

“Position paper” sulla produzione di plasma iperimmune da utilizzare nella terapia della malattia da SARS-CoV2.

A cura di Patrizia Accorsi, Pierluigi Berti, Vincenzo de Angelis, Giustina De Silvestro, Luca Mascaretti, Angelo Ostuni

in rappresentanza di SIMTI e SIdEM

1. Premessa

L'immunoterapia passiva effettuata con l'impiego del plasma dei pazienti convalescenti - convalescent plasma – potrebbe rappresentare un presidio promettente nel trattamento delle infezioni da SARS-CoV-2, anche sulla base delle esperienze maturate^{1, 2}. La terapia con plasma da convalescente si caratterizza inoltre per un elevato livello di sicurezza, come documentato in tutte le occasioni in cui negli ultimi anni è stata impiegata, ivi compresa la stessa infezione COVID-19³.

Nella fase presente della pandemia, le Società Scientifiche sono a conoscenza del fatto che in Italia numerose strutture trasfusionali sono state sollecitate dai clinici, a livello locale, per giungere alla definizione delle caratteristiche biologiche di un prodotto plasmatico di possibile impiego nella terapia della COVID-19 e per garantirne la successiva disponibilità. In due casi (Policlinico “S. Matteo” a Pavia, e Policlinico dell'Università di Padova) la definizione del protocollo è completa o quasi completa ed ha superato (o è prossima a farlo) il vaglio del comitato etico, passaggio richiesto come prerequisito comune dal Ministero della Salute per i protocolli clinici nel trattamento della patologia da SARS-CoV-2.

I protocolli clinici contribuiranno (assieme ad altri trial clinici in corso soprattutto in Asia e rintracciabili sul sito <http://apps.who.int/trialsearch/default.aspx>) a definire se e quanto questo approccio terapeutico migliori la prognosi dei pazienti affetti da forme gravi di infezioni da SARS-CoV-2. Non si può quindi escludere che la richiesta di questo prodotto subisca un notevole incremento se le sperimentazioni avranno esito favorevole e ancor più se altri trattamenti terapeutici subiranno limitazioni per possibili carenze dei farmaci, già segnalati dalle autorità sanitarie in alcune regioni⁴.

In questa fase di diffusione della malattia è perciò di fondamentale importanza che il Servizio Trasfusionale si attrezzi a far fronte alle richieste del “plasma iperimmune” o “convalescent plasma”, definendo in anticipo i requisiti per l'arruolamento e la selezione dei donatori, per la qualificazione biologica e gli standard del prodotto plasmatico, per lo stoccaggio e la distribuzione delle unità terapeutiche raccolte, alla luce delle attuali normative in materia trasfusionale, nel rispetto delle Good Manufacturing Practices e delle norme di appropriatezza e sicurezza che caratterizzano l'attività trasfusionale.

Il presente “position paper” ha lo scopo di fornire indicazioni per la definizione di protocolli clinici che dovranno essere necessariamente approvati dai Comitati Etici; l'attività non potrà essere introdotta nella routine se non precedentemente validata.

2. Requisiti dei candidati donatori

In questa fase l'attenzione alla possibile fonte di plasma iperimmune è rivolta a soggetti con recentissima documentata infezione da SARS-CoV-2 e che aderiscono volontariamente ed in

maniera informata alla donazione mediante aferesi di plasma dedicato alla terapia delle infezioni complicate del SARS-CoV-2. Questo target di popolazione richiede alcune cautele perché si tratta di raccogliere un emocomponente con alcune deroghe rispetto agli standard definiti dai criteri di selezione di cui al DM 2.11.2015⁵ e alle raccomandazioni di matrice comunitaria; tali deroghe possono riguardare l'età del donatore, un intervallo dalla guarigione clinica breve (inferiore al doppio del periodo di incubazione, come raccomandato dalla "Guida per la preparazione, l'uso e l'Assicurazione di qualità degli emocomponenti" edita dal Consiglio d'Europa – EDQM⁶) e l'impiego per uso clinico di donatori non precedentemente testati e quindi senza una precedente storia di prelievi che ne qualifichi il profilo di sicurezza. Vanno invece rispettati gli altri criteri di selezione del donatore di cui al citato DM 2.11.2015, ed in particolare l'esclusione di soggetti sottoposti a terapia trasfusionale e/o con precedenti gravidanze.

Si prevede di procedere alla raccolta di plasma da soggetti guariti di recente da COVID-19 precedentemente ospedalizzati o paucisintomatici in quarantena fiduciaria a domicilio e sottoposti a sorveglianza attiva a seguito di test risultato positivo, purché con le seguenti caratteristiche:

- almeno 14 giorni dalla guarigione clinica (risoluzione dei sintomi) e dalla documentazione di negatività di due test NAT su tampone nasofaringeo e su plasma/siero effettuati a 24 ore uno dall'altro immediatamente prima della dimissione del paziente (se ospedalizzato);
- eventuale documentazione di negatività di un test NAT su tampone nasofaringeo e su plasma/siero a 14 giorni dalla guarigione (se in quarantena fiduciaria) (richiesta non comune a tutti i protocolli esaminati);
- un adeguato titolo sierico di anticorpi specifici (> 160 con metodica EIA o valore equivalente con altra metodica, sulla scorta di quanto pubblicato in altra casistica ^{2, 7, 8}).

Va chiarito che in questo gruppo vengono selezionate persone con lo scopo di produrre plasma iperimmune da convalescenti e che quindi la finalità della raccolta del prodotto è esclusivamente legata alla realizzazione del protocollo clinico in esame e non alla produzione di plasma per uso clinico in generale.

In aggiunta a questi pazienti convalescenti, va considerato che già da ora ma più ancora col passare delle settimane è prevedibile l'aumento del numero di persone che hanno contratto la malattia in forma asintomatica o paucisintomatica e che ne sono guariti; fra questi certamente vi sono numerosi individui già appartenenti alla categoria dei donatori di sangue abituali, come sta a dimostrare il numero crescente di PDI che i servizi trasfusionali ricevono in questi giorni e che sono probabilmente attribuibili ad infezioni subcliniche o di lieve entità. Se nel loro siero il titolo di anticorpi specifici è > 160 con metodica EIA (o valore equivalente con altra metodica), queste persone rientrano a pieno titolo nella categoria di donatori utilizzabili per la produzione di plasma iperimmune perché

- già rispondono ai requisiti dei donatori abituali di sangue;
- dalla guarigione clinica della malattia è trascorso un tempo pari o superiore al doppio del periodo di incubazione (quindi almeno 28 gg), come raccomandato dalla "Guida per la preparazione, l'uso e l'Assicurazione di qualità degli emocomponenti" edita dal Consiglio d'Europa – EDQM.

Questo secondo gruppo di persone costituisce una fonte verosimilmente importante (senz'altro superiore al primo gruppo) di plasma iperimmune, in una popolazione che ha il vantaggio di non

richiedere l'applicazione di alcuna deroga ai requisiti di ammissione alla donazione. Il loro reclutamento può avvenire molto semplicemente effettuando una ricerca e una titolazione di anticorpi anti SARS-CoV-2 nella popolazione dei donatori all'atto della donazione di plasma (elemento che può contribuire anche a studiare l'epidemiologia della malattia al di fuori dei contesti clinici gravi che hanno portato all'ospedalizzazione o alla morte di numerose persone, contribuendo a definire, nel medio periodo, incidenza e prevalenza della patologia).

3. Requisiti del prodotto

Un riferimento alla definizione dei requisiti specifici per l'utilizzo terapeutico del plasma "convalescente" nel corso di infezione da Coronavirus ci è dato dallo studio di fattibilità pubblicato nel 2015 con riferimento all'altra infezione respiratoria grave da Coronavirus, la MERS⁷.

Le unità raccolte verranno sottoposte e dovranno risultare negative ai test di qualificazione biologica come previsto dal DM 2-11-2015⁵ (HIV, HCV, HBV sierologia e molecolare, Sifilide sierologia) per le donazioni di plasma finalizzate all'utilizzo clinico. Poiché per lo più si tratta di plasmi provenienti da persone non in precedenza donatori di sangue, è preventivabile la necessità di ulteriore testing anche HAV e PVB19; è opportuno che il plasma venga sottoposto a metodiche di riduzione dei patogeni approvate per questo emocomponente.

Il plasma donato dovrà risultare negativo alla ricerca del SARS-CoV-2 mediante metodiche molecolari.

Sul plasma andranno inoltre determinati:

- il contenuto delle Immunoglobuline (IgG, IgA e IgM)
- il titolo di anticorpi specifici (come già definito a riguardo della qualificazione del donatore, questo deve essere > 160 con metodica EIA o valore equivalente con altra metodica)

La finalità di queste determinazioni è quella di poter successivamente comparare (sia pure in modo semiquantitativo) l'entità di principio attivo somministrato al paziente, per effettuare valutazioni di rapporto dose/efficacia.

È ipotizzabile il congelamento del prodotto in unità di volume più basso rispetto alla quantità raccolta con una plasmaferesi, per garantire la corretta posologia (v. dopo). Questo autorizza il frazionamento del prodotto.

Se l'ulteriore testing per HAV e Parvovirus 19 sono raccomandabili per le unità di plasma provenienti da persone non in precedenza donatori di sangue e raccolti in deroga ad alcuni requisiti di cui al DM 2.11.2015⁵, un'attenta valutazione di rapporto rischio/opportunità dovrà essere fatta quando invece si proceda alla raccolta di plasma iperimmune da donatori abituali di sangue e plasma che hanno contratto la malattia in forma asintomatica o paucisintomatica; l'applicazione di queste ulteriori misure di sicurezza deve infatti trovare adeguata giustificazione nei confronti della generalità delle trasfusioni di plasma per uso clinico per le quali non sono previsti questi ulteriori standard di sicurezza. Una possibile motivazione potrebbe risiedere nel fatto che il trattamento con plasma iperimmune nei pazienti con COVID-19 rappresenta un uso "off label" e che la raccolta di questo prodotto viene fatta esclusivamente per somministrare al paziente anticorpi specifici anti SARS-CoV-2; ciò potrebbe richiedere l'estensione anche a questa casistica della necessità di somministrare plasma assimilabile a prodotto di grado farmaceutico.

3.1. Requisiti di identificazione e tracciabilità del prodotto

Nel caso in cui la raccolta di questo prodotto venga fatta esclusivamente per somministrare al paziente anticorpi specifici anti SARS-CoV-2 andrà valutata l'opportunità di identificare per il prodotto uno specifico codice UNI per permettere l'utilizzo esclusivo allo scopo terapeutico specifico per le infezioni da SARS-CoV-2, garantendone la piena tracciabilità.

3.2. "Pooling" del prodotto

Qualora sia provata l'efficacia del prodotto, nel medio periodo la disponibilità di plasma iperimmune da donatori abituali guariti potrebbe in principio consentire l'applicazione di processi industriali di preparazione di prodotto di grado farmaceutico attraverso la costituzione di pool specifici da sottoporre a procedure di inattivazione con tecnica solvente e detergente, in modo da ottenere un prodotto standardizzato di grado farmaceutico, con caratteristiche di costanza e ripetibilità (almeno intra-lotto). Questo garantirebbe la produzione di plasma iperimmune a titolo noto e standard di anticorpi anti SARS-Cov-2. E' raccomandabile un'interlocuzione in tal senso con le industrie farmaceutiche e con l'Agenzia Italiana del Farmaco, AIFA.

5. Indicazioni e modalità di impiego clinico

5.1 Indicazioni

Non vi sono evidenze conclusive sull'indicazione all'impiego del prodotto. Quanto emerge dalla letteratura e dal confronto con le esperienze condotte in Asia suggerisce che il trattamento sia raccomandabile in pazienti in condizioni severe e/o nella malattia rapidamente progressiva e la risposta è migliore in pazienti che al momento della infusione sono PCR POSITIVI ma SIERONEGATIVI per coronavirus rispetto a pazienti già sieropositivi. È altresì da prevedere, in uno studio controllato, l'impiego del plasma "da convalescente" in pazienti con malattia in fase "precoce" utilizzando uno score clinico.

Molti degli studi clinici in corso prevedono una stratificazione della gravità su parametri clinici o strumentali⁹ tra cui

- Frequenza respiratoria >30 atti al minuto
- PaO₂/FiO₂ <300 mm Hg in ossigeno
- PaO₂/FiO₂ < 200 mm Hg in ossigeno
- Saturazione O₂ <93% in ossigeno
- Intubazione tracheale con ventilazione meccanica
- Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score
- Periodo in Unità di Terapia Intensiva
- Periodo di ospedalizzazione

5.2 Volume e posologia

Anche per il volume e la posologia di somministrazione le modalità di impiego sono al momento aneddotiche; le esperienze sin qui condotte si basano sull'impiego del plasma iperimmune in

precedenti epidemie ^{1, 2, 8, 10} e sul confronto diretto con altri esperti (soprattutto cinesi) e suggeriscono la somministrazione di volumi da 200 a 600 ml di plasma iperimmune (corrispondenti circa a dosaggi da 8 a 10mL/Kg e fino a un massimo di 600 ml) una volta al giorno da uno a tre giorni consecutivi, schema eventualmente ripetibile una volta. L'utilizzo di volumi superiori di plasma sarebbero controindicati per il rischio di sovraccarico.

5.3 Timing di somministrazione

L'esordio tempestivo della terapia è raccomandato; pertanto la somministrazione è ottimale nei primi 7 giorni, di buona efficacia entro i 14 giorni, certamente non indicata oltre le tre settimane dall'esordio della malattia.

5.4 Interazione con altri farmaci

Non sono definite né studiate le possibili associazioni sinergiche o di maggiore vantaggio di questo prodotto rispetto al contemporaneo impiego di altri farmaci. In assenza di dati in proposito, il prodotto dovrà essere assegnato sulla base del protocollo clinico approvato in loco.

5.5 Effetti indesiderati

Valgono per questo prodotto tutte le cautele nei confronti degli effetti indesiderati e delle controindicazioni comuni alla terapia con plasma umano; tra queste si sottolineano in particolare:

- la controindicazione assoluta alla sua somministrazione nei deficit completi di IgA, ragione per la quale si raccomanda il dosaggio delle IgA prima dell'esordio della terapia)
- la cautela nei confronti del sovraccarico circolatorio (TACO).

Un altro rischio teorico (ipotizzato su modello animale) è che l'immunizzazione passiva legata alla somministrazione di anticorpi possa attenuare la risposta immunitaria lasciando tali soggetti vulnerabili alla successiva reinfezione. Questa possibilità dovrebbe essere ulteriormente studiata, valutando la risposta immunitaria nei soggetti esposti e trattati con "convalescent plasma" per "prevenire" la malattia¹¹.

6. Altre raccomandazioni

6.1 E' raccomandabile che i servizi trasfusionali adeguino le proprie sieroteche alla conservazione dei sieri, richiedendo nel contempo il consenso informato dei donatori, al fine di consentire successive indagini epidemiologiche sulla popolazione dei donatori di sangue.

6.2 La raccolta organizzata di dati dei donatori correlabili all'infezione da coronavirus (es. andamento delle donazioni in funzione dell'evoluzione della pandemia, numero e caratteristiche delle Post Donation Informations, esiti dei look-back ecc.) è fortemente raccomandata, in vista di elaborazioni successive.

BIBLIOGRAFIA

1. Chen L, Xiong J, Bao L, Shi Y. Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19. *Lancet Infect Dis*. 2020, Feb 27
2. SOO YOY et al Retrospective comparison of convalescent plasma with continuing high-dose methylprednisolone treatment in SARS patients. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 676–678
3. Mair-Jenkins J et al. The Effectiveness of Convalescent Plasma and Hyperimmune Immunoglobulin for the Treatment of Severe Acute Respiratory Infections of Viral Etiology: A Systematic Review and Exploratory Meta-analysis. *The Journal of Infectious Diseases*, 2015;211:80–90.
4. http://www.quotidianosanita.it/regioni-e-asl/articolo.php?articolo_id=83029&fr=n
5. MINISTERO DELLA SALUTE DECRETO 2 novembre 2015 Disposizioni relative ai requisiti di qualita' e sicurezza del sangue e degli emocomponenti. (15A09709) (GU Serie Generale n.300 del 28-12-2015 - Suppl. Ordinario n. 69)
6. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) Council of Europe. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components, 19th ed. Council of Europe, 2017. Printed at the Council of Europe.
7. AAVV. Feasibility, safety, clinical, and laboratory effects of convalescent plasma therapy for patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a study protocol. *Springerplus*. 2015 Nov 19;4:709.
8. Cheng Y, Wong R, Soo YO, et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 44–46.
9. Duang J et al. Assessment of heart rate, acidosis, consciousness, oxygenation, and respiratory rate to predict noninvasive ventilation failure in hypoxemic patients. *Intensive Care Medicine* volume 43, pages192–199(2017)
10. WHO. Use of convalescent whole blood or plasma collected from patients recovered from Ebola virus disease for transfusion, as an empirical treatment during outbreaks. 2014. <http://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/604045/retrieve> (accessed Feb 20, 2020)
11. Crowe JE et al. Passively acquired antibodies Suppress Humoral But Not Cell-Mediated Immunity in Mice Immunized with Live Attenuated Respiratory Syncytial Virus vaccines *J Immunol* 2001; 167:3910-3918