

DOI: 10.34883/PI.2020.6.3.024
УДК 616.411-003.971

Карпенко Ф.Н.¹, Мадзаев С.Р.², Еремин В.Ф.¹, Новик А.В.¹, Гущина Л.М.¹, Кузнецов С.И.²

¹ Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Беларусь

² Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Karpenko F.¹, Madzaev S.², Eremin V.¹, Novik A.¹, Gushchina L.¹, Kuznetsov S.²

¹ State Institution "Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnology" of the Ministry of Health of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

² Pirogov National Medical Surgical Center, Moscow, Russia

Как инактивация патогенов в плазме амотосаленом и ультрафиолетом влияет на активность антител к новому коронавирусу SARS-CoV-2?

How Inactivation of Pathogens in Plasma with Amotosalen and UV-A Affects the Activity of Antibodies to the New Coronavirus SARS-CoV-2?

Резюме

В период пандемии COVID-19 патогенредуцированная плазма доноров – реконвалесцентов может использоваться для пассивной иммунизации пациентов с инфекцией COVID-19 при оказании медицинской помощи. Цель исследования – определить изменение активности антител к SARS-CoV-2 в процессе патогенредукции плазмы реконвалесцентов амотосаленом и УФ-А. При обследовании плазмы 7 доноров – реконвалесцентов COVID-19 двумя иммунодиагностическими методами установлено, что инактивация патогенов с использованием амотосалена и ультрафиолета А не влияет на содержание антител к SARS-CoV-2 класса IgG.

Ключевые слова: кровь, донор, плазма крови, COVID-19, SARS-CoV-2, инактивация патогенов, амотосален.

Abstract

During the COVID-19 pandemic, the pathogen-reduced plasma of donors-convalescents is in demand. The aim of the study was to determine the change in the content of antibodies to SARS-CoV-2 during the pathogen inactivation with amotosalen and UV-A. When examining the plasma of 7 donors-convalescents of COVID-19 with two immunodiagnostic methods, it was found that the pathogen inactivation using amotosalen and ultraviolet A does not affect the activity of IgG class antibodies to SARS-CoV-2.

Keywords: blood, donor, blood plasma, COVID-19, SARS-CoV-2, pathogen inactivation, amotosalen.

■ ВВЕДЕНИЕ

Донорская плазма считается самым безопасным компонентом крови, поскольку проходит карантинизацию и (или) редукцию патогенных биологических агентов [1, 2]. Плазму реконвалесцентов COVID-19 в клинических исследованиях используют в качестве средства пассивной иммунотерапии коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2. В период пандемии COVID-19 использование технологии карантинизации становится организационно неэффективной – плазма в клинику нужна оперативно и в некоторых случаях даже не замораживается [3]. Соответственно, редукция патогенных биологических агентов плазмы реконвалесцентов¹ становится обязательной процедурой при переливании данного компонента крови реципиентам [4–6]. Любая дополнительная обработка донорской крови и ее компонентов, в том числе и технология патогенредукции, несет риск снижения полезных функциональных свойств крови [7–9]. Так, редукция патогенных биологических агентов рибофлавином и ультрафиолетом (УФ) В снижает количество иммуноглобулина G (IgG) на 17,1%, в том числе его основной (около 70%) фракции – IgG1 – на 23,6% (табл. 1) [10].

В другом исследовании для лечения лихорадки Эбола использовали плазму реконвалесцентов, патогенредуцированную амотосаленом и УФ-А. До и после такой обработки плазмы содержание и активность антител к вирусу исследовали пятью методами: 1) содержание антител к рекомбинантному гликопротеину и 2) облученному антигену цельного вируса Эбола, а также результаты 3) микронеutralизации вируса Эбола, 4) классического теста нейтрализации бляшкообразования и 5) теста нейтрализации псевдовироиона вируса Эбола. Установлено,

Таблица 1
Изменение содержания IgM, IgG и его субтипов в плазме, обработанной рибофлавином и УФ-В, на 69-й неделе хранения при –30 °С

Table 1
Change of the content of IgM, IgG and its subtypes in plasma treated with riboflavin and UV-B on the 69th week of storage at –30 °C

Белок	Контрольная СЗП (N=6)	Рибофлавин + УФ обработанная СЗП* (N=6)	p
Всего IgG (мг/дл)	831±201	689±164	<0,05
IgG1 (мг/дл)	483±105	369±90	<0,05
IgG2 (мг/дл)	279±81	275±92	0,79
IgG3 (мг/дл)	31±11	26±9	0,07
IgG4 (мг/дл)	24±17	21±18	<0,05
IgM (мг/дл)	74±41	57±35	<0,05

Примечание: * показатели плазмы, обработанной рибофлавином и УФ, увеличены в 1,2 раза за счет разведения при введении рибофлавина.

¹ Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 3 апреля 2020 г. № 379 «О дополнительных мерах по обеспечению бесперебойной работы субъектов службы крови».

что патогенинактивация амотосаленом и УФ-А не приводила к значимому снижению титров антител класса IgG или нейтрализующей активности антител к вирусу Эбола [11].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить изменение активности антител к SARS-CoV-2 после патогенинактивации амотосаленом и УФ-А плазмы реконвалесцентов.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Плазму 5 доноров реконвалесцентов, прошедших медицинский осмотр и допуск к донации, заготавливали методом аппаратного афереза (PCS-2, Haemonetics, США; Aurora, Fresenius Kabi, Германия) в объеме 600–650 мл и затем до замораживания проводили патогенинактивацию с использованием амотосалена / УФ-А (INTERCEPT Blood System, Cerus Corporation, США), как описано ранее [12]. До и после патогенинактивации отбирали образцы плазмы, которые обследовали двумя методами:

- 1) содержание IgG и IgM к SARS-CoV-2 методом иммунофлюоресцентного анализа (Ichroma COVID-19 AB, Boditech, Южная Корея);
- 2) содержание IgG к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 методом иммунохемилюминесцентного анализа (Architect, Abbott Laboratories, США). Этой системе отдали предпочтение из-за сниженной специфичности диагностикумов Boditech, определяющих IgG к белку шипа SARS-CoV-2 [13].

Результат обоих исследований учитывали как отношение величины сигнала образца к критерию позитивности. В соответствии с инструкциями как положительный расценивали результат более 1,1 для первого и более 1,4 – для второго метода.

Результаты анализировали с использованием дескриптивных статистик и корреляционного анализа при уровне значимости 0,05.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования представлены в табл. 2–4.

Таблица 2

Результаты исследования антител класса IgM до и после патогенинактивации

Table 2
Results of the study of antibodies of the IgM class before and after pathogen-inactivation

Донация	Этап исследования		Снижение, %
	до	после	
1	0,1	0,1	0,00
2	0,4	0,2	50,00
3	0,4	0,4	0,00
4	0,2	0,2	0,00
5	0,6	0,5	16,67
6	0,2	0,2	0,00
7	0,2	0,2	0,00
Средняя	0,3	0,257	9,52

Таблица 3
Результаты исследования антител класса IgG иммунофлуоресцентным методом до и после патогенинактивации

Table 3
Results of the study of antibodies of the IgG class with immunofluorescence method before and after pathogen-inactivation

Донация	Этап исследования		Снижение, %
	до	после	
1	37,9	41,7	-10,03
2	41	39,4	3,90
3	44,9	45	-0,22
4	41	35,5	13,41
5	47	43,1	8,30
6	39,3	39,4	-0,25
7	42,5	38,4	9,65
Средняя	41,94	40,35	3,54

Таблица 4
Результаты исследования антител класса IgG иммунохемилюминесцентным методом до и после патогенинактивации

Table 4
Results of the study of antibodies of the IgG class with immunochemiluminescent method before and after pathogen-inactivation

Донация	Этап исследования		Снижение, %
	до	после	
1	2,83	2,69	4,95
2	2	1,91	4,50
3	6,52	6,27	3,83
4	7,59	7,43	2,11
5	1,15	1,13	1,74
6	1,67	1,64	1,80
7	5,54	5,44	1,81
Средняя	3,9	3,78	2,96

Ни у одного из обследованных доноров не выявлены специфические антитела класса IgM. Инактивация патогенов не изменила этот статус (табл. 2).

При определении антител класса IgG иммунофлуоресцентным методом инактивация патогенов в 3 случаях привела к усилению сигнала (табл. 3). Значимого изменения сигнала после инактивации нет ($p > 0,05$). Показатели умеренно прямо коррелируют ($r = 0,49$).

При определении антител класса IgG иммунохемилюминесцентным методом инактивация патогенов привела к незначительному снижению сигнала во всех случаях и составила менее 3% (табл. 4). Значимого изменения сигнала после инактивации не определили ($p > 0,05$). Показатели сильно прямо коррелируют ($r = 0,99$).

Между показателями выявления IgG двумя использованными методами корреляция отсутствует как до, так и после инактивации патогенов.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При обследовании плазмы 7 доноров – реконвалесцентов COVID-19 двумя иммунодиагностическими методами установлено, что инактивация патогенов с использованием амотосалена и ультрафиолета А не влияет на активность антител к SARS-CoV-2 класса IgG.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Shevchenko Ju.L., Karpov O.Je., Zhiburt E.B. (2019) Blood transfusion: history and modernity (on the 100th anniversary of blood transfusion in Russia [Perelivanie krvi: istorija i sovremennost' (k 100-letiju perelivanija krvi v Rossii)]. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*, 14, pp. 4–11.
2. Chemojanov I.G., Cherkasov S.N., Madzaev S.R., Zhiburt E.B. (2018) On the length of donor plasma quarantine [O stroke karantinizacii donorskoj plazmy]. *Bulletin of the National Research Institute of Public Health named after N.A. Semashko*, 1, pp. 80–85.
3. Duan K., Liu B., Li C., Zhang H., Yu T., Qu J. (2020) *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117, pp. 9490–9496.
4. Zhiburt E.B., Filina N.G., Gubanova M.N. (2007) Plasma virus inactivation [Virusinaktivacija plazmy] *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*. 2007, 2, pp. 105–110.
5. Zhiburt E.B. (2008) Inactivation of virus in a single unit of plasma for transfusion. *Biomedical Engineering*, 42, pp. 145–149.
6. Zhiburt E.B., Kopchenko T.G., Gubanova M.N. (2008) Virus inactivation in plasma unit for transfusion [Inaktivacija virusov v doze plazmy dlya perelivaniya]. *Transfuziologiya*, 9, pp. 36–48.
7. Zhiburt E.B. (2007) Inactivation of viruses in a dose of plasma for transfusion [Inaktivacija virusov v doze plazmy dlja perelivaniya]. *Transfuziologiya*, 8, pp. 40–46.
8. Zhiburt E.B. (2008) The technology of inactivation of viruses in a dose of plasma for transfusion [Tehnologija inaktivacii virusov v doze plazme dlja perelivaniya]. *Med. Technics*, 2008, 3, pp. 36–39.
9. Zhiburt E.B., Kopchenko T.G., Gubanova M.N. (2008) Inactivation of viruses in a dose of plasma for transfusion [Inaktivacii virusov v doze plazmy dlja perelivaniya]. *Transfuziologiya*, 9, pp. 36–48.
10. Bihm D.J., Ettinger A., Buytaert-Hoefen K.A., Hendix B.K., Maldonado-Codina G., Rock G. (2010) Characterization of plasma protein activity in riboflavin and UV light-treated fresh frozen plasma during 2 years of storage at -30 degrees C. *Vox Sang*, 98, 108–115.
11. Dean C.L., Hooper J.W., Dye J.M., Zak S.E., Koepsell S.A., Corash L. Characterization of Ebola convalescent plasma donor immune response and psoralen treated plasma in the United States. *Transfusion*. 2020. doi:10.1111/trf.15739 [E-pub ahead of print]
12. Burkitbaev Zh.K., Abdrakhmanova S.A., Bibekov Zh.Zh., Baltabaeva T.S., Skorikova S.V., Kenzhin A.E. (2020) The first experience in obtaining a pulled pathogen-reduced plasma for transfusion [Pervyj opyt poluchenija pulirovannoj patogen-reducirovannoj plazmy dlja perelivaniya] *Hematology. Transfusiology. Eastern Europe*, 6, pp. 134–139.
13. Okba N.M.A., Müller M.A., Li W., Wang C., Geurtsvan-Kessel C.H., Corman V.M. (2020) Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus disease 2019 patients. *Emerg Infect Dis*, 26, 10.3201/eid2607.200841

Поступила/Received: 09.06.2020

Контакты/Contacts: smadzaev@gmail.com