ИММУННАЯ ПЛАЗМА ПРОТИВ COVID-19

Федор Карпенко,

директор РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, кандидат медицинских наук;
director@blood.by

Елена Расюк,

заместитель директора по науке РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, кандидат биологических наук;
erasiuk@tut.by

Лариса Гущина,

заместитель директора по трансфузиологии РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий;
gushchina73@mail.ru

Татьяна Ваганова,

завотделением клинической трансфузиологии РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий;
vaganova@blood.by

Владимир Еремин,

завлабораторией диагностики трансфузионно-трансмиссивных инфекций РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, доктор медицинских наук, профессор;
eremin@blood.by

Алла Новик,

завотделением заготовки крови, ее компонентов в стационарных условиях РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий

Вадим Пасюков,

ученый секретарь РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, кандидат биологических наук;
pasjukov@blood.by

Надежда Федуро,

научный сотрудник лаборатории механизмов клеточной лекарственной резистентности РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий

Аннотация.

Представлены результаты исследований по организации рекрутинга доноров реконвалесцентной плазмы анти-COVID-19 в качестве средства пассивной иммунотерапии инфекции, вызванной SARS-CoV-2. Отмечено, что у доноров имеются определенные изменения в клинико-лабораторных показателях в зависимости от тяжести течения инфекции болезни. Установлено, что эффективность применения плазмы составляет около 70%.

Ключевые слова: COVID-19, реконвалесцентная плазма, переливание плазмы крови, лечение коронавирусной инфекции.

Для цитирования: Карпенко Ф., Расюк Е., Гущина Л., Ваганова Т., Еремин В., Новик А., Пасюков В., Федуро Н. Иммуная плазма против COVID-19 // Наука и инновации. 2020. №7. С. 43–47.
<https://doi.org/10.29235/1818-9857-2020-7-43-47>

УДК 578.834.1:616-082+615.382

Пандемия, вызванная инфекцией COVID-19, поставила перед национальными системами здравоохранения задачи по поиску эффективных способов оказания медицинской помощи пациентам. Лекарственные средства, используемые в стандартных рекомендованных схемах лечения, оказывают патогенетический эффект. Механизм их действия основан на подавлении вторичной микрофлоры, устранении побочных эффектов патологического процесса. До настоящего времени отсутствует этиотропное лекарственное средство с доказанной клинической эффективностью [1].

В 2017 г. Всемирная организация здравоохранения опубликовала рекомендации по применению иммунной плазмы, сыворотки, иммуноглобулина

лиц, выздоровевших после инфекций, вызванных различными вирусами [2]. Существуют публикации относительно успешного лечения иммунной плазмой тяжелой инфекции, вызванной MERS и SARS-CoV-2 [3]. Во время многочисленных глобальных пандемических вспышек ВОЗ также подчеркивала, что «реконвалесцентная плазма – это один из наиболее рекомендуемых потенциальных методов лечения, и он использовался во время других эпидемических вспышек» [4]. По опубликованным данным, в КНР, США и ряде других стран, где распространение COVID-19 произошло раньше, чем в Республике Беларусь, успешно применялась иммунная плазма анти-COVID-19, полученная от доноров-реконвалесцентов [5]. Практические результаты позволили предположить ее возможную пользу [6]. По данным китайских ученых, в 91 из 157 случаев (60%) она демонстрирует благоприятный клинический эффект. Массовые клинические испытания плазмы с апреля 2020 г. ведутся в США [7].

Еще до появления первого случая инфекции COVID-19 в нашей стране Министерство здравоохранения Республики Беларусь поставило перед национальной службой крови задачу по организации заготовки плазмы иммунной анти-COVID-19 и ее клинического использования в качестве средства пассивной иммунизации.

Нами проанализированы данные из официальных отчетов субъектов службы крови нашей страны по числу доноров и числу донаций плазмы иммунной анти-COVID-19 у 271 реципиента за апрель – июнь 2020 г. Исследованы показатели гемограммы и активность специфических антител 25 доноров плазмы после выздоровления с легким течением инфекции и 25 доноров – с тяжелым течением (наличие пневмонии). Сравнение показателей гемограммы проведено с помощью непараметрических методов в программе Statistica 10. Статистически достоверные различия считали при $p < 0,05$.

Анти-COVID-19 плазма

Содержание иммуноглобулинов G (IgG) и иммуноглобулинов M (IgM) к SARS-CoV-2 проверялось методом иммунофлюоресцентного анализа на тест-системе Ichroma COVID-19 AB, Boditech, Южная Корея). Данные тест-системы выявляют IgG к белку «шипа» SARS-CoV-2. Заявленная чувствительность – 95–97%, специфичность 97–99%. Результаты исследований представлялись как отношение величины сигнала образца к контрольному положительному образцу. В соответствии с инструкциями расценивали как положительный показатель более 1,1.

Основываясь на международном опыте применения плазмы и рекомендациях ВОЗ, в апреле 2020 г. РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий совместно с Минздравом впервые в республике разработали протоколы отбора доноров, заготовки плазмы, а также инструкцию по медицинскому применению крови и ее компонентов, заготавливаемых или производимых различными методами из крови доноров и используемых для оказания медицинской помощи пациентам в качестве средств пассивной иммунизации [8, 9, 10].

Основные вопросы, которые необходимо было решить в рамках данной работы – разработка дополнительных критериев при медицинском осмотре, определение минимальных интервалов для допуска к донации плазмы после выздоровления пациентов для обеспечения безопасности доноров-реконвалесцентов, а также показаний для включения плазмы иммунной анти-COVID-19 в комплексное лечение пациентов.

Согласно международным и национальным подходам, донор – это лицо, добровольно прошедшее медицинский осмотр и сдающее кровь и ее компоненты, а одно из основных направлений деятельности любой национальной службы крови – обеспечить при этом сохранность его здоровья.

Стандарты медицинского осмотра и допуска к донации плазмы методом афереза – более расширенные по сравнению с допуском к донации цельной крови. Процедура афереза плазмы включает однократный доступ в вену, проведение последовательных процедур эксфузий цельной крови, забор плазмы и инфузий форменных элементов с антикоагулянтом. Стандартная заготовка включает экстракорпоральную обработку 1000 мл цельной крови, консервирование со 120–130 мл антикоагулянта, получение 600–650 мл плазмы и возврат в кровяное русло в конце цикла афереза, помимо форменных элементов, 500 мл физиологического раствора. Данная процедура может проводиться с использованием мануальных и автоматических технологий. Во втором случае –

Группы доноров	Показатели									
	Возраст	Соотношение в группах по полу		Титр антител к COVID-19 Ig G	Общий анализ крови				Биохимический анализ крови	
		муж.	жен.		WBC, $\times 10^9/\text{л}$	PLT, $\times 10^9/\text{л}$	HGb, г/л	RBC, $\times 10^{12}/\text{л}$	Общий белок, г/л	АЛТ, ед./л
группа 25 доноров (легкое течение)	36 лет	60%	40%	36,44 ± 5,41	5,75 ± 0,49	221,93 ± 11,43	153,32 ± 4,79	5,16 ± 0,15	75,73 ± 1,94	22,23 ± 4,94
группа 25 доноров (пневмонии)	37 лет	56%	44%	34,68 ± 2,02	5,20 ± 0,23	205,58 ± 6,08	145,67 ± 2,14	4,88 ± 0,07	74,35 ± 0,65	36,22 ± 4,37

Таблица 1. Средние показатели в группах доноров плазмы иммунной анти-COVID-19 в зависимости от характера течения заболевания

на аппаратах автоматического афереза под контролем давления в вене, движения крови и компонентов по всем магистралям и оценки качества разделения консервированной крови на компоненты. Технология разделения на компоненты включает два ведущих метода, применяемых на основных сепараторах, используемых в субъектах службы крови Беларуси – мембранно-фильтрационный и центрифугирования. В случае использования первого единовременный забор крови без консерванта составляет 120 мл, второго – 450 мл.

Донор афереза плазмы рекрутируется только после успешного опыта сдачи цельной крови с учетом дополнительных критериев отбора, таких как: вес тела более 60 кг, уровень белка – более 60 г/л; показатели аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы – до 40 МЕ/мл.

Согласно опубликованным данным, вирус SARS-CoV-2 может оставаться в крови до 4 недель после клинического выздоровления. Важные проявления пневмоний, вызванных инфекцией COVID-19, – протекание их в интерстиции, с поражением мелких сосудов и наличием признаков васкулита, сопровождающихся увеличением ферритина, снижением гемоглобина и нарастанием уровня D-димеров как показателя распада фибриногена.

Учитывая это, мы приняли дополнительный критерий для допуска к донации плазмы лиц с подтвержденной инфекцией COVID-19 – временной интервал в 8 недель с даты полного клинического и лабораторного выздоровления. В случае применения в отношении компонентов крови технологий редукции патогенных биологических агентов (патогенредукции) определен интервал в 15 суток. Также дополнительно все доноры проходят обследование на наличие антител иммуноглобулинов G, сдают общий и биохимический анализ

крови. Поскольку большинство из них не имели опыта донаций цельной крови, решение о допуске принималось индивидуально, с учетом данных анамнеза и показателей медицинского осмотра. С 3 апреля по 19 июня 2020 г. из 1571 доноров, рекрутированных в организациях переливания крови, 876 были отклонены. За данный период было проведено 695 донаций и допущены к регулярному донорству 458 человек. С учетом тяжести протекания инфекции COVID-19 были получены разные показатели в гемограмме доноров-реконвалесцентов (табл. 1).

Уровень гемоглобина, тромбоцитов, эритроцитов был ниже у доноров с тяжелым течением по сравнению с перенесшими заболевание в легкой форме. Также у первых был достоверно выше показатель уровня АЛТ, свидетельствующий о нарушении печеночных функций. Активность иммуноглобулинов G у этих групп достоверно не различалась. Важно отслеживать данную активность в динамике для прогнозирования напряженности иммунитета при данной инфекции. Соответствующие исследования проводятся в настоящее время, и новые данные будут проанализированы при увеличении числа донаций регулярными донорами иммунной плазмы.

В стандарты качества плазмы был внесен признак наличия иммуноглобулинов G. При определении их активности у доноров-реконвалесцентов при работе на тест-системе Ichroma COVID-19 AB (Boditech, Южная Корея) – не ниже 25, что нами было валидировано как титр не ниже 1:160. Для каждой дозы плазмы применялась технология редукции патогенных биологических агентов ввиду невозможности ее карантинного хранения в течение 6 месяцев. Данная процедура стала обязательной для возможности переливания этого компонента реципиентам. Нами было установлено снижение специфической

Реципиенты плазмы иммунной анти-COVID-19	N=271	%
из них имели факторы, отягчающие течение пневмонии	217	80
из них находились на ИВЛ	119	44
из них в возрасте 55 лет и старше	173	64
Группа крови по системе ABO		
O(I)	78	29
A(II)	118	43
B(III)	62	23
AB(IV)	13	5

Таблица 2. Предварительные результаты оценки случаев включения плазмы иммунной анти-COVID-19 в комплексное лечение пациентов

активности иммуноглобулинов G при проведении патогенредукции на 15–25%.

Учитывая, что клиническое использование плазмы иммунной анти-COVID-19 регламентировано приказом Минздрава как экспериментальный метод в комплексном лечении пациентов с коронавирусной инфекцией, решение о трансфузии каждому конкретному лицу принимает консилиум специалистов, включая врача-трансфузиолога. Алгоритм работы подразумевает консультирование врача-трансфузиолога Центра с оценкой клинической ситуации до и после трансфузии, рекомендации по ее проведению, в том числе – гемостазиоло-

Положительная динамика при включении плазмы иммунной анти-COVID-19 в комплексное лечение	N=190	%
из них имели факторы, отягчающие течение пневмонии	143	75
из них были на ИВЛ	81	43
из них с положительным исходом	160	84
из них с летальным исходом, связанным с отягчающими факторами, сопутствующими заболеваниями	30	16
Группа крови		
O(I)	53	28
A(II)	86	45
B(III)	45	24
AB(IV)	6	3

Таблица 3. Предварительные результаты оценки случаев положительной динамики при включении плазмы иммунной анти-COVID-19 в комплексное лечение пациентов

гии и медицинскому применению плазмы. На первоначальном этапе, в условиях дефицита востребованного объема плазмы, Центр подбирал пары «донор-реципиент» с соблюдением принципа совместимости по ABO и резус-системе, была отработана логистическая схема доставки плазмы в любую точку страны. Организованный в Центре круглосуточный мониторинг ситуации позволил обеспечивать лист ожидания на 100%.

Центром проведена текущая и ретроспективная оценка объема и качества оказания трансфузиологической помощи с применением плазмы. За истекший период нами проконсультировано 363 пациента из 72 больничных организаций здравоохранения республики, из которых 271 (75%) стали реципиентами плазмы (табл. 2). Проведено более 650 трансфузий с применением плазмы, заготовленной в Центре. Показания к ним, объем и кратность определялись индивидуально, в ряде случаев после дообследования и (или) дополнительных рекомендаций по лечению, в том числе коррекции системы гемостаза. В зависимости от клинической ситуации, по предварительным данным, трансфузии 1–2 дозы плазмы иммунной анти-COVID-19 получили 61% реципиентов, 3–4 дозы – 33%, 5–6 доз – 4%, 8–9 доз – 2%.

Предварительные результаты свидетельствуют о положительной динамике у большинства реципиентов – 190 (70%) (табл. 3). При этом достоверных данных о трансфузионных реакциях и посттрансфузионных осложнениях нет.

Положительная динамика при включении плазмы иммунной анти-COVID-19 в комплексное лечение пациентов с инфекцией COVID-19 оценивалась по субъективным и объективным критериям, регистрируемым в 1–5 сутки после трансфузии: улучшение самочувствия, уменьшение общей слабости и одышки; отсутствие отрицательной динамики (стабилизация состояния); нормализация температуры тела; снижение острофазовых лабораторных показателей (СРБ, ферритин); улучшение показателей кислородного статуса (нормализация частоты дыхания, уменьшение подачи кислорода, повышение уровня сатурации, отсутствие необходимости или отлучение от ИВЛ).

Несмотря на положительную динамику по вышеперечисленным критериям, летальный исход наступил у 30 реципиентов плазмы иммунной анти-COVID-19 (16%). Всего же из общего числа реципиентов плазмы иммунной анти-COVID-19 умерли 100 пациентов (37%) и у абсолютного большинства из них имелись отягчающие течение пневмонии

Умершие из числа реципиентов	N=100	%
-из них имевшие отягчающие факторы	90	90
-из них имевшие положительную динамику после включения плазмы иммунной анти-COVID-19 в комплексное лечение	30	30
-из них имевшие положительную динамику после включения плазмы иммунной анти-COVID-19 в комплексное лечение и отягчающие факторы	28	28
Группа крови		
O(I)	24	24
A(II)	47	47
B(III)	23	23
AB(IV)	6	6

Таблица 4. Предварительные результаты оценки летальных случаев пациентов с инфекцией COVID-19 – реципиентов плазмы иммунной анти-COVID-19

осложнения, на которые плазма не могла оказать лечебного эффекта (табл. 4).

Очевидно, что почти половина пациентов, имевших показания для включения плазмы иммунной анти-COVID-19 в лечение, имеют группу крови A(II).

Центр проводит научно-практическую оценку качества заготовки и медицинского применения плазмы иммунной анти-COVID-19 в Республике Беларусь, что позволит сделать обоснованные выводы с целью определения наиболее эффективной и безопасной трансфузионной тактики, разработки рекомендаций по заготовке плазмы от реконвалесцентов и повышению качества оказания трансфузиологической помощи пациентам с коронавирусной инфекцией. Будут продолжены работы по исследованию иммунного статуса доноров и реципиентов и влияния данных показателей на результаты лечения.

Таким образом, комплексное лечение пациентов с инфекцией COVID-19 с применением плазмы реконвалесцентов COVID-19 привело к положительной динамике течения заболевания у 70% исследованных пациентов при отсутствующих трансфузионных реакциях и посттрансфузионных осложнениях, что, несомненно, свидетельствует о высокой эффективности предложенного метода. Установлено, что у доноров реконвалесцентов с тяжелым течением инфекции COVID-19 в анамнезе отличаются лабораторные показатели гемограммы и биохимического анализа крови, такие как уровень гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов, аланинаминотрансферазы от доноров реконвалесцентов с легким течением

инфекции COVID-19. В тоже время не установлено достоверных различий в активности иммуноглобулинов G по данным группам доноров.

В Республике Беларусь организована в соответствии с международными стандартами заготовка плазмы иммунной анти-COVID19, включая рекрутинг доноров, допуск к донации с учетом расширенного объема медицинского осмотра и скрининга на наличие иммуноглобулинов G и M к ARS-COV-2 количественным методом. ■

■ **Summary.** The results of studies on the use of anti-COVID-19 plasma as a means of passive immunotherapy of coronavirus infection caused by SARS-CoV-2. It has been shown that convalescence donors have certain changes in clinical and laboratory parameters depending on the severity of the disease of COVID-19 infection. The efficiency of the application of convalescents COVID-19 plasma in the complex treatment of patients with coronavirus infection is about 70%.

■ **Keywords:** COVID-19, convalescence plasma, plasma transfusion, coronavirus infection therapy.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2020-7-43-47>

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Миронов А.Ю. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. – Москва, 2020.
2. Position Paper on Use of Convalescent Plasma Serum or Immune Globulin Concentrates as an Element in Response to an Emerging Virus // WHO Blood Regulators Network (BRN). 2017.
3. Bloch E., Shoham S., Casadevall A. Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19 // Journal of Clinical Investigation. 2020. №6, Vol. 103. P. 2757–2765.
4. Cheng Y., Wong R., Soo Y. Use of Convalescent Plasma Therapy in SARS Patients in Hong Kong // European Journal of Clinical Microbiological Infectious Diseases. 2005. №24. P. 44–46.
5. Cao H., Shi Y. Convalescent Plasma: Possible Therapy for Novel Coronavirus Disease 2019 // Transfusion. 2020. №5, Vol. 60. P. 1078–1083.
6. Chen L., Xiong J. Convalescent Plasma as a Potential Therapy for COVID-19 // The Lancet Infectious Diseases. 2020. №4, Vol. 20. P. 398–400.
7. Жибурт Е.Б. Плазма против коронавируса. Насколько эффективен этот метод на самом деле? // Медицинская газета. 2020. №21, Том. 7938.
8. Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь №615 от 05.06.2020 «Об оказании медицинской помощи пациентам с инфекцией COVID-19».
9. Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь №690 от 01.07.2020 «О вопросах лечения пациентов с инфекцией COVID-19».
10. Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь №430 от 13.04.2020 «Об изменении приказа Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.03.2020 №255».

SEE http://innosfera.by/2020/07/immune_plasma

Статья поступила в редакцию: 06.07.2020.