

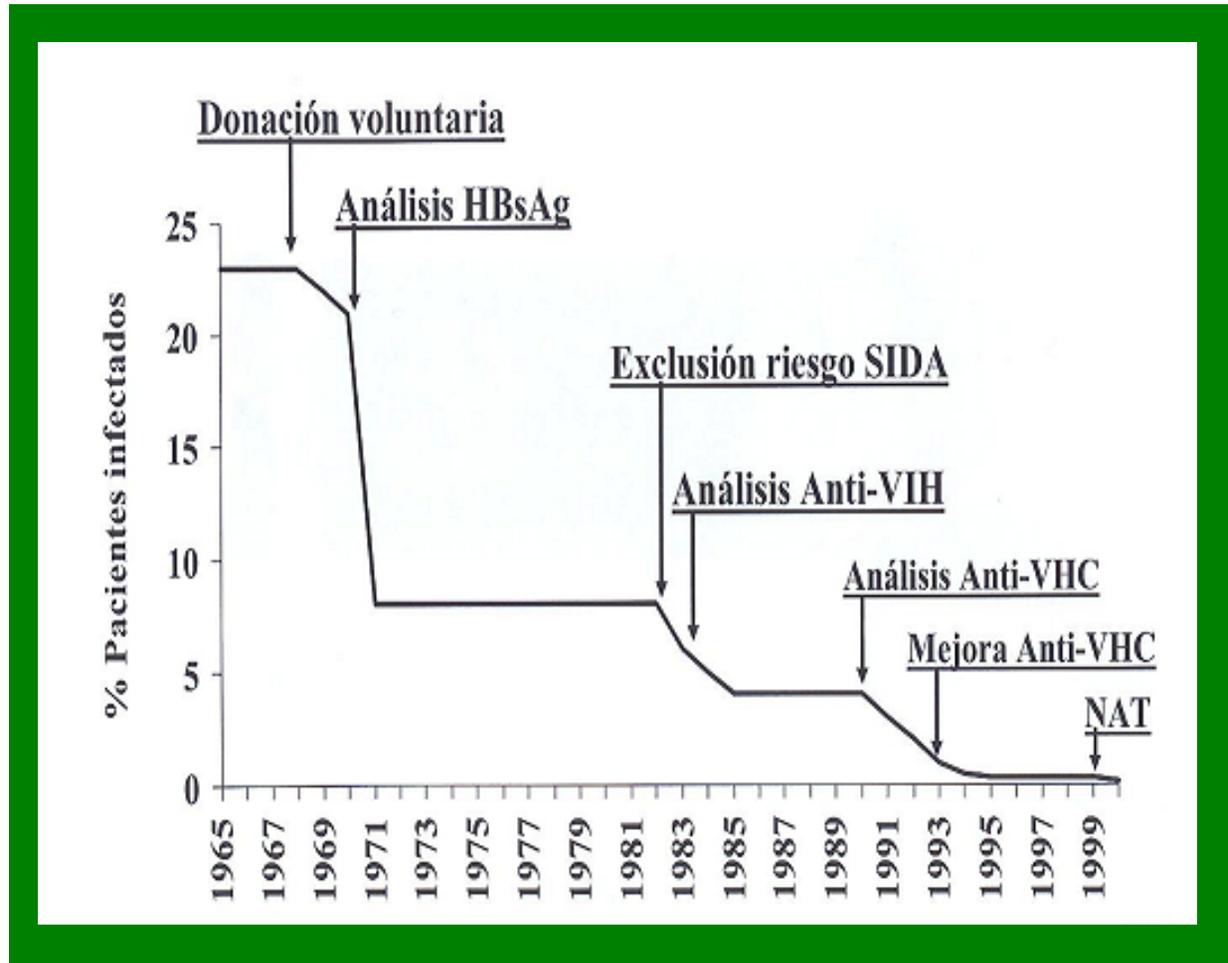
LA SEGURIDAD EN TRANSFUSIÓN Y EN LOS DERIVADOS PLASMÁTICOS

Dra. Elena Franco
Centro Regional de Transfusión Sanguínea
de Sevilla-Huelva

Valoración del riesgo transfusional ante un determinado virus transmisible conocido

- Prevalencia en la población
- Niveles de seroconversión
- Periodo ventana

Evolución de la transmisión de enfermedades infecciosas por transfusión

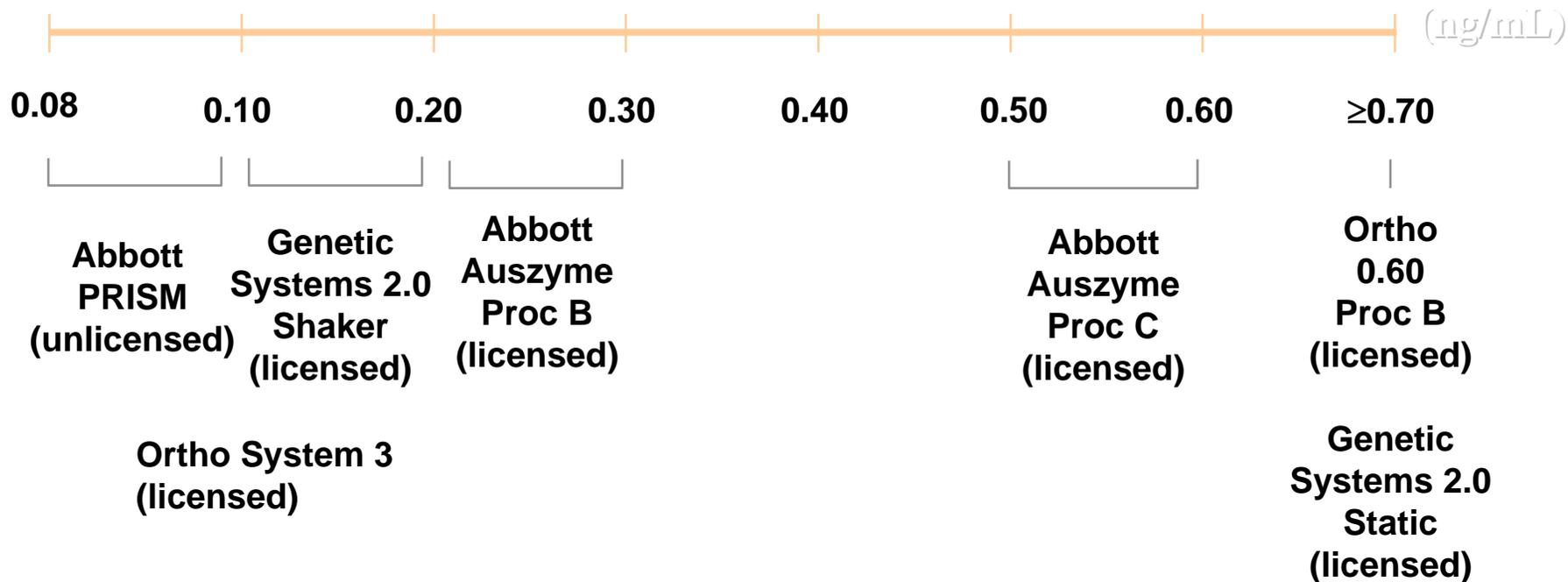


HIV. Evolución del periodo ventana



- 1985 – 1987 56 días
- 1988 – 1990 42 días
- 1991 – 1992 33 días
- 1993 – 1994 22 días
- Ag HIV 16 días
- PCR RNA 11 días

Differential Sensitivity of HBsAg Assays Using Purified Standards *



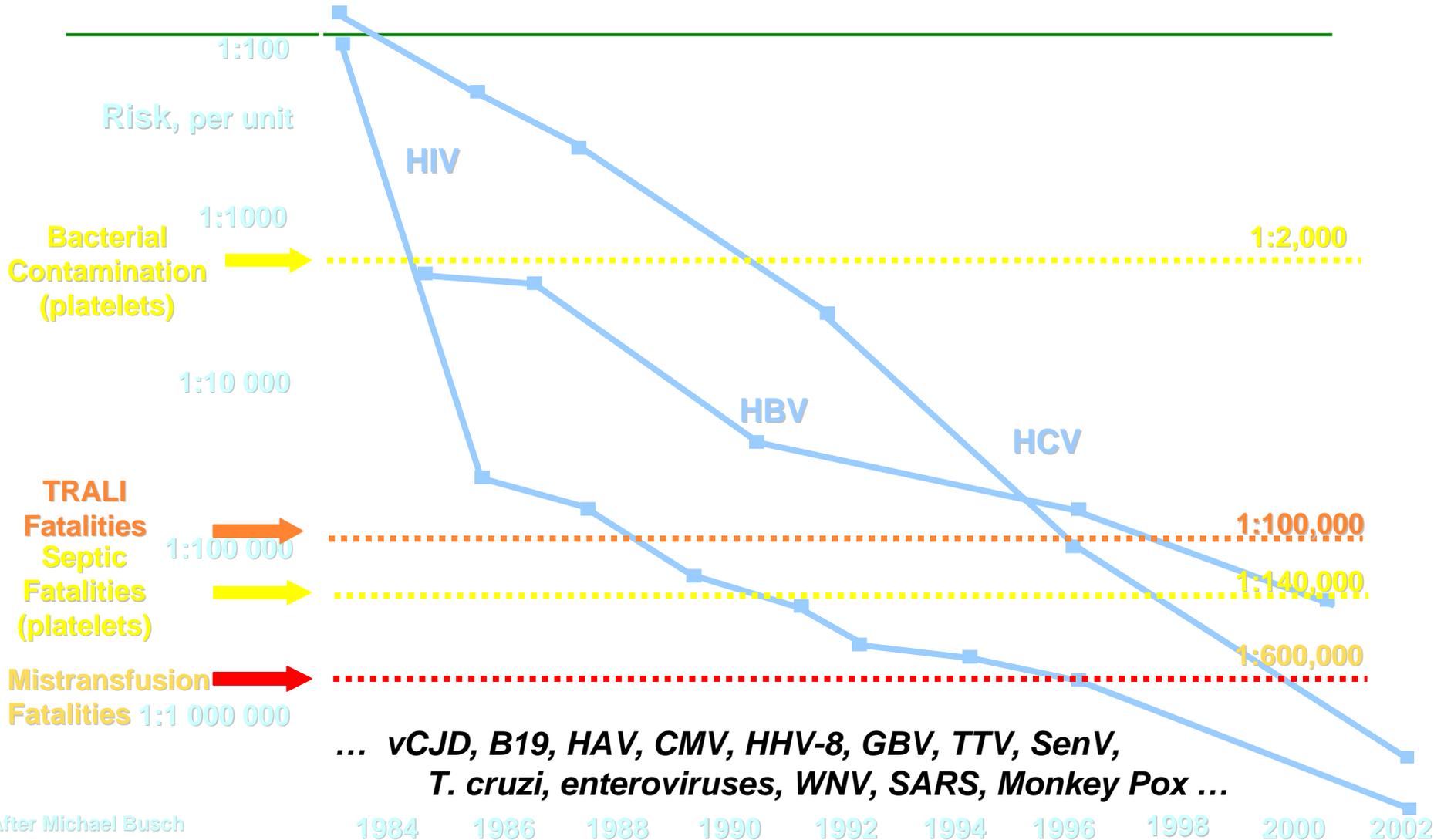
Susan Stramer, ARC

Estrategias para incrementar la seguridad transfusional

- ✓ Tipo y selección del donante
- ✓ Sensibilidad de los test
- ✓ Formación del personal
- ✓ Automatización de procesos, como forma de evitar errores
- ✓ Controles de calidad ⇒ garantía de calidad
- ✓ Transfusión según criterios estrictos
- ✓ Vigilar la introducción de nuevos agentes infecciosos
- ✓ Test de biología molecular
- ✓ Leucoreducción
- ✓ Inactivación
- ✓ Industria fraccionadora:
 - Procesos de inactivación asociados
 - Los propios procesos de fraccionamiento

Evolution of Transfusion Risks

redefined expectations and emerging agents



Estimación del riesgo de infección transfusional (por cada 10.000.000 donaciones)

Virus	Periodo Ventana	Variantes	Seroconver. atípica	Error de laboratorio	Total
VIH	15 (93'7%)	< 0'6(< 3'7%)	< 0'1(<0'6%)	0'4 (2'5%)	16
VHC	80	<1	7'8	11'2	100
VHB	106 (97%)	0	1 (0'91%)	2 (1'83%)	109
HTLV	15 (93'7%)	<1	1 (6'2%)	0'8 (5'1%)	16
Total	216 (89%)	<1	10 (4'1%)	14 (5'8%)	241

216/10.000.000 ~ 1/50.000

¡plasmaderivados!

Busch MP.Transfusión

Normativa de la Industria Fraccionadora Europea

Julio 1999

Agencia Europea de Evaluación de productos médicos a través del Comité de productos medicinales



Obligatoriedad de producir hemoderivados plasmáticos con plasma no reactivo a RNA VHC mediante pruebas Amplificación Genómica (NAT)

Test de Ácidos Nucleicos (NAT)

- Basados en amplificación de secuencias de ácidos nucleicos. Tienen alta sensibilidad y especificidad
- Detectan DNA y RNA del agente etiológico, independientemente de la respuesta inmune
- Capaces de detectar un pequeño nº de copias

Contribución de las Técnicas NAT a la seguridad transfusional

- Cuando existe un n^o importante de donantes nuevos (incidencias entre 2 y 4 veces superiores)
- Con donantes de repetición, la contribución del NAT depende de la incidencia de seroconversión.

Periodos ventana

VHC	29 días
HIV	10-12 días
VHB	7-10 días

Normativa de la Industria Fraccionadora Europea

Julio 1999

Agencia Europea de Evaluación de productos médicos a través del Comité de productos medicinales



Obligatoriedad de producir hemoderivados plasmáticos con plasma no reactivo a RNA VHC mediante pruebas Amplificación Genómica (NAT)

Estudio multicentrico PCR-VHC

España. Primavera 1999

- 6 centros de diferente volumen de procesamiento
- Conclusiones definitivas tras 300.000 análisis



- Es posible su implementación en Bancos de Sangre si se realizan cambios logísticos.

Tras demostrar su adaptabilidad a la rutina de B de S

Junio 2002. ORDEN 1847/2002, que establece la obligatoriedad de realizar técnicas de determinación genómica para, VHC en donaciones de sangre.

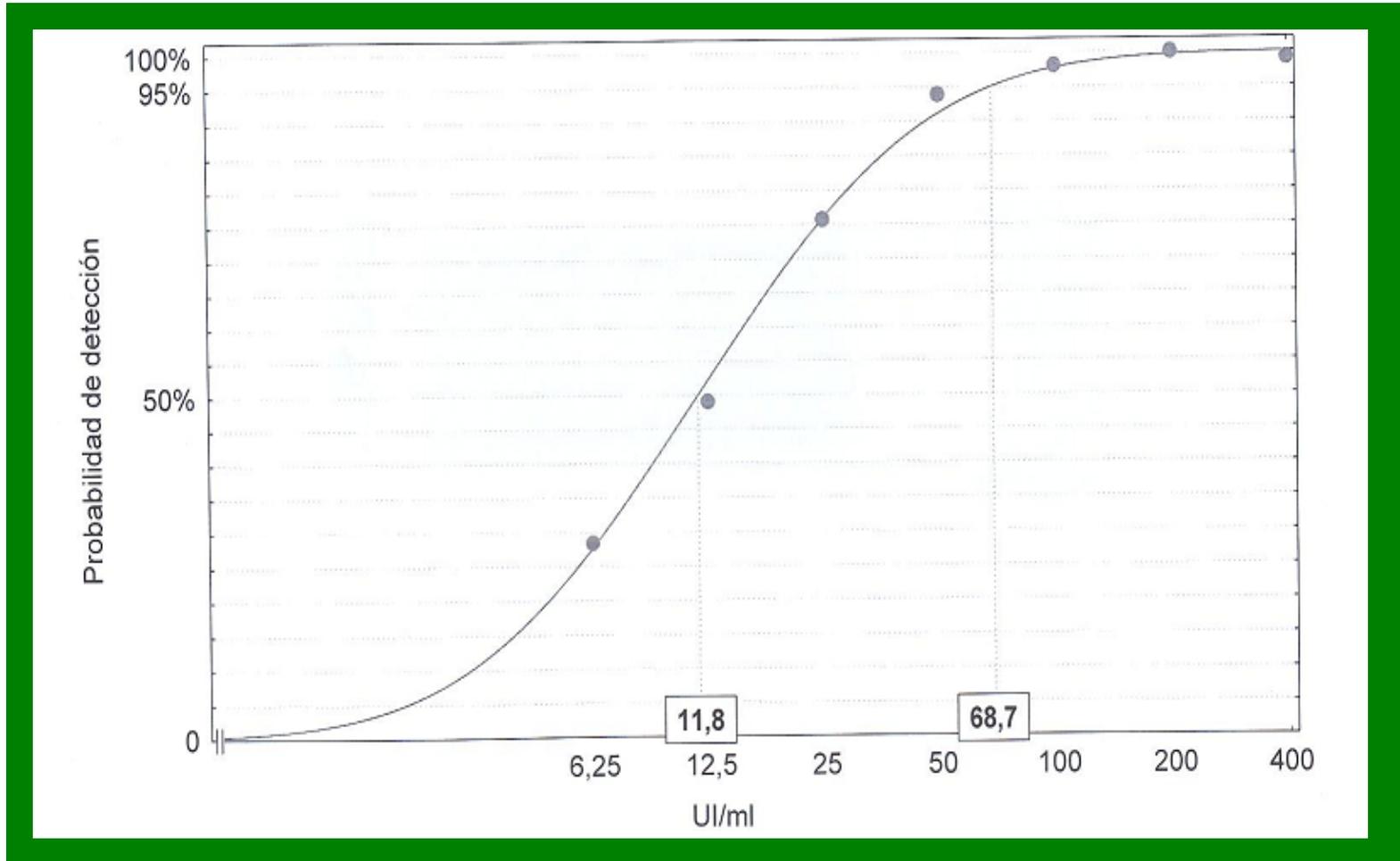
Recomendación para realizarlas en VIH (2006) a la vista del incremento de prevalencia y posteriormente VHB ante la prevalencia relativamente elevada en España

Tejidos y cordones umbilicales

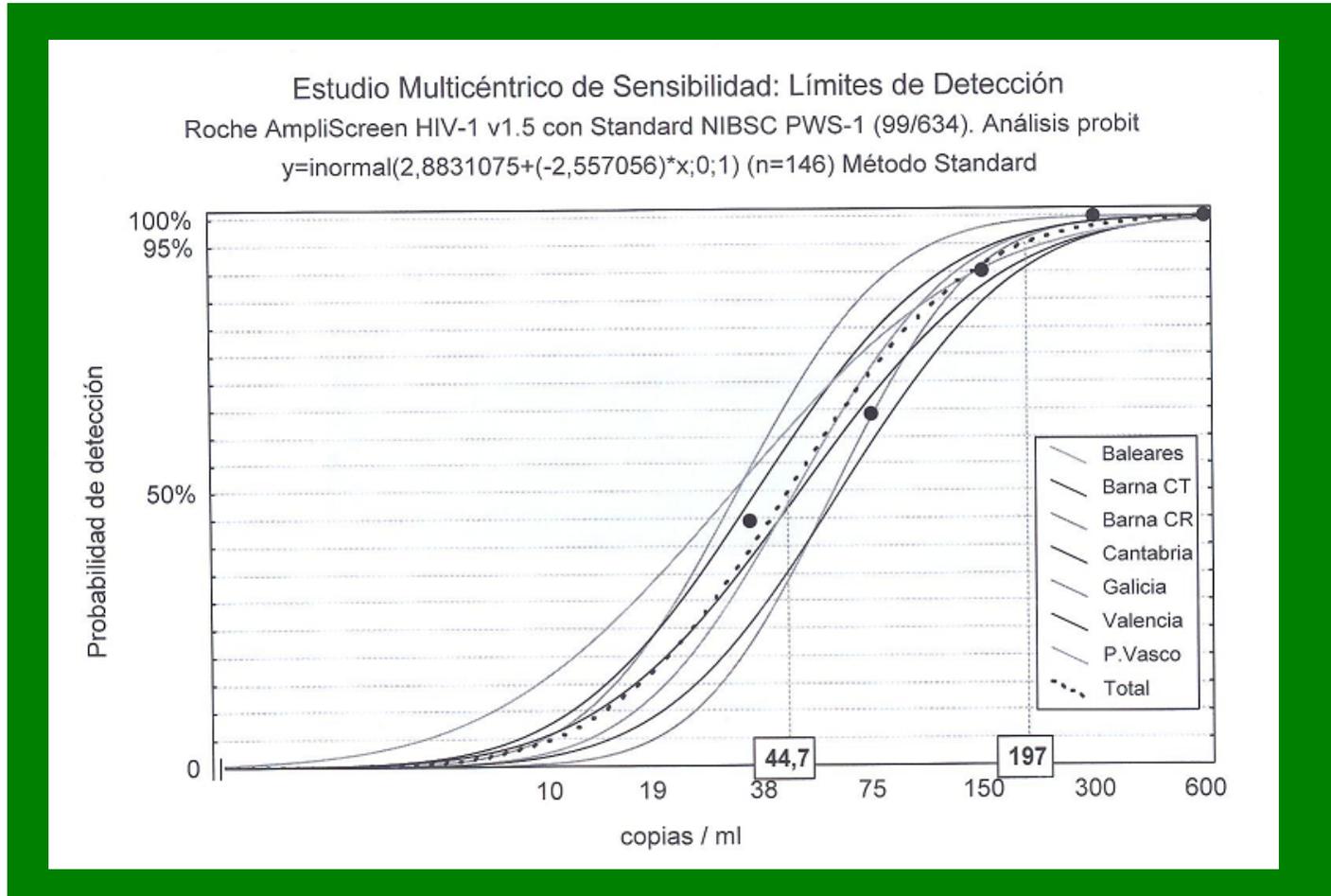
Estudio Multicéntrico de Sensibilidad

Roche AmpliScreen HCV v2.0 con Standard NIBSC 96/790

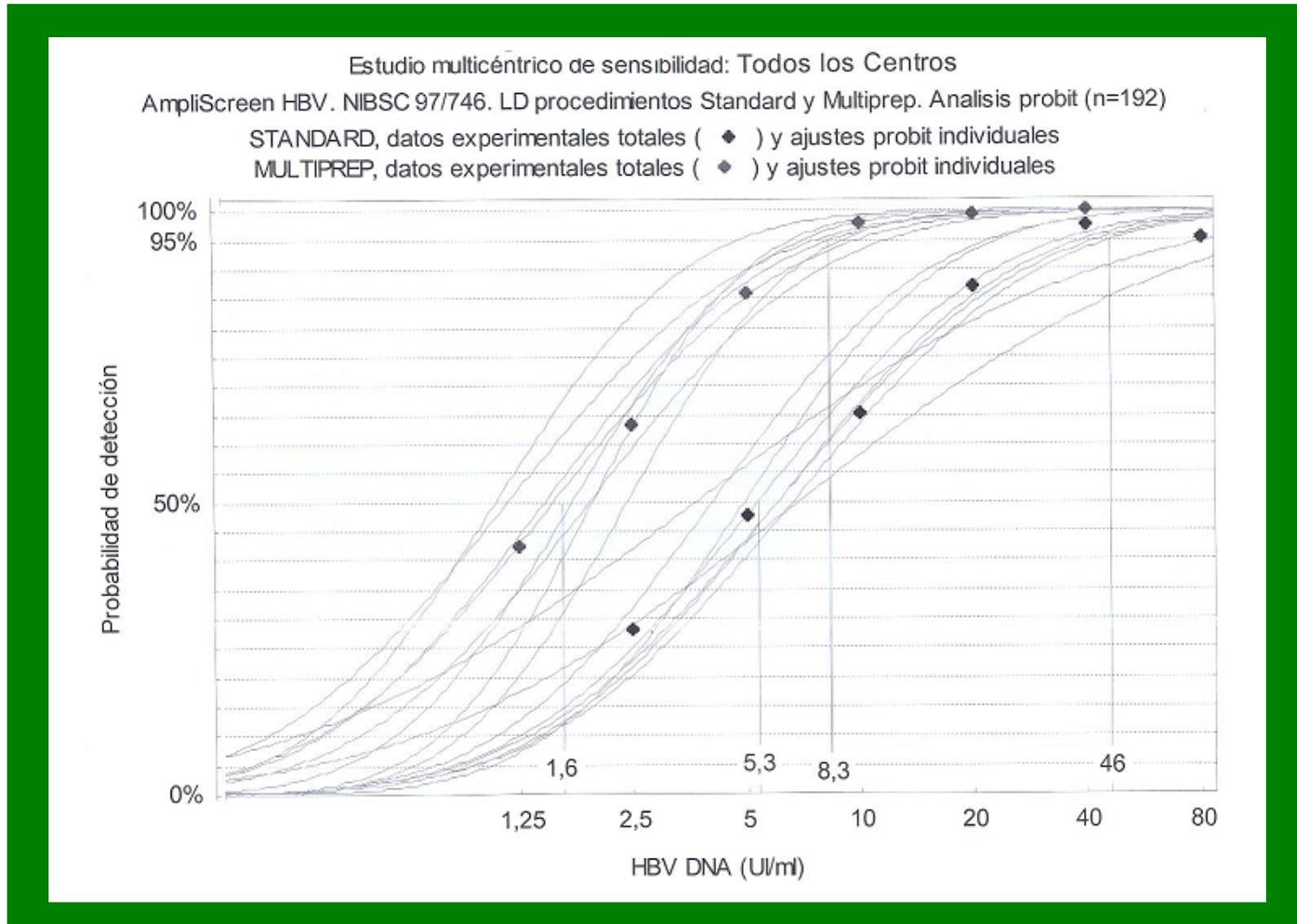
$y = \text{inormal}(3,2890465 + (-2,148774) * x; 0; 1)$



Resultados ensayo multicentrico Ampliscreen HIV 2001. Centros participantes 7



Resultados ensayo multicentrico Ampliscreen HBV 2003. Centros participantes 8



Tasa de incidencias y riesgo residual

Datos	T.I.(x100.000 dntes) 2000-2002	R.R. (Serología)	R.R. (serologia+NAT)
VHC	2'18	1/254.000	1/2.381.000
VIH	4'11	1/403.000	1/806.000
VHB	6'05	1/102.000	1/177.000

Hasta 2007. Rendimiento de las pruebas NAT según los periodos ventanas detectados

>8 millones donaciones analizadas para VHC
>6 millones donaciones analizadas HIV
3 millones donaciones analizadas VHB
80 % donantes habituales

VHC	19 periodos ventana	1/442.000
HIV	11 periodos ventana	1/525.000
VHB	16 periodos ventana	1/165.000

99 Hepatitis B ocultas (1/28.403)

Hasta 2007. Riesgo residual con pruebas de serología más NAT

	Serología + NAT	Acumulado
VHC	7 periodos ventana	1/2.381.000
HIV	11 periodos ventana	1/806.000
VHB	34 periodos ventana	1/177.000

Grupo estudio de Enfermedades Transmisibles. SETS

A destacar

- Reducción importante de riesgo residual
- Alta prevalencia de HB oculta
(2006: 1/43.000 --- 2007: 1/18.515)
- Rendimiento observado para VIH superior al esperado
(2006 estimado 1/806.000 -- observado 1/538.000)
- El rendimiento para VHC es inferior al esperado
(2006 estimado 1/284.000 – observado 1/462.000)

Ventajas de la Automatización

- Simplifica los procesos, ante unas técnicas complejas
- Reduce errores
- Garantiza la máxima sensibilidad y especificidad
- Acorta el tiempo de entrenamiento del personal

A. Productos estables (industriales)

B. Productos lábiles (PFC)

A. Productos Estables



- Plasma
 - Albúmina
 - Factores Coagulación
 - Inmunoglobulinas
 - AT III

Relación entre riesgo infeccioso y tamaño del lote.

Aplicación Terapéutica de Factores del Plasma

1944 Albúmina (E.I.Cohn)

70's Aparecen factores coagulación

Avance en tratamiento de hemofilia



Hepatitis no A no B

1985 hasta 70% de hemofílicos



HIV

Impulso en la búsqueda de concentrados plasmáticos seguros desde el punto de vista infeccioso

A. Productos estables plasmáticos. Métodos de inactivación

- 1944 Albúmina (Cohn)
Pasteurización (60°C;10h)
- 1981 Factores de coagulación
Pasteurización
Calor seco (60-80°C; 72h)
- 1985-86 Solvente detergente
- 1990 Modificación de ambos métodos
Pasos del proceso de manufactura
Tratamiento ácido (pH 4).
S-sulfonación
 β propiolactona
Nanofiltración

Seguridad de los productos plasmáticos

- Albúmina. Fraccionamiento de Cohn
- F.VIII. Crioprecipitación Inicial
Purificación por precipitación
Adsorción y Cromatografía
Solvente detergente
Tratamiento bajo pH
Nanofiltración
- Conc. Plasmáticos Solvente detergente + Calor

Solvente detergente no es activo frente a virus sin envoltura

1. Estudio completo de las características químicas y biológicas del producto inactivado
2. Estudio de la inactivación viral “in vitro”
3. Contrastar los resultados “in vitro” con estudios con animales
4. Estudio en humanos de:
 - Eficiencia
 - Seguridad viral
 - Tolerancia inmunológica

Inactivación por Solvente Detergente

- Procedimiento industrial
- Pool 3.500 -4.000 litros de plasma

Tri (n-butyl) fosfato (TMBP) al 1%

+

Triton x-100 al 1%



Incubación 4h. a 30°C ⇒ **Disrupción de la membrana lipídica viral**



Extracción de aditivos con aceite vegetal y cromatografía inversa.
Filtración estéril.

Reducción actividad de algunos factores de coagulación después de inactivación con S/D

	Control U/ml	Post S/D U/ml	Dif. %
F VIII	0,85	0,65	-23,5
F XI	0,97	0,80	-17,5
F XIII	1,10	0,95	-13,6
FvW	0,96	0,90	-6,2
Proteína C	0,88	0,77	-12,5
Proteína S	1,11	0,60	-45,9
AT III	1,02	0,93	-8,8

P. Hellstern – Vox Sanguinis 92

Inactivación por Solvente Detergente (S/D)

Ventajas:

- Buena eficacia en virus con envoltura
- Buen mantenimiento actividad biológica, salvo:
 - factor VIII
 - Proteína S
 - α_2 antiplasmina
 - Multímeros a p.m. de F.v.W.
- Posibilidad de estandarización por lotes
- Filtración final elimina bacterias y parásitos
- Gran experiencia clínica desde 1.991

Desventajas:

- Posible contaminación por virus sin envoltura

Medidas Actuales para la Seguridad I

- Mejoras y avances en los procesos productivos
- Asociación de métodos de inactivación
- Controles efectuados en la materia prima
- Validación de todas las modificaciones introducidas en los procedimientos con estudios de inactivación.

Medidas Actuales para la Seguridad II

1. Inspección de los centros proveedores de plasma
 - * Selección de donantes
 - * Prevalencia de marcadores en donantes e incidencia de seroconversiones
 - * Análisis y reactivos utilizados
 - * Controles de calidad externos e internos
2. Reanalizado en pool en la planta fraccionadora (Serología y NAT)
 - * VIH
 - * VHC
 - * VHB
 - * VHA
 - * Análisis adicionales según zona (parvovirus B19)
 - * Anticuerpos irregulares (inmunoglobulinas)
3. Procedimientos de cuarentena

La industria fue la primera en aplicar las técnicas NAT

Todas las Acciones son Reguladas por Legislación

- “Guidelines on Scientific data requirements for plasma Master file”
- “Human Plasma for Fractionation”
- “The Introduction of Nucleic Acid Amplification Technology (NAT) for the Detection of Hepatitis C Virus, RNA plasma pools”
- “Note for Guidance on Plasma Media Products”

Priones

- Aunque se considera no existencia de riesgo para CJD, por motivo de prudencia se retiran los lotes que contienen plasma de un donante que con posterioridad desarrolló n CJD.
- El fraccionamiento plasmático reduce las proteínas priónicas

UK. 4 casos de transmisión n CJD por hematíes
 0 casos de transmisión por plasma o derivados

Otros Posibles Nuevos Agentes Infecciosos

Virus del Nilo

Gripe Aviar

Etc...



No evidencia de transmisión por
concentrados plasmáticos

Riesgo de transmisión infecciosa
prácticamente nulo en hemoderivados
plasmáticos farmacéuticos

Segurización de Productos Lábilés del Plasma

- Plasma Solidarizado
- Plasma de Cuarentena
- Plasma Inactivado



B. Productos lábiles plasmáticos. Métodos de inactivación

1. - Solvente detergente (S/D) (Horowitz, 1.985)
 - Fotoinactivación con Azul de Metileno (AM)
(Lambrecht, 1.991)

2. Otros procedimientos más recientes
 - Inactivación con S59
 - Inactivación con Riboflavina
 - Inactivación con Inactina

1997. Imperativo legal transfundir plasma segurizado

- Solidarizado
- Cuarentena
- Fotoinactivación con A.M.

Conclusiones



- Se aplican todas las medidas para la seguridad adicional en transfusión (NAT en sangre y plasma y métodos de inactivación en plasma)
- Facilidades de la automatización en NAT
- El rendimiento de técnicas NAT es superior cuando existe un gran nº de donantes nuevos
- Existe cierta reducción de actividad en factores de coagulación en plasma, pero con mantenimiento de los valores terapéuticos
- Costo-efectividad