

Inaktivace patogenů v trombocytech

Zdenka Gašová,

Zdeňka Bhuiyanová Ludvíková, Klára Knappová, Daniela Pajtašová

Ústav hematologie a krevní transfuze,
Praha

„15. Střešovický transfuzní den“

Praha, 23. listopad, 2022

Evoluce biologických systémů

- Vznik Země – před více než 4,5 mld. let
- První formy bakterií – před více než 3,5 mld. let
 - Jediné formy života po dobu cca 2 mld. let
 - Více než ½ doby historie Země
- První formy virů - před více než 1,5 mld. let
- Vyhytnutí dinosaurů – před 65 mil. let
- Homo sapiens – před 200 000 lety

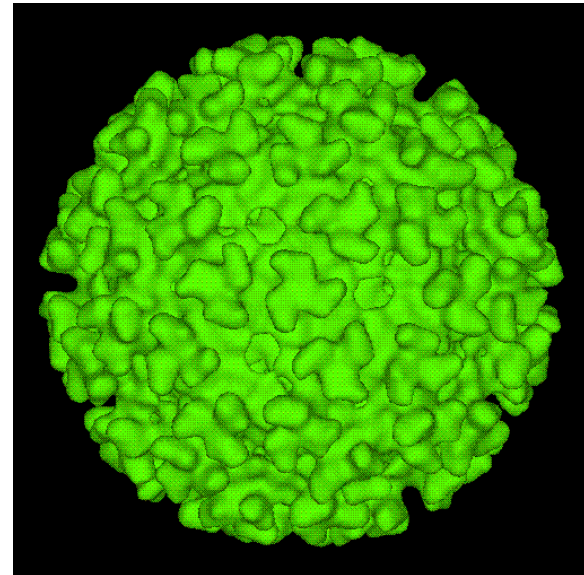
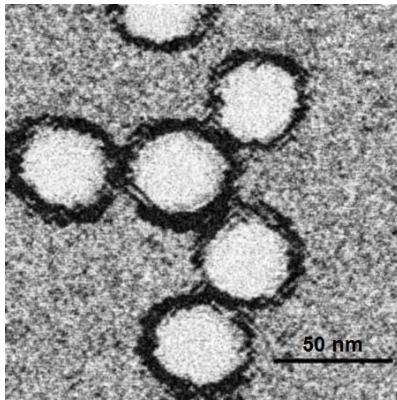


Baktérie a viry

Malé formy života s gigantickou silou



- Půda, horké prameny, radioaktivní odpad, zemská kůra
- Přežití a adaptace na katastrofy v průběhu geologické historie Země



Mikroorganizmy na Zemi

Bakterie – jednobuněčné

Velikost – μm

Tvar – kulový, tyče, spirály

Na Zemi 5×10^{30} mikrobů celkem

H_2O 10^6 mikrobů / ml

V těle člověka $10\times$ více bakterií
než buněk - kůže, GIT

Většina nepatogenní
nebo stimulace imunitního systému

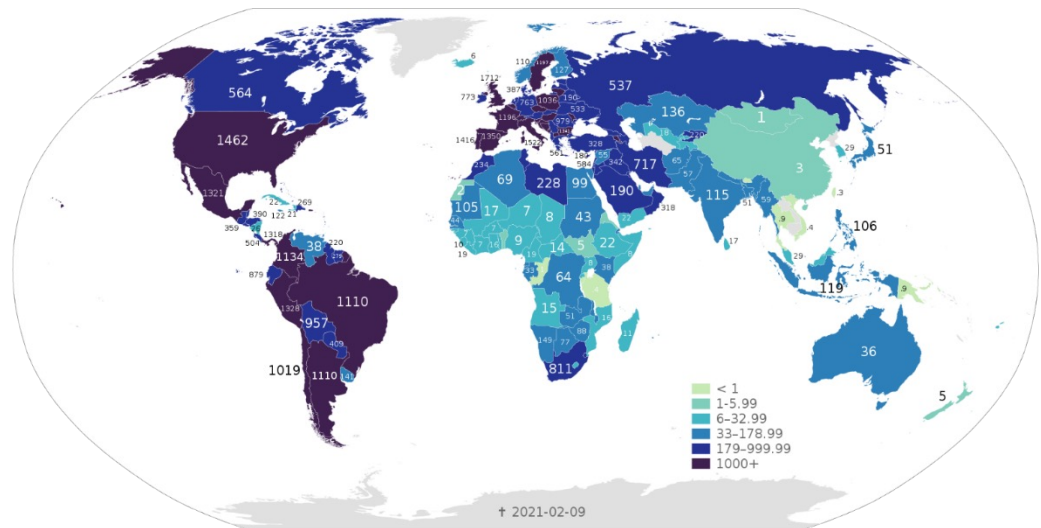
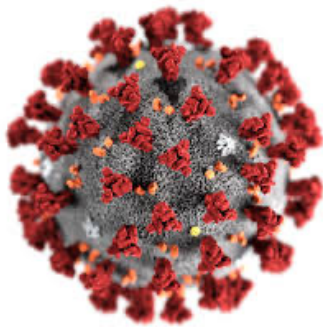
První pozorování

A. v. Leeuwenhoek 1676



Infekční rizika a transfuze

- Dle AABB detekováno > 68 infekcí, které mohou být přenesené krví (2009)
- Každoročně 3 -5 nových infekcí s potenciálem přenosu (viry...)
- Pandemie Covid 19
 - Neprokázaný přenos viru SARS-Cov-2 krví
 - Podnět pro řešení akutních situací - nových infekčních agens



Snížení rizika infekčních komplikací po transfuzi

- **Snížení rizika přenosu infekcí**
 - Anamnéza dárce – dotazník „rizika“
 - Testy HIV 1/2 Ag + Ab, HBsAg, HCV Ab, TP „každý dárcovský“ odběr
 - Ošetření místa venepunkce
 - Prvních cca 30 ml krve do vaku pro laboratorní vyšetření
 - Deleukotizace (CMV)
 - Mikrobiologický monitoring
 - Venepunkce, přípravky, prostředí

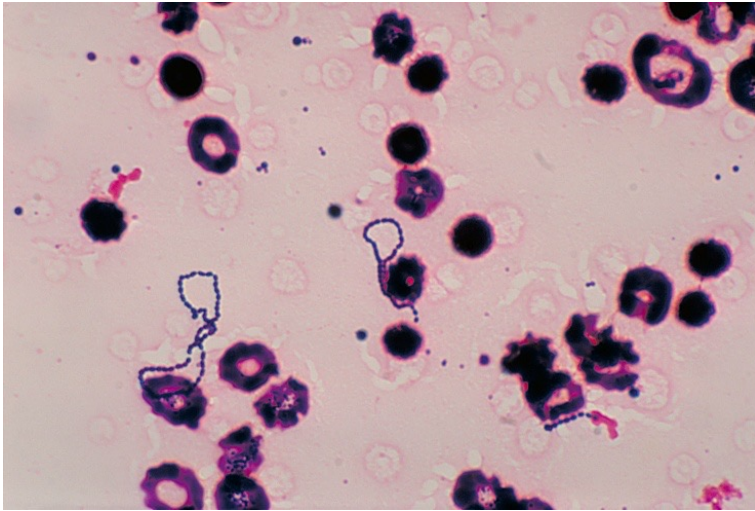
Přetrvávající infekční rizika

- **Patogeny, které se rutinně vyšetřují HBV, HCV, HIV, syfilis**
 - Nejsou detekovány
 - Selhání vyšetření
 - Dárce v období infekčního „okna“
 - OBI nízká hladina infekčního agens
- **Jiné příčiny**
 - Známé netestované patogeny
 - Neznámé „netestované“ patogeny
 - Bakteriální kontaminace transfuzního přípravku
 - Venepunkce, bakteriemie dárce, výrobní závada,

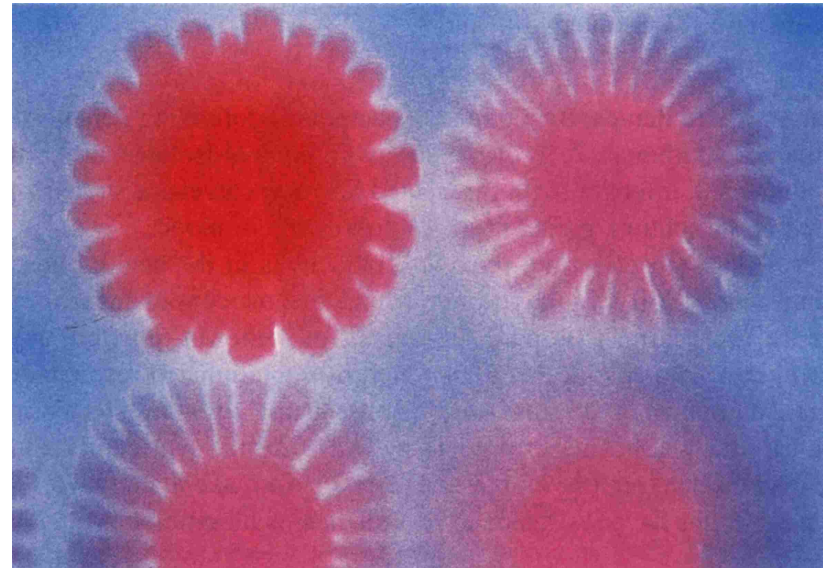
Infekční rizika transfuze – přímá a nepřímá

- Přenos HIV, HBV, HCV < 1 přenos / 1 mil. TU - vyspělé země
- Přenos jiného infekčního agens
- Bakteriální kontaminace transfuzních přípravků
- Trombocyty
 - 1 na 5000 přípravků
 - T - septické reakce častější, aditivní roztoky (NL studie)
- Erytrocyty
 - 1 na 30 000 přípravků
- Transfuzí indukovaná imunosuprese / imunomodulace – dispozice k pooperačním infekcím

Bakteriální kontaminace trombocytů



Streptococcus viridans



Serratia marcescens

Nejvyšší rizika

- Riziko stoupá s počtem podaných transfuzních přípravků
- Dlouhodobě polytransfundovaní příjemci trombocytů
- Těžce imunosuprimovaní
- Pacienti na chemoterapii
- V přípravě k transplantaci krvetvorných buněk
- Po transplantaci krvetvorných buněk
- GVHD
- HIV

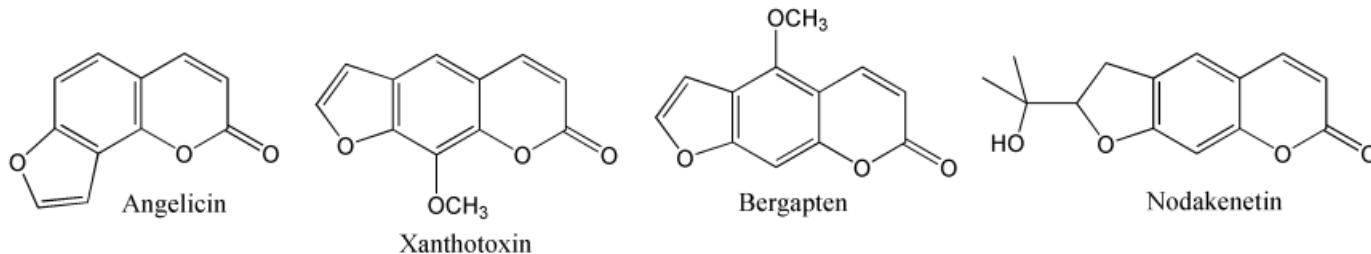
FDA, 2019 – Prevence přenosu infekcí

- Zvýšení bezpečnosti transfuze
 - **Mikrobiologické vyšetření přípravků**
 - **Inaktivace patogenů**
 - Inaktivace širokého spektra bakterií, virů, parazitů, prionů
 - **Kombinace obou postupů**

Inaktivace patogenních agens v trombocytech

Principy

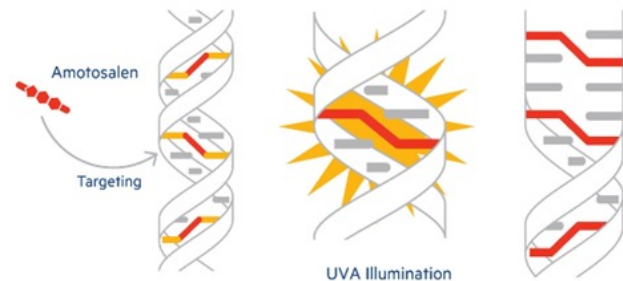
- Ozáření trombocytů UV zářením rozdílné vlnové délky a energie
 - **Přítomnost fotoaktivní látky**
 - Intercept Blood System – amotosalen / UVA, $3 \text{ J} / \text{cm}^2$
 - Po ozáření trombocytů adsorpce reziduálního amotosalenu
 - Mirasol PRT Systém – Riboflavin / UVB
 - **Nepřítomnost fotoaktivní látky** Theraflex UVC Platelet System



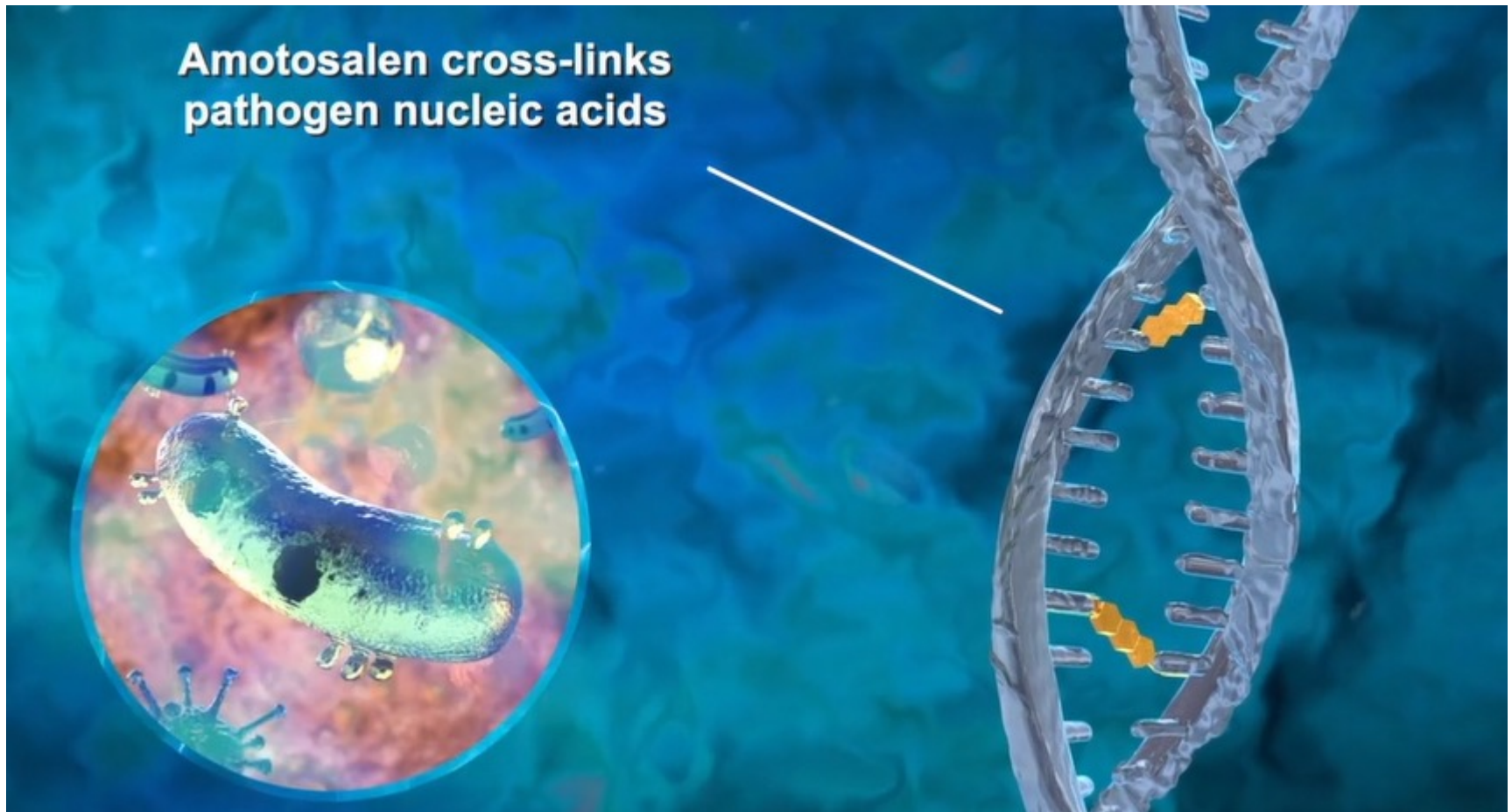
Intercept

Inaktivace patogenních agens v trombocytech

- Ošetření trombocytů, plazmyerytrocyty?
- Zkřížené vazby mezi bazemi NK v patogenech a v leukocytech
- Ireverzibilní poškození nukleových kyselin
- **Patogeny**
 - Replikace – neprobíhá
- **Leukocyty viabilní**
 - Proliferace – neprobíhá
 - Omezená možnost prezentace antigenů
 - Snížený výskyt TA-GVHD - alternativa k ozařování ionizujícím zářením...?
 - Snížený potenciál HLA aloimunizace



Amotosalen – zkřížené vazby mezi bazemi v NK patogenů



Účinnost – Intercept

- **Gram - bakterie**

- Klebsiella pn., Yersinia enterocolitica – nízké teploty, Proteus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens...

- **Gram + bakterie**

- Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Str. pyogenes, Clostridium perfringens...

- **Viry**

- HIV 1, 2, HTLV 1, 2, HBV, HCV, WNV, CMV, Chikungunya, Dengue, Zika, Chřipka A, Adenovirus

Účinnost Intercept

- **Spirochety**

- Treponema pallidum, Borrelia Burgdorferi

- **Protozoa**

- Trypanosoma cruzi, Plasmodium falciparum, Babesia microti, Leishmania mexicana

- **Leukocyty**

- T - lymfocyty

Inaktivační postup s eliminací „všech“ patogenů?

- **Intercept není účinný**
- **Viry**
 - HAV, HEV, B 19, Poliovirus
- **Bacillus cereus - spory**

Inaktivace patogenů v trombocytech, Intercept

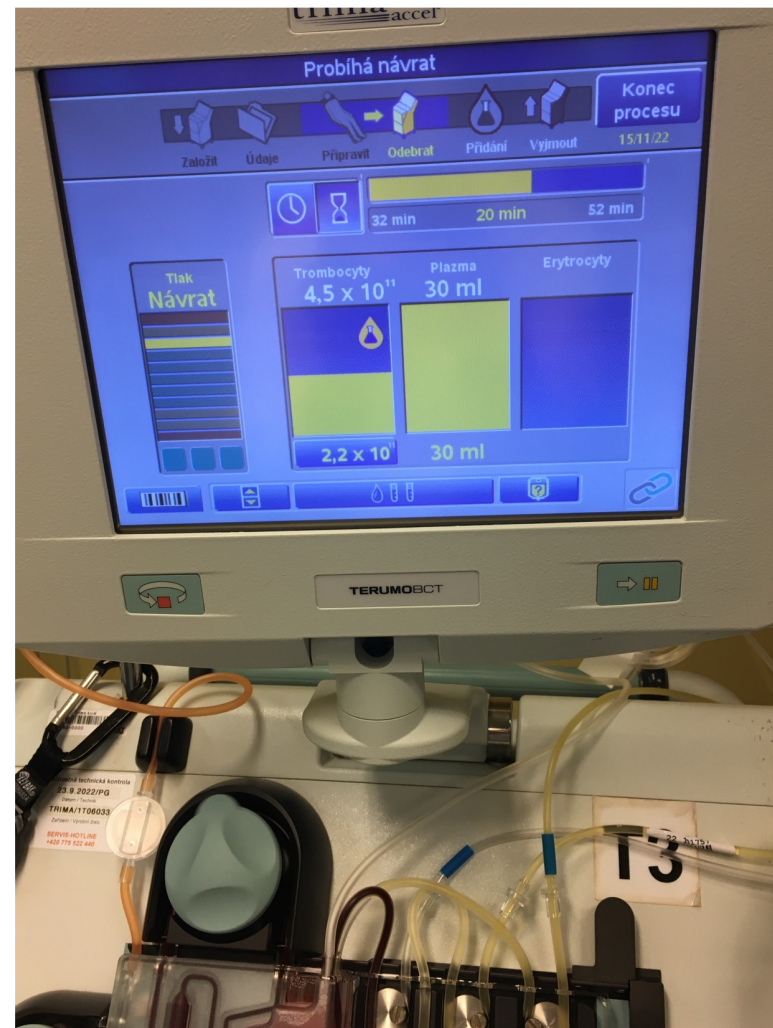
- TADI – klinická účinnost
 - Podobná ochrana proti klinicky významnému krvácení vs. standardní trombocyty (Rebulla 2022)
 - Změny v proteomu, některé práce nižší vzestup trombocytů po transfuzi
 - Neprokázány rozdíly v závažnosti krvácení po podání TADI a standardních trombocytů (Escolar, Lozano, metaanalýza 5 randomizovaných kontrolovaných studií, 2012)
 - Neprokázána závažná krvácení n. zvýšená spotřeba ERY při podání TADI a standardních trombocytů (Cochrane databáze, 9 studií, 2013)

Systém Intercept v ÚHKT

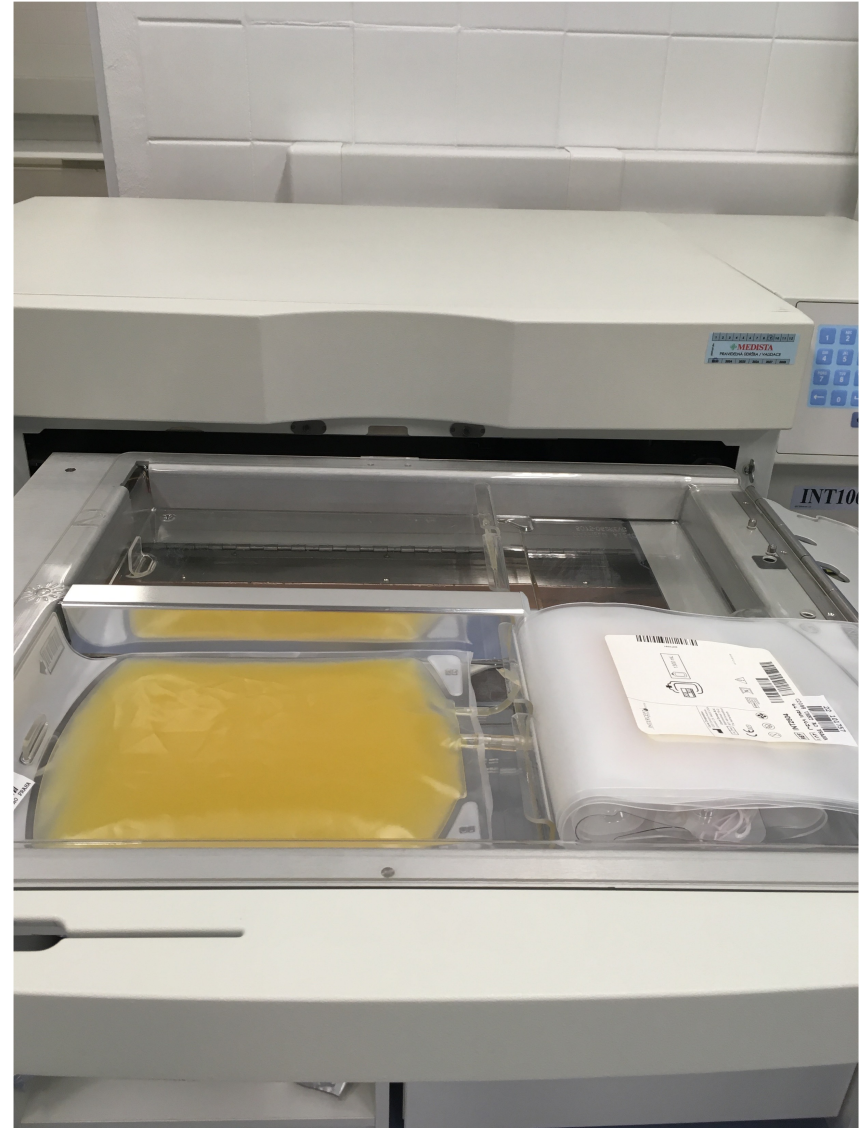
Trombocyty a plazma

- V ÚHKT (od 2010)
- Validace trombocytů
 - Složení, ery, leuko, pH, mikrobiologická kontrola
- Zdroj - Trombocyty z aferézy TADI – v náhradním roztoku
- Rutinní postup – příjemci
 - Pacienti v přípravě na HSCT a po HSCT
- Validace plazma

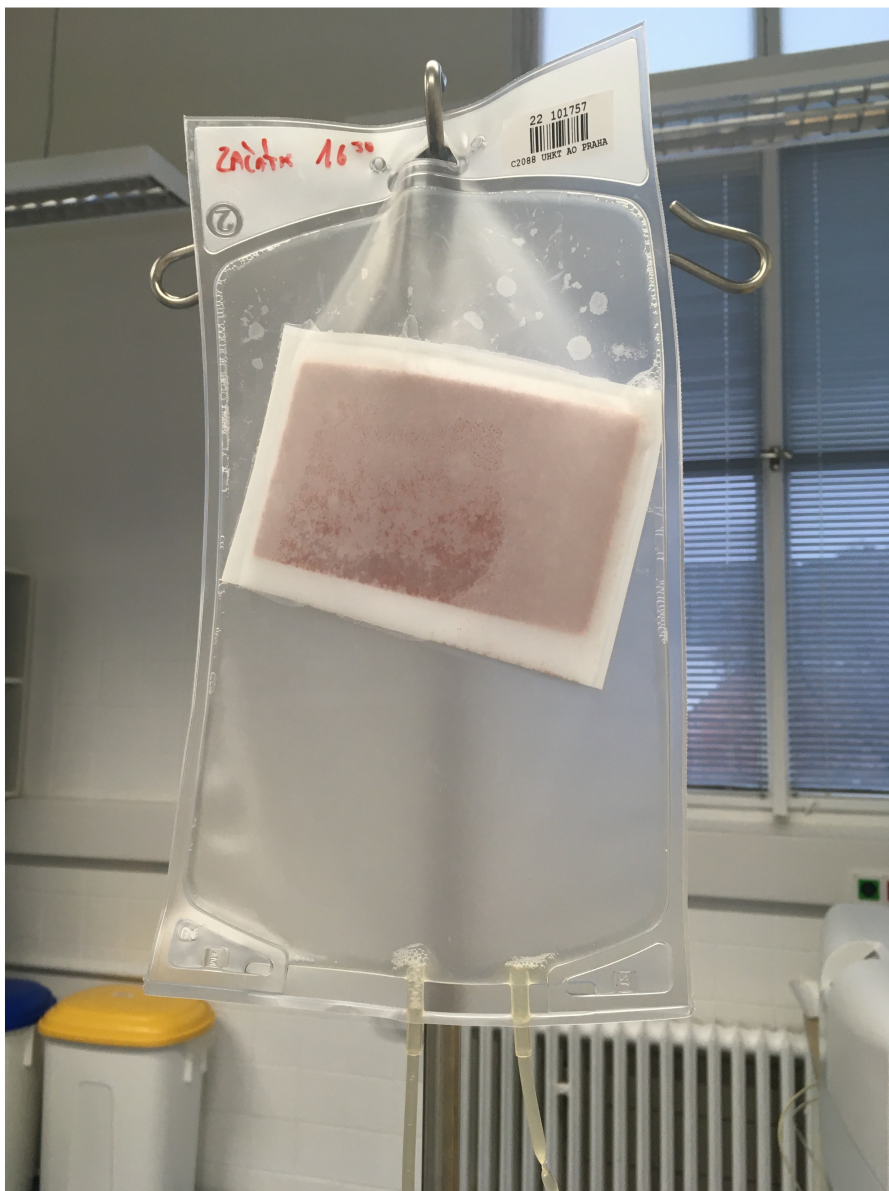
Inaktivace patogenů v trombocytech











Přípravek TADI (R), Trima, Amicus, Cerus Intercept, Iluminátor INT	2020 N= 138 TD Příjemci (61)
Objem (ml)	413 (397 – 421)
TADR (10^{11} / vak)	4,8 (4,2 – 4,9) / 2 TD
Ztráta trombocytů (%)	10 (5 – 15)
Leukocyty (10^6) / vak (NK)	0,04 (0,035 – 0,04)

Potransfuzní reakce ÚHKT	PTR nezávažné	Podané TP
2020	23	12 209 (0,2%)
2021	15	12 243 (0,1%)
PTR – TADI , nezávažná, cca 50 min, urtika, třesavka, protilátky HLA a trombo negativní, vs. alergická reakce	1	

Trombocyty patogen inaktivované

Indikace – úhrada

Trombocyty patogen-
inaktivované

i. v.

V základní úhradě platí pro patogen-inaktivované trombocyty podmínky úhrady shodné s použitím pro deleukotizované trombocyty.

Další zvýšenou úhradu lze uplatnit pouze na specializovaných pracovištích u imunosuprimovaných pacientů před alogenní transplantací a po alogenní transplantaci krvetvorných buněk.

System Intercept v ÚHKT

Plazma – pandemie Covid 19

- PAR-PI rekonvalescentní plazma (anti SARS-Cov -2, 2020-2021)
- Zdroj – Plazma z aferézy
- Inaktivace patogenů bez nutnosti 6 měsíční karantény,



Inaktivace patogenů v trombocytech – Závěr

- TADI – účinné a bezpečné
- Potransfuzní reakce výjimečné, nezávažné, alergické ...
- TADI – vhodné pro příjemce bez známých kontraindikací
 - Hypersenzitivní reakce na amotosalen .. jiné psoraleny
 - Novorozené děti na fototerapii
 - Pro vybrané nejvíce ohrožené skupiny pacientů – HSCT

Inaktivace patogenů v trombocytech – Závěr

- PIT postup – alternativa
 - K ozařování TP – prevence TA-GVHD? (FDA)
 - Validace postupu, některá pracoviště PIT techniky místo ozařování
 - K mikrobiologickému testování
- Větší srovnávací studie jednotlivých technik
- Nejvhodnější a nejdostupnější technika pro PK, ery, trombocyty, plazmu...



shutterstock.com · 1496330648

Děkuji vám za vaši pozornost