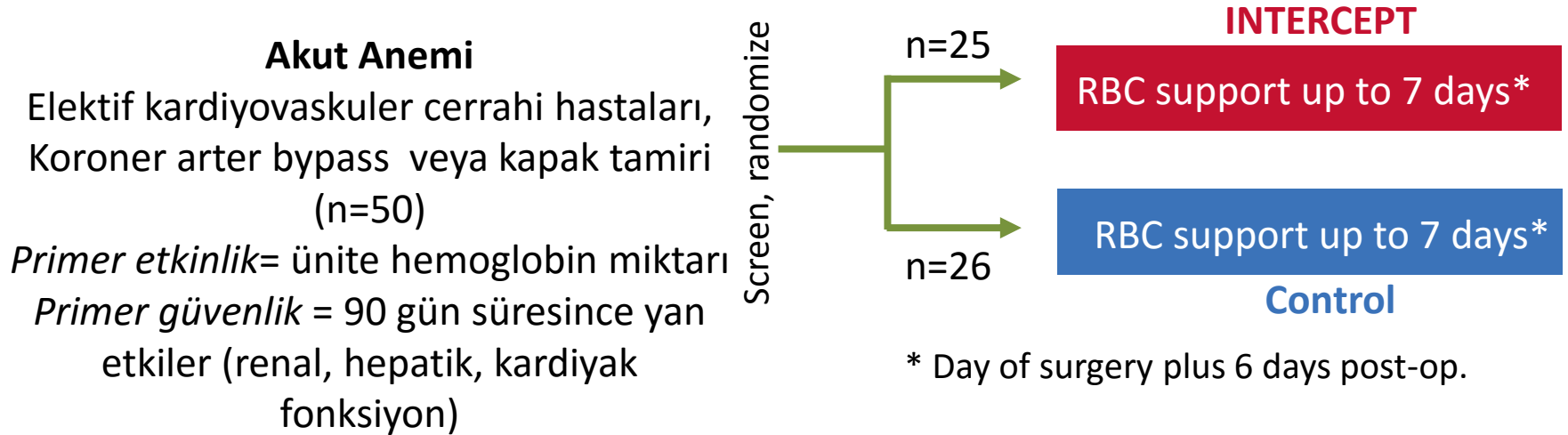


	Test	Control
24-hour Recovery (%)	88.0 ± 8.5	90.1 ± 6.9
Median Lifespan (T ₅₀ , days)***	32.8**	39.5
AUC (% of cells surviving)	22.0*	23.9

* p<0.05, ** p<0.001 ***reference range of RBC lifespan is 32-37 days

2. jenerasyon INTERCEPT RBC ile klinik program

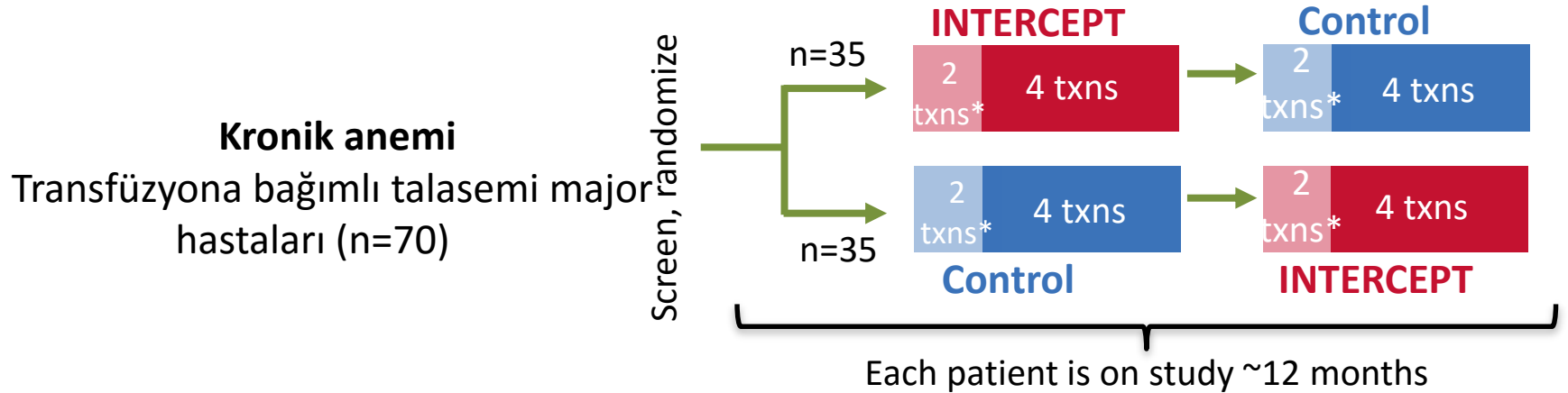
EU, Faz III, Akut çalışma



Çalışma birincil etkinlik amacını karşıladı ve her iki kolda yan etki profili benzerdi

2. jenerasyon INTERCEPT RBC ile klinik program

EU, Faz III, Kronik Çalışma



Primer etkinlik: gözlem süresince kilogram vücut ağırlığı başına günlük hemoglobin tüketimi (total g Hb/Kg/gün), ve kilo başına günlük tüketilen (100% Hct) RBC (cc/Kg/gün)

Primer güvenlik: Klinik olarak eritrosit klirensini anlamlı arttıran S-303 spesifik yeni antikor gelişimi insidansı

İkincil güvenlik: Yan etkiler, akut (ilk 24sa) transfüzyon reaksiyonları, RBC alloimmunizasyon sıklığı



*Patients receive 2 wash-in transfusions followed by 4 transfusions of INTERCEPT or control

Patojen inaktivasyonun potansiyel yararları

Transfüzyon ilişkili graft versus host hastalığı(TA-GVHD)

- ▶ Hemen daima fatal
- ▶ Donör T lenfositlerinin inaktivasyonu ile önlenir
- ▶ Halen gamma-irradiasyon ile sağlanıyor
 - ▶ Eritrosit membran hasarı; akut/geç hemoliz
 - ▶ Na-K pompa hasarı; eritrositlerden K kaçağı
 - ▶ Post-irradiasyon saklama süresi 28 günle sınırlı

- PI teknolojileri WBC and T lenfositleri inaktive ederek gamma-irradiasyonun yerini alabilirler
- INTERCEPT-eritrositler, irradiye eritrositlere göre daha düşük hemoliz, ekstraselüler K ve daha iyi invitro fonksiyona sahip bulunmuştur

Patojen inaktivasyonun potansiyel yararları

RBC allo-immunizasyon

- ▶ Talasemi hastalarında çalışmalar, lökosit azaltılmış RBC ve allo-immunizasyon arasında ilişki olduğunu bildirmektedir.
 - ▶ Ancak bu çalışmalarda yetersiz örneklem büyüklüğü ve potansiyel olarak katkı sağlayabilecek faktörlerin varlığı nedeniyle kesin bir sonuca ulaşamamıştır.
- Pl'nun donör WBC'nin immunolojik etkilerini önlediği bilinmektedir.
 - Pl teorik olarak eritrosit allo-immunizasyonunu önleyebilir
 - Bu bakımdan klinik programda RBC allo-immunizasyon oranlarının ölçümü önemli olacaktır.

Pl, HSCT adayı hastalarda HLA allo-immunizasyonunu da önleyebilir

Özet

Patojen inaktivasyon teknolojileri

- Transfüzyonla geçtiği bilinen patojenleri elimine eder (HIV, HCV, HBV, HTLV, WNV, CMV, sifilis and Babesia)
- Kan güvenlik standardını reaktiften proaktife çevirir ve yeni ortaya çıkan ya da varlığı bilinmeyen ancak kan ürünlerini enfekte edebilecek infeksiyon etkenlerine karşı sigorta sağlar
- Seyahat nedeni retleri kaldırabilmesi, donör havuzu üzerinde önemli katkı sağlar
- TA-GVHD korunma sağlayabilir ve HLA ve eritrosit allo-immunizasyonunu azaltabilir



Transfusion Process

