

Výroba a použití rekonvalescentní plazmy pro léčbu COVID-19 s přihlédnutím ke zkušenostem v ÚVN Praha

Miloš Bohoněk¹, David Řezáč², Michal Holub²

¹Oddělení hematologie a krevní transfuze, ÚVN Praha

²Klinika infekčních nemocí 1. LF UK a ÚVN Praha

Čas. Lék. čes. 2020; 159: 175–180

SOUHRN

Jednou z dostupných možností léčby COVID-19 je podání rekonvalescentní plazmy (RP), tj. krevní plazmy získané od osob, které již onemocněly prodělaly. Podání protilátek anti-SARS-CoV-2 obsažených v plazmě představuje způsob pasivní specifické imunizace s očekávatelnou léčebnou odpovědí. RP také může být použita k výrobě specifického imunoglobulinu. Zkušenosti z předchozích epidemických nárazů způsobených koronaviry SARS-CoV-1 a MERS-CoV ukazují, že RP obsahuje neutralizační protilátky proti příslušnému viru, které jsou pravděpodobně hlavním zdrojem jejího léčebného potenciálu. Nelze vyloučit ani další imunitní mechanismy, jako je protilátkami indukovaná buněčná cytotoxicita anebo fagocytóza. Použití RP k léčbě COVID-19 se průběhu první poloviny roku 2020 rozšířilo v mnoha zemích po celém světě a relativně běžným se stalo i v České republice, kde ke konci srpna 2020 byla pomocí RP léčena stovka pacientů. RP je indikovaná zejména u těžších případů COVID-19, které vyžadují oxigenační podporu, ideálně do 2–3 dnů po stanovení diagnózy. Naše i zahraniční zkušenosti ale ukazují příznivý efekt RP i u středně těžkých případů, které léčbu kyslíkem nepotřebují.

KLÍČOVÁ SLOVA

COVID-19, SARS-CoV-2, rekonvalescentní plazma

SUMMARY

Bohoněk M., Řezáč D., Holub M.

Production and use of convalescent plasma in COVID-19 treatment, taking into account the experience in the Central Military Hospital Prague

One of the available treatment alternatives for COVID-19 is the administration of convalescent plasma (CP), blood plasma obtained from people who have undergone the disease. Administration of anti-SARS-CoV-2 antibodies in plasma is a method of passive specific immunization with an expected therapeutic response. CP can also be used for production of a specific immunoglobulin. Experience from previous epidemic infections, caused by the coronaviruses SARS-CoV-1 and MERS-CoV, shows that CP contains neutralizing antibodies against the virus, which are probably the main source of its therapeutic potential. However, other immune mechanisms cannot be ruled out, such as antibody-induced cellular cytotoxicity and/or phagocytosis.

The use of CP for the treatment of COVID-19 spread during the first half of year 2020 in many countries worldwide and relatively common is also in the Czech Republic, where, at the end of August 2020, about 100 patients were treated with CP. The production and use of CP is governed by the national multidisciplinary guidelines from April 2020 and the recommended therapeutic dose are 2 TU RP (400–450 mL), resp. 4–6 mL/kg. CP is indicated mainly in severe cases of COVID-19, which require oxygen support, ideally within 2–3 days after diagnosis, but our and foreign experience shows a beneficial effect of CP even in moderately severe cases that do not need oxygen treatment.

KEYWORDS

COVID-19, SARS-CoV-2, convalescent plasma

ÚVOD

Při náhlém vzplanutí epidemie nové virové infekce, která zasáhne rozsáhlou populaci vnímavých osob, není cílená léčba a profylaxe onemocnění možná, pokud není k dispozici specifická antivirová terapie nebo vakcína. Typickým případem je současná pandemie infekce novým typem koronaviru (SARS-CoV-2). Ta od prosince 2019 do srpna 2020 postihla 25,5 mil. osob a v souvislosti s onemocněním označovaným COVID-19, které virus způsobuje, je hlášeno 850 000 úmrtí. V České republice bylo ke konci srpna 2020 evidováno 24 500 potvrzených případů nákazy a 425 úmrtí v souvislosti s diagnózou COVID-19. Kauzální léčba, profylaxe i prevence tohoto infekčního onemocnění jsou dosud předmětem diskusí, výzkumu a sbírání zkušeností z klinické praxe při ošetřování pacientů.

Jednou z dostupných léčebných alternativ je v této situaci podání tzv. rekonvalescentní plazmy (RP), tj. krevní plazmy získané od osob, které prodělaly COVID-19. Podání protilátek anti-SARS-CoV-2, jež RP obsahuje, představuje způsob pasivní specifické imunizace s očekávatelnou léčebnou odpovědí. RP může být použita i k výrobě imunoglobulinových koncentrátů, tj. krevních derivátů průmyslově vyrobených z plazmy. Zkušenosti z předchozích epidemických nárazů, způsobených koronaviry SARS-CoV-1 a MERS-CoV, ukazují, že RP obsahuje neutralizační protilátky proti příslušnému viru, které jsou pravděpodobně hlavním zdrojem jejího léčebného potenciálu. Nelze ovšem vyloučit ani další imunitní mechanismy, jako je protilátkami indukovaná buněčná cytotoxicita nebo fagocytóza (1–6).

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

HISTORIE POUŽITÍ REKONVALESCENTNÍ PLAZMY K LÉČBĚ INFEKČNÍCH ONEMOCNĚNÍ

Plazma odebraná pacientům, kteří se zotavili z infekčního onemocnění, byla v minulosti mnohokrát s úspěchem používána pro profylaxi nebo léčbu řady infekčních onemocnění, i když informace o účinnosti a bezpečnosti tohoto postupu byly většinou omezeny na empirické zprávy (7). Ještě delší tradici má terapeutické použití tzv. hyperimunního séra, které bylo od konce 19. století až do nástupu éry antibiotik používáno k prevenci a léčbě řady infekcí, a to bakteriálních (např. pneumokokových a meningokokových, záškrtu) i virových (např. spalniček, příušnic). Specifické imunoglobuliny dodnes představují účinnou možnost terapie a profylaxe mnoha virových onemocnění, jako jsou vzteklna, hepatitidy A a B, kongenitální cytomegalovirová infekce a další.

První rozsáhlejší použití RP bylo popsáno v období pandemie španělské chřipky (H1N1) v letech 1918–1920 a v několika tehdejších publikacích je uváděno snížení smrtelnosti chřipkové pneumonie (8–11). Toto pozorování bylo následně potvrzeno rozsáhlou metaanalýzou provedenou Lukem a kol., která hodnotila údaje celkem 1703 pacientů z 8 publikací (12). Z posledních epidemických onemocnění před infekcí SARS-CoV-2 se RP používala k léčbě virové horečky ebola, blízkoýchodního respiračního syndromu, ptačí chřipky, pandemické chřipky H1N1 a infekce SARS-CoV-1 (13–18). V Argentině je RP dokonce léčebným standardem v péči o pacienty s hemoragickou horečkou vyvolanou virem Junin, s popisovaným snížením počtu úmrtí až o 90 % (19).

Přes dlouhou historii a četné použití RP s příznivým terapeutickým efektem však stále chybějí robustní důkazy o její bezpečnosti a účinnosti, které by byly získány z klasicky prováděných klinických studií. Nedávný systematický přezkum a metaanalýza 32 publikací o použití RP při léčbě akutních respiračních infekcí virové etiologie sice potvrdil statisticky významné snížení úmrtnosti (až o 75 %), zvláště pokud byla RP podána brzy po nástupu příznaků onemocnění, nicméně hodnocené studie obvykle měly nízkou kvalitu, postrádaly zařazení kontrolních skupin a způsoby zpracování dat nedávaly záruku, že nedocházelo ke zkreslení (20, 6).

REKONVALESCENTNÍ PLAZMA PRO LÉČBU COVID-19

Od počátku pandemie infekce, jejímž původcem je SARS-CoV-2, proto bylo při hledání terapeutických možností vyvinuto značné úsilí v oblasti výroby a použití RP. První, víceméně sporadické zprávy z Číny a Itálie významně podpořila studie publikovaná v březnu 2020, která zahrnovala 10 nemocných (pouze 3 byli na umělé plicní ventilaci) a ukázala pravděpodobně velmi dobrou účinnost zmíněné léčebné metody u COVID-19, přestože RP byla podána nejčastěji až kolem 16. dne od počátku klinických obtíží (21).

Rekonvalcentní plazma, její výroba, odběry a získávání vhodných dárců se velmi brzy staly hitem odborných sdělení i mediální pozornosti. Byla zdůrazňována její relativní dostupnost i nízká a obecně známá rizika a v neposlední řadě bylo doporučeno vytvořit depo RP, aby byla k dispozici při zhoršení epidemiologické situace a opětovném šíření infekce způsobené SARS-CoV-2 (22).

Použití RP pro léčbu COVID-19 se stalo národním programem v USA, metodicky řízeným a průběžně vyhodnocovaným v *Mayo Clinic* v Minnesotě. V poslední publikované multicen-

trické studii bylo zhodnocena léčba podáváním RP u 35 322 pacientů. Data byla získána z 2807 zařízení akutní lůžkové péče. Potvrzují nejen bezpečnost terapie pomocí RP, ale i pozitivní efekt na přežití pacientů s kovidem. Mimo jiné byl potvrzen jednoznačný přínos včasného podání RP u pacientů v závažném stavu, kdy 7denní letalita u kriticky nemocných, kteří obdrželi RP během 3 dnů od diagnózy, dosáhla 8,7 % ve srovnání s 11,9 % ve skupině pacientů, kteří RP obdrželi za ≥ 4 dny po stanovení diagnózy. Podobné výsledky byly zaznamenány i u 30denního přežití (21,6 % oproti 26,7 %). Jako důležitý faktor se potvrdila i koncentrace protilátek anti-SARS-CoV-2 třídy IgG obsažených v RP – jejich vyšší hladina měla významný vliv na přežití (23).

Získávání dostatečného množství RP se nicméně ukázalo jako náročný odborný a logistický problém. Jednou z významných komplikací je nestálá a poměrně slabá protilátková odpověď po prodělání infekce způsobené SARS-CoV-2. Dostatečnou odpověď jeví spíše osoby, u nichž se při kovidu dostavily významnější klinické projevy. To ale zase může být z klinického pohledu a kvůli bezpečnosti dárce na překážku odběru. Ke zvýšení hladin protilátek dochází u většiny pacientů ve 2. týdnu po nástupu příznaků, resp. 3–4 týdny po infekci. Zpočátku, v prvním týdnu detekovatelné protilátkové odpovědi, se objevují protilátky třídy IgA a IgM, o týden později pak protilátky třídy IgG. Dosažená hladina protilátek třídy IgA a IgM klesá a postupně mizí již po 2–3 měsících, přičemž pravděpodobně protektivní hladina protilátek třídy IgG klesá po 6 měsících nebo i dříve. Předmětem intenzivního výzkumu imunitní odpovědi na infekci je tedy zejména buněčná imunita (24).

Nízká a krátkodobá protilátková odpověď klade zvýšené nároky na nábor vhodných dárců krve. Zdaleka ne každý, kdo prodělal infekci koronavirem SARS-CoV-2, je vhodným dárce, a pokud se ukáže jím být, je potřeba provést odběr ve vhodný čas a v omezeném čase. Transfuzní služba musí použít všechny náborové možnosti a zvláštěn kampaně. Odběry a zpracování RP vyžadují též nové algoritmy vyšetřování dárců i plazmy a modifikované výrobní postupy. Nejeftektivnějším způsobem jsou přístrojové aferetické odběry pomocí separátorů krevní plazmy, kdy jednou plazmaferézou je možné získat až 3 transfuzní jednotky (TU) o objemu 200–250 ml. Frekvence jednotlivých odběrů je daná národní legislativou a množstvím odebírané plazmy a pohybuje se v intervalu 48 hodin až 14 dní. Jednu TU RP je možné získat i z klasických odběrů plné krve a tento způsob lze využít u osob, které z různých důvodů nejsou vhodné pro přístrojové odběry nebo jim tento způsob odběru nevyhovuje.

ODBĚRY A VÝROBA RP V ČR

Trend použití RP k léčbě COVID-19 byl od počátku zachycen i v České republice a klinická skupina COVID při Ministerstvu zdravotnictví ČR (MZ ČR) již 27. března 2020 publikovala doporučený postup „Specifická léčba dospělých pacientů s infekcí COVID-19“, kde podání RP bylo spolu s léčivem remdesivirem uvedeno mezi postupy „ke zvážení“. Následně pak byly 30. dubna 2020 vydány multioborové pokyny jak získávat a používat RP obsahující anti-SARS-CoV-2, a to pod názvem „Doporučený postup pro použití RP v léčbě dospělých pacientů s COVID-19“. O postupech výroby RP se průběžně diskutovalo a v ČR byla zahájena již 20. dubna 2020. Do výroby RP se postupně v Česku zapojilo 11 zařízení transfuzní služby, která dosud vyprodukovala více než 1000 TU RP, a léčbu tímto přípravkem již podstoupilo téměř 100 pacientů.

Pro získání dostatečného množství RP je hlavním úkolem zaměřit se na vyhledávání vhodných dárců - rekonvalescentů. Dárce rekonvalescentní plazmy obsahující protilátky anti-SARS-CoV-2 může být pouze osoba, která prodělala COVID-19 a jejíž vyléčení bylo potvrzeno negativním kontrolním vyšetřením přítomnosti SARS-CoV-2 polymerázovou řetězovou reakcí (PCR). Odběr RP je možný nejdříve za 14 dní od 2. negativního výsledku. Dárce RP, která je anti-SARS-CoV-2 pozitivní, splňuje kritéria pro dárce krve a jejích složek podle vyhlášky č. 143/2008 Sb., o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi), ve znění pozdějších předpisů. Způsobilost dárce k odběru potvrzuje lékař ze zařízení transfuzní služby.

S přibýváním uzdravených osob vhodných a ochotných darovat plazmu se bude zvyšovat dostupnost tohoto léčivého přípravku. Tomu musejí odpovídat i podmínky a možnosti odběru RP, její výroby, vyšetření a zpracování, které je určitým způsobem specifické, tak aby odebraná plazma byla maximálně bezpečná a současně aby od vhodného dárce bylo možné získat co nejvíce jednotek RP v krátkém časovém intervalu.

Výběr dárců by měl odpovídat i uvedenému předpokladu, že protilátková odpověď je vyšší u pacientů, kteří prodělali nárůz koronavirem SARS-CoV-2 s klinickými příznaky, minimálně ve formě zvýšené tělesné teploty. Získané zkušenosti ukázaly, že protilátková odpověď je dostatečná pouze přibližně u 40 % dárců RP a nejméně intenzivnější je u lidí, kteří covid prodělali s klinicky významným průběhem a s respiračními příznaky.

Nábor dárců RP není jednoduchý. Obvykle totiž nedochází k jejich hledání v zavedených databázích dárců krve vedených transfuzní službou, ale je nutné rekrutovat je z řad osob, které dosud krev a její složky nedarovaly, přičemž zásadním kritériem je prodělání infekce koronavirem SARS-CoV-2, ideálně COVID-19 s klinickými projevy. Je proto nutné využít veškeré dostupné možnosti, jako jsou sociální sítě, webové stránky a masmédiá. V ÚVN bylo kromě toho zřízeno speciální call centrum, jež denně oslovovalo pacienty, kteří prošli odběrovými místy ÚVN a byli testováni na SARS-CoV-2 s pozitivním výsledkem. Dalším „zdrojem“ dárců jsou pacienti léčení na Klinice infekčních nemocí 1. LF UK a ÚVN Praha. Výbornou službu v tomto smyslu zajistila též Česká lékařská komora (ČLK), která rozeslala všem svým členům výzvu a žádost o nábor potenciálních dárců RP. Oddělení hematologie a krevní transfuze (OHKT) ÚVN se podařilo kombinací všech výše uvedených způsobů zajistit v krátké době několik set ochotných dárců RP, z nichž bylo možné na základě testů protilátek vybírat ty nejvhodnější. Na tomto místě je nutné vyzdvihnout vlnu solidarity, kdy dárce byli ochotní dojíždět darovat RP i z velmi vzdálených míst, a to bez nároku na odměnu.

Plazma je v ČR v drtivé většině získávána od vhodných dárců metodou plazmaferézy, již se z jednoho odběru získají až 3 TU RP; sporadicky se plazma vyrábí i z plné krve po odstředění erytrocytů. Určitou komplikací českého programu výroby RP je národní legislativa, která neumožňuje provádět odběry častěji než v intervalu 14 dní, což znemožňuje získání většího množství plazmy od vhodných dárců během omezené doby, kdy je protilátková odpověď maximální.

Protože u odebrané plazmy není možné splnit podmínky 6měsíční karantény, je vhodné do procesu výroby zařadit postupy patogen-redukční technologie (PRT), kdy po přidání

fotoaktivního činidla a následném ozáření UV paprsky dojde k ireverzibilnímu narušení šroubovice nukleové kyseliny případného infekčního agens. Na OHKT ÚVN Praha byl za tímto účelem pořízen systém Mirasol (Terumo BCT, USA), který jako fotoaktivní činidlo používá riboflavin (obr. 1 a 2).

Dalším kritériem pro výběr dárců RP pro přímé klinické použití je snížení rizika vzniku TRALI (*transfusion-related acute lung injury*), výběr je tedy zúžen na osoby, které nemají v anamnéze možnou HLA aloimunizaci (tj. neobdrželi krevní transfuzi, ženy nebyly těhotné), případně mohou být dárce



Obr. 1 Přidání riboflavinu do odebrané krevní plazmy

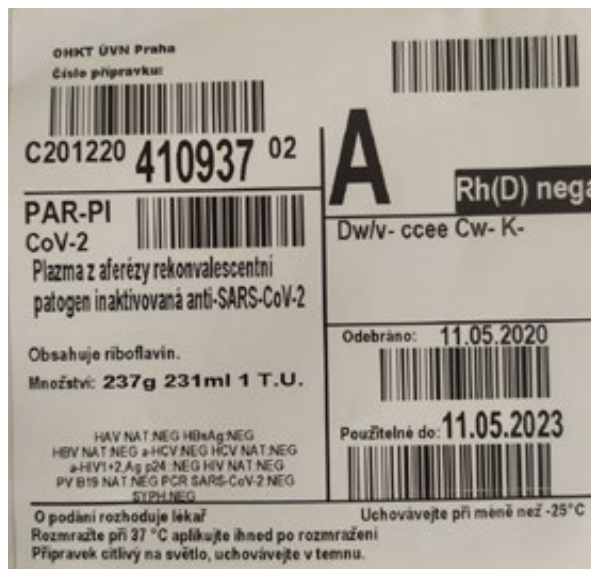


Obr. 2 Vložení vaku s plazmou do iluminačního přístroje

PŘEHLEDVÝ ČLÁNEK

vyšetření na přítomnost HLA protilátek. Plazmu od dárců RP, kteří nesplňují kritérium snížení rizika vzniku TRALI, však lze použít k výrobě specifického imunoglobulinu anti-SARS-CoV, na čemž intenzivně pracuje farmaceutický průmysl zabývající se zpracováním plazmy. Tento specifický imunoglobulin by v budoucnu měl nahradit samotnou RP.

V neposlední řadě je třeba mít na paměti, že při podání krevní plazmy je nutné respektovat skupinovou kompatibilitu v základním systému ABO, což může též komplikovat její dostupnost a použitelnost (obr. 3).



Obr. 3 Štítek vaku s rekonvalescentní plazmou

Ačkoliv konsenzuální doporučený postup odborných společností ČLS JEP týkající se použití RP byl původně formulován pouze pro léčbu závažnějších průběhů kovidu (vyžadujících oxigenační terapii nebo ventilační podporu), faktem zůstává, že pasivní protilátková terapie je obecně účinnější v profylaxi než při léčbě již rozvinutého onemocnění. Při terapeutickém použití je specifická protilátková terapie nejúčinnější, je-li podána krátce po nástupu příznaků. Příčina tohoto jevu není zcela jasná. Vysvětlením je patrně prostá skutečnost, že neutralizační protilátky se snáze vyrovnají s počáteční infekcí než s masivní virovou náloží při rozvinutém onemocnění. Dále může být důvodem skutečnost, že protilátková reakce je při rozvinutém zánětu modifikována (25, 26). Řada pracovišť proto brzy přijala a uvedla do praxe jako nejvhodnější použití RP v časných stadiích infekce, kdy pacient ještě nemá vlastní protilátky.

Účinnost terapie pasivní imunizací současně závisí na množství podaných protilátek. To je v případě podávání rekonvalescentní plazmy anti-SARS-CoV-2 zatím nejasné, ale od počátku byl přijat princip, že RP by měla obsahovat protilátky anti-SARS-CoV-2, jejichž koncentrace je ve virus-neutralizačním testu (VNT) minimálně 1 : 320. Časem byla doporučená hodnota titru VNT snížena na 1 : 160 a ještě akceptovatelné je použití RP při titru 1 : 80. Léčebná dávka RP zůstává od počátku stejná: 400–500 ml, tj. 2 TU RP (200–250 ml/1 TU), resp. 4–6 ml/kg (27). Důvodem pro úpravu limitního titru VNT byl zejména výše uvedený relativně malý počet dárců s dostatečnou protilátkovou odpovědí.

Principem VNT je inhibice cytopatického působení viru na buňky v důsledku přítomnosti neutralizačních protilátek ve vzorku. Pro test *in vitro* se používají tkáňové kultury buněk vnímavých k infekci a virus SARS-CoV-2. Jedná se o funkční biologický test s odpovídajícími nároky na způsob provedení a čas. VNT lze ovšem provádět pouze v laboratořích s bezpečnostním režimem BSL-3 nebo BSL-4 (*biosafety level*), které v podmínkách ČR podléhají schválení Státním úřadem pro jadernou bezpečnost (SÚJB), což v rutinních laboratořích nemocnic nebo v laboratořích zařízeních transfúzní služby není reálné. Jedná se o biologický test s relativně malou kapacitou počtu vyšetřovaných vzorků, který probíhá 5 dnů. Takových biologických laboratoří je v ČR pouze několik. Jedna z nich se nachází ve Vojenském zdravotním ústavu v Těchoníně. Tato laboratoř zajišťuje většinu vyšetření VNT pro výrobu RP v ČR. Dalšími pracovišti, která se danou problematikou zabývají, jsou laboratoř Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě, v menší míře pak laboratoř FN Hradec Králové a pracoviště Akademie věd v Českých Budějovicích. Je proto potřeba hledat možné korelace s rutinními imunologickými testy na stanovení specifických protilátek, zejména třídy IgG, a také důvody nízké protilátkové odpovědi při COVID-19.

Přes skutečnost, že výroba a podání RP v rámci terapeutických možností a jejich praktického použití není v ČR okrajovou záležitostí, u nás bohužel dosud nebyl zaveden žádný centrální systém sběru a vyhodnocování dat o výrobě a použití RP. Zatím proto nejsou dostupné žádné domácí údaje o klinickém efektu a případných nežádoucích účincích, ačkoliv zmíněné doporučení obsahuje výčet těch základních. MZ ČR bylo opakovaně na tuto skutečnost upozorněno a byl předložen i návrh metodiky, který vychází z doporučení Evropské unie (EU) a požadavku na reportování těchto dat v rámci EU, nicméně žádné organizační opatření v tomto smyslu stále nebylo vydáno (27).

Indikace a použití RP je tedy zatím v Česku velmi individuální a záleží v první řadě na přístupu jednotlivých pracovišť a vlastních nebo dostupných publikovaných zahraničních zkušenostech. Obdobná situace přetrvává bohužel i v oblasti stanovení neutralizačních protilátek proti SARS-CoV-2, protože jednotlivé laboratoře využívají různou metodiku laboratorního vyšetření a hodnocení výsledků. Mezi pracovišti tedy v současné době nelze porovnat ani kvalitu vyráběné a podávané RP, protože výsledky některých laboratoří se liší až o 2 řády (!). Standardizace laboratorních vyšetření je v gesci Státního zdravotního ústavu (SZÚ), který byl na problematiku upozorněn, ale ani v tomto případě se klinicky a laboratorní terén zatím nedočkal hmatatelného výsledku. Jednotlivá pracoviště si proto nacházejí vlastní korelaci mezi výsledky VNT a různými dostupnými komerčními imunoesejemi a v řadě případů se při výdeji vhodné plazmy orientují jen podle hladiny IgG.

KLINICKÉ ASPEKTY POUŽITÍ RP K LÉČBĚ COVID-19

COVID-19 představuje významný terapeutický problém, protože dosud není k dispozici jednoznačně účinná protivirotikum remdesivir, které bylo původně vyvinuto pro léčbu hepatitidy C a u něhož se předpokládá účinnost i proti viru horečky ebola (28). Bylo prokázáno, že proti SARS-CoV-2 je remdesivir účinný *in vitro*, a je proto podrobován intenzivní

mu klinickému zkoušení. Aktuálně jsou k dispozici výsledky 3 kontrolovaných randomizovaných studií s remdesivirem, jež jeho efekt zčásti potvrzují, nicméně především u středně závažných průběhů kovidu, tj. u pacientů s pneumonií vyvolanou SARS-CoV-2, kteří nepotřebují oxygenoterapii. Remdesivir se rovněž zdá být účinný u nemocných s těžkým průběhem kovidu, kdy je oxygenoterapie nutností. Na druhou stranu při kritickém průběhu onemocnění, u pacientů na umělé plicní ventilaci (UPV) a nemocných na extrakorporální membránové oxygenaci (ECMO) se efekt remdesiviru zatím nepotvrdil (29–31). I to je důvod přetrvávajícího zájmu o RP v léčbě kovidu.

Největší databáze zaznamenávající klinické použití RP u COVID-19, která je dostupná na webové stránce *Mayo Clinic*, k 23. srpnu 2020 uváděla 71 tisíc případů podání RP pacientů s kovidem, k němuž došlo ve 2780 nemocnicích v USA. Předběžná analýza výsledků léčby pomocí RP byla provedena na souboru 35 322 nemocných, z nichž 52,3 % bylo hospitalizováno na JIP a 27,5 % bylo na UPV. Závěry této předběžné analýzy jsou povzbuzivé, neboť ukázaly, že časné podání RP během prvních 3 dnů od stanovení diagnózy vede ke zlepšení přežití kritického průběhu kovidu. V kohortě 3082 nemocných pak bylo prokázáno, že se zlepšeným přežitím koreluje i vyšší hladina VNT v podané RP (23). Databáze *Mayo Clinic* rovněž zaznamenává závažné nežádoucí účinky při aplikaci RP. Z analýzy těchto dat je patrné, že terapie RP je bezpečná. Americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) proto schválil rozšířený přístup k RP.

V této souvislosti je ovšem nutné zdůraznit, že ačkoliv uvedená data jsou robustní, nepředstavují klasickou kontrolovanou studii dodržující rigorózní principy. Pro zařazení do studie jsou totiž využívána velmi široká kritéria, naopak vyřazování nemocných je značně limitované a také není využíván standardizovaný léčebný protokol, což je jedním z důvodů nejasností kolem vhodné dávky RP. Na druhou stranu jde skutečně o ojedinělou databázi, která nemá v EU obdoby, a je proto cenným zdrojem pro tvorbu národních léčebných postupů i denní praxi u pacientů s kovidem.

ZKUŠENOSTI S LÉČBOU COVID-19 POMOCÍ RP V ÚVN

Na Klinice infekčních nemocí 1. LF UK a ÚVN Praha byla RP do 20. srpna 2020 celkově podána 27 pacientům s COVID-19. Z tohoto souboru 3 pacienti svému onemocnění podlehl. Je však potřeba zdůraznit, že u všech zemřelých nebylo indikované rozšířování péče o metody intenzivní medicíny pro již pokročilé komorbidity, a proto terapii RP můžeme za dané situace hodnotit jako *ultimum refugium*. U nikoho v tomto souboru pacientů nebyla nutná UPV ani poskytnutí jiné orgánové podpory, u části pacientů UPV vůbec nebyla terapií volby.

Indikace RP se vyvíjela a měnila v čase v souvislosti s novými poznatky v odborné literatuře, dále vlivem námi získané empirické zkušenosti a rovněž nabídkou dalších léčiv označovaných jako vhodná k terapii COVID-19 (32–34).

Rekonvalescentní plazmu jsme zprvu indikovali striktně u pacientů s těžkým průběhem kovidu na oxygenoterapii a s negativním testem na přítomnost protilátek anti-SARS-CoV-2. Následně jsme indikační kritéria rozvolnili a RP podáváme i pacientům se středně těžkým průběhem, kteří nepotřebují léčbu kyslíkem. Ve 2 případech byla plazma dokonce indikována i u pacientů s již detekovanými pro-

tilátkami anti-SARS-CoV-2, a to s velmi dobrým klinickým efektem. Při výběru terapeutické strategie aktivně využíváme pro posuzování rizikivosti pacienta skórovací systém MuLBSTA (multilobární infiltrace, lymfopenie, bakteriální koinfekce, kuřácká anamnéza, esenciální hypertenze, věk) sloužící k predikci letality virových pneumonií a závažnost onemocnění určujeme podle kritérií vydaných Světovou zdravotnickou organizací (WHO) (35, 36).

Na základě našich zkušeností i dosavadního hodnocení souboru pacientů registrovaných *Mayo Clinic* podáváme RP „co nejdříve“ všem pacientům se středně těžkým až těžkým průběhem kovidu, kteří ideálně mají negativní protilátkový test. Od tohoto přístupu si slibujeme snížení letality a rovněž počtu pacientů s progresí do těžkých nebo kritických průběhů kovidu, což naznačují i data z dostupných prací (33, 34). U pacientů s těžkým průběhem onemocnění s nutností oxygenoterapie primárně preferujeme podávání remdesiviru. Navzdory tomu, že dosavadní práce pouze naznačují účinnost RP u kriticky nemocných pacientů, u pacientů na UPV v našem zařízení podáváme RP v kombinaci s remdesivirem ve snaze poskytnout maximální možnou léčbu COVID-19.

V den příjmu u každého hospitalizovaného pacienta bez ohledu na tíži onemocnění vyšetřujeme krevní skupinu spolu s panelem zahrnujícím krevní obraz, biochemické parametry krevního séra a močového sedimentu, koagulační parametry a v indikovaných případech odebíráme i hemokultury. Tento přístup se osvědčil jako velmi praktický, protože v případě potřeby podání RP není nutné se zdržovat dodatečnými odběry a plazma je po vyplnění žádanky a jejího odeslání OHKT ÚVN do 30 minut k dispozici na lůžkovém oddělení, připravena k podání. V praxi jsme se opakovaně setkali s nedostatkem RP skupiny AB, která nemusí být vzhledem ke svému omezenému výskytu v populaci jednoduše a rychle k dispozici.

V prvních hodinách od příjmového vyšetření je u drtivé většiny pacientů doplněno nativní CT vyšetření plic s vysokým rozlišením (HRCT) k posouzení rozsahu postižení plicního parenchymu. U většiny pacientů je před podáním RP k dispozici výsledek rychlotestu na přítomnost protilátek anti-SARS-CoV-2, který je vždy součástí příjmového vyšetření. S výsledky laboratorních vyšetření s přihlédnutím k odebrané kompletní anamnéze a se znalostí nálezu fyzikálního vyšetření a vitálních funkcí máme k dispozici veškeré informace k určení tíže průběhu onemocnění, a tím i strategie léčby.

Rozmrazenou a zahřátou RP podáváme nitrožilně tak, aby aplikace byla ukončena v rozmezí 30 a 60 minut. Rekonvalescentní plazma musí být podána do 6 hodin od rozmrazení. Dávka RP činí v drtivé většině 2 TU na pacienta, výjimečně u značně obézních nemocných podáváme větší množství plazmy, které odpovídá dávkování 4–6 ml/kg. Plazmu podáváme vždy postupně, což znamená, že pokud nedojde k rozvoji nežádoucích účinků po podání první TU RP, žádáme o vydání další TU v pořadí.

Na našem pracovišti jsme se dosud u žádného z pacientů nesešli s nežádoucími účinky v souvislosti s podáním RP. Opatrnosti musíme dbát u pacientů léčených warfarinem; nemocné trvale antikoagulované kumarinovými preparáty je proto nutné převádět na nízkomolekulární heparin. Zároveň všechny pacienty, kteří nejsou dlouhodobě antikoagulováni, po podání RP zajišťujeme nízkomolekulárním heparinem k profylaxi tromboembolické nemoci.

PŘEHLEDVÝ ČLÁNEK

Poděkování

Práce byla podpořena projektem institucionální podpory MO1012.

Čestné prohlášení

Práce nepředstavuje ve vztahu k RP žádný střet zájmů. Michal Holub je konzultantem firmy Gilead pro klinické použití preparátu remdesivir.

Seznam použitých zkratk:

BSL	biosafety level
FDA	Food and Drug Administration
HRCT	výpočetní tomografie s vysokým rozlišením
JIP	jednotka intenzivní péče
MuLBSTA	multilobární infiltrace, lymfopenie, bakteriální koinfekce, kuřácká anamnéza (smoking), esenciální hypertenze (tension), věk (age)
OHKT	oddělení hematologie a krevní transfuze
PCR	polymerázová řetězová reakce
RP	rekonvalescentní plazma
SARS-CoV	severe acute respiratory syndrome coronavirus
MERS-CoV	Middle East respiratory syndrome coronavirus
TRALI	transfusion-related acute lung injury
TU	transfusion unit
UPV	umělá plicní ventilace
ÚVN	Ústřední vojenská nemocnice
VNT	virus-neutralizační test
WHO	Světová zdravotnická organizace.

Literatura

1. Woo PCY, Lau SK, Wong BH et al. Longitudinal profile of immunoglobulin G (IgG), IgM, and IgA antibodies against the severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus nucleocapsid protein in patients with pneumonia due to the SARS coronavirus. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11: 665–668.
2. Cheng Y, Wong R, So YOY et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 44–46.
3. Yeh KM, Chiueh TS, Siu LK et al. Experience of using convalescent plasma for severe acute respiratory syndrome among healthcare workers in a Taiwan hospital. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 919–922.
4. Zhang JS, Chen JT, Liu YX et al. A serological survey on neutralizing antibody titer of SARS convalescent sera. *J Med Virol* 2005; 77: 147–150.
5. Arabi MA, Hajeer HA, Luke T et al. Feasibility of using convalescent plasma immunotherapy for MERS-CoV infection, Saudi Arabia. *Emerg Infect Dis* 2016; 22: 1554–1561.
6. Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK 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. *J Infect Dis* 2015; 211: 80–90.
7. Garroud O, Heshmati F, Pozzetto B et al. Plasma therapy against infectious pathogens, as of yesterday, today and tomorrow. *Transfus Clin Biol* 2016; 23: 39–44.
8. Brown BL, McCullough J. Treatment for emerging viruses: convalescent plasma and COVID-19. *Transfus Apher Sci* 2020; 59: 102790.
9. Cao H, Shi Y. Convalescent plasma: possible therapy for novel coronavirus disease 2019. *Transfusion* 2020; 60: 1078–1083.
10. Tiberghien P, de Lamballiere X, Morel P et al. Collecting and evaluating convalescent plasma for COVID-19 treatment: why and how? *Vox Sang* 2020, doi: 10.1111/vox.12926.
11. Rajendran K, Krishnasamy N, Rangarajan J et al. Convalescent plasma transfusion for the treatment of COVID-19: systematic review. *J Med Virol* 2020, doi: 10.1002/jmv.25961.
12. Luke TC, Kilbane EM, Jackson JL, Hoffman SL. Meta-analysis: convalescent blood products for Spanish influenza pneumonia: a future H1N1 treatment? *Ann Intern Med* 2006; 145: 599–609.
13. Kraft CS, Hewlett AL, Koepsell S et al. The use of TKM-100802 and convalescent plasma in 2 patients with Ebola Virus Disease in the United States. *Clin Infect Dis* 2015; 61: 496–502.
14. Zhou B, Zhong N, Guan Y. Treatment with convalescent plasma for influenza A (H5N1) infection. *N Engl J Med* 2007; 357: 1450–1451.
15. Hung IF, To KK, Lee CK et al. Convalescent plasma treatment reduced mortality in patients with severe pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus infection. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 447–456.
16. Casadevall A, Dadachova E, Pirofski L. Passive antibody therapy for infectious diseases. *Nature Microbiol Rev* 2004; 2: 695–703.
17. Use of convalescent whole blood or plasma collected from patients recovered from Ebola Virus Disease for transfusion, as an empirical treatment during outbreaks. WHO Interim Guidance for National Health Authorities and Blood Transfusion Services, Version 1.0, WHO/HIS/SDS/2014.8. *World Health Organization*, 2014.
18. Sahr F, Ansumana R, Massaquoi TA et al. Evaluation of convalescent whole blood for treating Ebola Virus Disease in Freetown, Sierra Leone. *J Infect Dis* 2017; 74: 302–309.
19. Enria DA, Maiztegui JI. Antiviral treatment of Argentine hemorrhagic fever. *Antiviral Res* 1979; 23: 23–31.
20. Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK 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. *J Infect Dis* 2015; 211: 80–90.
21. Duan K, Liu B, Li C et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117: 9490–9496.
22. Roback JD, Guarner J. Convalescent plasma to treat COVID-19: possibilities and challenges. *JAMA* 2020; 323: 1561–1562.
23. Joyner MJ et al. Effect of convalescent plasma on mortality among hospitalized patients with COVID-19: initial three-month experience. *medRxiv* 2020; 2020.08.12.20169359.
24. Qu J, Wu C, Li X et al. Profile of immunoglobulin G and IgM antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis* 2020, doi: 10.1093/cid/ciaa489
25. Casadevall A, Scharff MD. "Serum therapy" revisited: Animal models of infection and the development of passive antibody therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1695–1702.
26. Casadevall A, Pirofski LA. The convalescent sera option for containing COVID-19. *J Clin Invest* 2020; 130: 1545–1548.
27. COVID-19: Transfuzie rekonvalescentní plazmy. *Evropská komise*, 2020. Dostupné na: https://ec.europa.eu/health/blood_tissues_organ/covid-19_cs
28. Wang Y, Zhang D, Du G et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2020; 395: 1569–1578.
29. Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA* 2020; 323: 1824–1836.
30. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE et al. Remdesivir for the treatment of COVID-19 - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2007764.
31. Spinner CD, Gottlieb RL, Criner GJ et al. Effect of remdesivir vs standard care on clinical status at 11 days in patients with moderate COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA* 2020; 324: 1048–1057.
32. Li L, Zhang W, Hu Y et al. Effect of convalescent plasma therapy on time to clinical improvement in patients with severe and life-threatening COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA* 2020; 324: 460–470.
33. Liu Z. Errors in trial of effect of convalescent plasma therapy on time to clinical improvement in patients with severe and life-threatening COVID-19. *JAMA* 2020; 324: 518–519.
34. Xia X, Li K, Wu L et al. Improved clinical symptoms and mortality among patients with severe or critical COVID-19 after convalescent plasma transfusion. *Blood* 2020; 136: 755–759.
35. Guo L, Wei D, Zhang X et al. Clinical features predicting mortality risk in patients with viral pneumonia: The MuLBSTA Score. *Front Microbiol* 2019; 10: 2752.
36. Clinical management of COVID-19: interim guidance. *World Health Organization*, 2020.

ADRESA PRO KORESPONDENCI:

plk. MUDr. Miloš Bohonek, Ph.D.

Oddělení hematologie a krevní transfuze ÚVN
U Vojenské nemocnice 1200, 169 02 Praha 6

Tel.: 973 203 210

e-mail: milos.bohonek@uvn.cz