

Documento di consenso - Plasma fresco congelato (PFC) con anticorpi anti-SARS-CoV-2

Premessa

Il plasma da donatore guarito COVID-19 è un prodotto raccolto da soggetti con pregresso COVID-19, valutati idonei secondo i disposti normativi trasfusionali vigenti, e caratterizzato da un adeguato titolo di anticorpi neutralizzanti anti-SARS-CoV-2.

Gli studi ad oggi condotti riportano dati controversi sull'efficacia della terapia con plasma in soggetti COVID-19; ciononostante è opportuno definire idonee modalità di raccolta e caratterizzazione del plasma contenente anticorpi anti SARS-CoV-2.

Per la produzione di questo emocomponente si applica quanto previsto dalle norme trasfusionali circa la raccolta, la qualificazione biologica, la lavorazione, la conservazione, l'assegnazione e la distribuzione del sangue e dei suoi componenti. Pertanto il prodotto ottenuto può essere utilizzato, come da prassi, per le indicazioni trasfusionali consolidate, oppure per finalità COVID-19 specifiche, qualora presente un titolo appropriato di anticorpi neutralizzanti anti-SARS-CoV-2 definito sulla base delle più aggiornate evidenze scientifiche (titoli di minimi di riferimento per la letteratura scientifica prodotta nel corso della prima ondata pandemica sono stati tra 1:80 e 1:160), o per la produzione di immunoglobuline iperimmuni. Il plasma da donatore COVID-19 guarito è un prodotto di per sé rispondente a requisiti standard di qualità e sicurezza, e pertanto non soggetto a specifica autorizzazione del servizio trasfusionale che lo raccoglie.

Il presente documento ha come finalità la definizione di procedure comuni per la produzione del plasma a garanzia degli standard di qualità e sicurezza previsti dalla normativa vigente e sarà aggiornato in relazione all'evoluzione scientifica.

Scheda di prodotto

Plasma fresco congelato (PFC) contenente anticorpi anti-SARS-CoV-2

Definizioni e proprietà: Plasma ottenuto da singolo donatore che soddisfa i requisiti per la qualificazione del prodotto, destinato alla trasfusione o al frazionamento industriale; il suo contenuto in anticorpi anti-SARS-CoV-2 lo rende idoneo anche per le finalità COVID-19 specifiche.

Caratteristiche del donatore: donatore alla prima donazione o donatore periodico, idoneo sulla base dei criteri di selezione stabiliti dalla normativa trasfusionale vigente, reclutato tra le seguenti tipologie di donatori:

- Donatore con pregressa infezione da SARS-CoV-2, trascorsi almeno 14 giorni dalla completa risoluzione dei sintomi (fatta eccezione per ageusia/disgeusia e anosmia che possono perdurare per diverso tempo dopo la guarigione) oppure in presenza di un test molecolare negativo per la ricerca di SARS-CoV-2 su tampone nasofaringeo;
- Donatore guarito da pregressa infezione da SARS-CoV-2 sottoposto a vaccinazione secondo lo schema vaccinale assegnato;

- Donatore senza pregressa infezione nota da SARS-CoV-2 sottoposto a vaccinazione secondo lo schema vaccinale assegnato; per questa categoria di donatori si applica quanto previsto dal documento della Commissione Europea “An EU programme of COVID-19 convalescent plasma collection and transfusion. Guidance on collection, testing, processing, storage, distribution and monitored use” del 10 marzo 2021: i destinatari dei vaccini COVID-19, che non hanno mai contratto il SARS-CoV-2, non soddisfano la definizione di donatori di plasma "convalescenti", tuttavia questi soggetti possono donare plasma standard.

Preparazione: da scomposizione del sangue intero o raccolto da aferesi, separato e congelato entro un arco temporale e ad una temperatura conformi ai requisiti previsti dalla normativa vigente per il PFC e dalla farmacopea europea se destinato al frazionamento industriale.

Requisiti e controlli di qualità: secondo le indicazioni riportate in Tabella 1 per il Plasma Fresco Congelato.

Tabella 1

Parametri da verificare	Requisiti	Frequenza del controllo
ABO, RhD	Determinazione secondo norma	Tutte le unità
Anti-HIV 1-2	Negativo	Tutte le unità
HBsAg	Negativo	Tutte le unità
Anti-HCV	Negativo	Tutte le unità
TriNAT HIV-HBV-HCV	Negativo	Tutte le unità
Treponema pallidum	Negativo	Tutte le unità
Volume	Definito sulla base della metodica utilizzata $\pm 10\%$	Tutte le unità
*Fattore VIII	In media non meno di 70 IU per 100 mL	Come determinato dal controllo statistico di processo
Eritrociti residui	$< 6 \times 10^9 /L$	Come determinato dal controllo statistico di processo
Leucociti residui	$< 0,1 \times 10^9 /L$, se leucodepleto $< 1 \times 10^6$	Come determinato dal controllo statistico di processo
Piastrine residue	$< 50 \times 10^9 /L$	Come determinato dal controllo statistico di processo
Gocciolamento/Perdite	Nessuna perdita all'ispezione visiva dopo pressione nell'estrattore di plasma, prima del congelamento e dopo scongelamento	Tutte le unità
Aspetto	Nessun colore anomalo o evidenti coaguli.	Tutte le unità

* Parametro da verificare per impiego nelle indicazioni non COVID-19 specifiche.

Ref. EDQM Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 20th Edition 2020.
DM 2.11.2015

Conservazione e trasporto: fino a ventiquattro mesi se mantenuto costantemente a temperatura inferiore a -25°C e fino a tre mesi se a temperatura compresa tra -18 e -25°C . I servizi trasfusionali garantiscono il mantenimento di una conservazione adeguata e della catena del freddo. Il plasma rispondente ai requisiti per le finalità COVID-19 specifiche, deve essere adeguatamente identificato.

Per l'impiego clinico COVID-19 specifico, se il prodotto proviene dalla donazione in aferesi, una volta scongelato, è aliquotabile in sub-unità di volume definito per le finalità terapeutiche. Le aliquote dell'unità di plasma possono essere mantenute a una T° di $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e utilizzate entro 5 giorni per la trasfusione del paziente.

Effetti indesiderati: frequenza attesa di reazioni avverse trasfusionali generalmente correlate al plasma ad uso clinico. Gli eventi avversi gravi potenzialmente attribuibili al plasma convalescente COVID-19 sono registrati e comunicati al servizio trasfusionale di riferimento.

Tracciabilità: attraverso le procedure in essere per la tracciabilità e per la notifica degli eventi avversi sui donatori e sui riceventi, i servizi trasfusionali garantiscono le adeguate registrazioni relative alla raccolta, preparazione e distribuzione del prodotto.

Ulteriori requisiti richiesti per la produzione di plasma iperimmune COVID-19:

Requisito indispensabile per la selezione dei donatori da cui raccogliere plasma iperimmune è la presenza di anticorpi neutralizzanti contro il virus SARS-CoV-2. Sono disponibili diversi test per determinare l'attività di legame e neutralizzante degli anticorpi anti-SARS-CoV-2. Si tratta di test che devono essere eseguiti in laboratori con livelli di biosicurezza idonei per la manipolazione di agenti virali (BSL-2 o BSL-3 a seconda del metodo impiegato), per i quali è richiesto un elevato grado di competenza e manualità dell'operatore, tempi lunghi di esecuzione che rendono questi metodi di difficile implementazione nelle attività routinarie, soprattutto se in presenza di un'elevata numerosità campionaria. Da sottolineare inoltre che, per ridurre la variabilità tra i diversi metodi, l'OMS raccomanda l'uso di reagenti di riferimento calibrati rispetto al primo Standard internazionale per l'immunoglobulina anti-SARS-CoV-2 (codice NIBSC 20/136) per esprimere i risultati dei test in Unità internazionali (UI).

Una possibile alternativa all'impiego dei test di neutralizzazione sono i metodi immunoenzimatici (es EIA, CLIA) di recente sviluppo e che sono in grado di rilevare anche gli anticorpi neutralizzanti, diretti contro il dominio legante il recettore (receptor-binding domain, RBD) della subunità S1 della proteina spike del SARS-CoV-2. I metodi devono essere marcati CE-IVD. Anche per queste metodiche sarà necessario procedere ad una standardizzazione dei risultati che possono essere espressi in UI o meglio in Unità di anticorpo legante (BAU, Binding Antibody Unit).

Sul sito FDA (<https://www.fda.gov/media/141477/download>) è stato pubblicato il 9 marzo 2021 un documento dove vengono elencati in una tabella i test sierologici, disponibili sul mercato americano, per la ricerca di anticorpi anti-SARS-CoV-2 di differenti produttori. Per ciascun kit sono inoltre riportati i valori che identificano e qualificano una donazione "ad alto titolo" come idonea per l'utilizzo clinico COVID-19 specifico. Nel documento FDA, tuttavia, non si fa alcun riferimento alla correlazione tra i valori ottenuti con i test sierologici ed il titolo anticorpale ottenuto con metodiche

di neutralizzazione. Non viene inoltre indicato il margine di errore associato al valore ottenuto con il kit sierologico.

La Tabella 2 è stata quindi rivista tenendo in considerazione i principali kit sierologici presenti in Italia impiegati su piattaforme analitiche presenti nei servizi trasfusionali (includendo anche il kit della Diasorin, più frequentemente impiegato in laboratori di diagnostica virologica) con le indicazioni fornite dal produttore ove presenti [è importante sottolineare il diverso approccio adottato dai produttori dei kit per la valutazione della correlazione del test rispetto al test di neutralizzazione].

Dove non sono presenti le indicazioni del produttore sono riportati i valori estratti dalla tabella FDA.

Tabella 2 TEST PER LO SCREENING SIEROLOGICO PER L'IDENTIFICAZIONE DI DONAZIONI DI PLASMA CONVALESCENTE COVID-19 AD ALTO TITOLO SECONDO LE INDICAZIONI DEL PRODUTTORE (P), DELL'FDA (FDA) E SECONDO L'ISS E IL CNS (ISS/CNS).

Produttore	Test	Risultati e corrispondenza ai titoli neutralizzanti
Abbott	SARS-CoV-2 IgG II (Architect)	Titolo 1:80 \geq 1.050 AU/mL (P) Titolo 1:160 \geq 3.550 AU/ml (P) Titolo 1:80 \geq 2.900 AU/mL (ISS/CNS) (nota 1)
Abbott	SARS-CoV-2 IgG II (Alinity i)	Titolo 1:80 \geq 960 AU/mL (P) Titolo 1:160 \geq 3.450 AU/mL (P)
Diasorin	Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG	Titolo 1:160 \geq 80 AU/mL (P) (nota 2)
Diasorin	Liaison SARS-CoV-2 TrimericS IgG	Titolo 1:80 \geq 520 BAU/mL (P) (nota 3)
EUROIMMUN	Anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgG)	ratio >3.5 (FDA)
Ortho	VITROS Anti-SARS-CoV-2 IgG	S/Co >9.5 (FDA)
Roche	Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S	\geq 132 U/mL (FDA) \geq 300 U/mL (ISS/CNS) (nota 4)
Siemens	ADVIA Centaur SARS-CoV-2 IgG (COV2G)	Index \geq 4.8 (FDA)

Nota 1: da un'analisi condotta su 300 campioni di plasma convalescente a diversi titoli di PNRT50 è stato osservato che valori uguali o superiori a 2900 AU/mL (Abbott) consentono di selezionare una donazione con titolo \geq 1: 80 con un margine di errore pari a circa il 5%.

Nota 2: la ditta riporta una concordanza positiva del 100% con un titolo PRNT90 di 1: 160.

Nota 3: I risultati di 47 campioni con dosi elevate in base al dosaggio LIAISON® (ossia \geq 520 BAU/ml) sono stati confrontati con una soglia del titolo ottenuto nel test di microneutralizzazione più elevata, \geq 1:80, per dimostrare la concordanza in corrispondenza di elevati titoli di anticorpi neutralizzanti.

Nota 4: da un'analisi condotta su 300 campioni di plasma convalescente a diversi titoli di PNRT50 è stato osservato che valori uguali o superiori a 300 U/mL (Roche) consentono di selezionare una donazione con titolo \geq 1 80 con un margine di errore pari a circa il 5%.