

# Kryoprotein ošetřený metodou redukce patogenů a jeho klinické použití

Eva Tesařová

Ekonomický odbor

(Transfuzní a tkáňové oddělení)

[tesarova.eva@fnbrno.cz](mailto:tesarova.eva@fnbrno.cz)

**10. střešovické transfuzní dny**

# Rizika transfuze

Bakterie

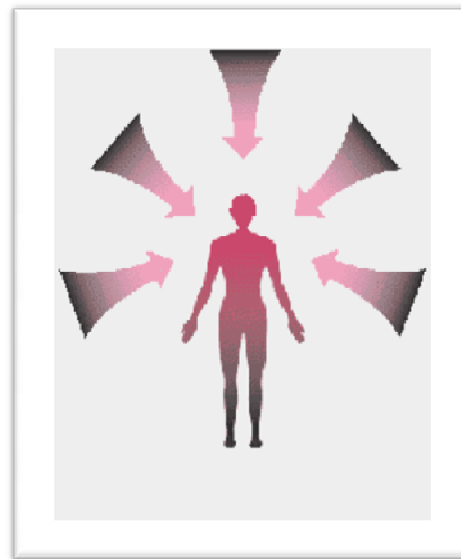
Viry

Imunologická rizika

Nežádoucí  
kontaminace  
leukocyty  
Lidský faktor

Paraziti

Priony



Plísně, houby

Neznámé patogeny

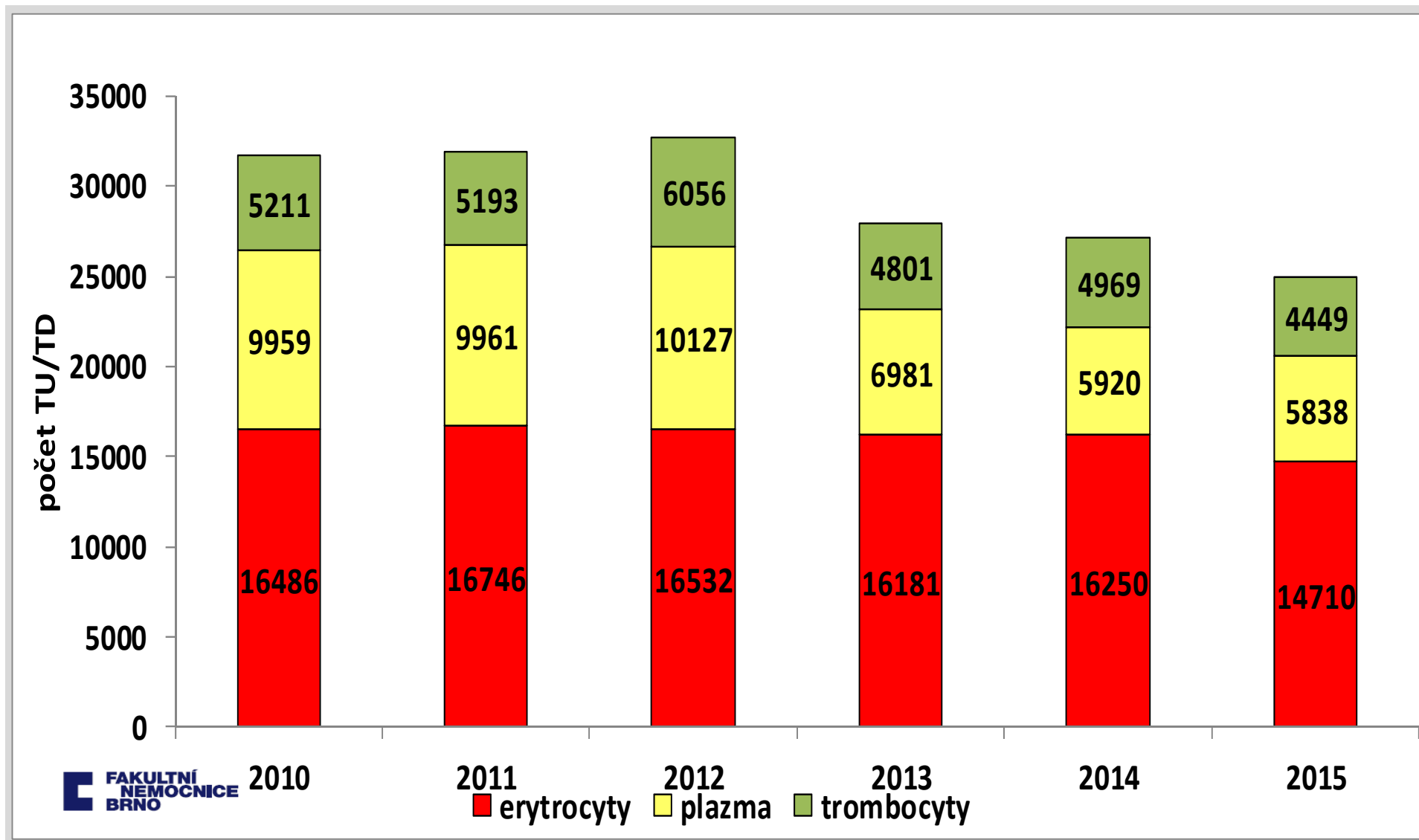
Toxicita  
Kontaminujících  
látek

Příjemce transfuze

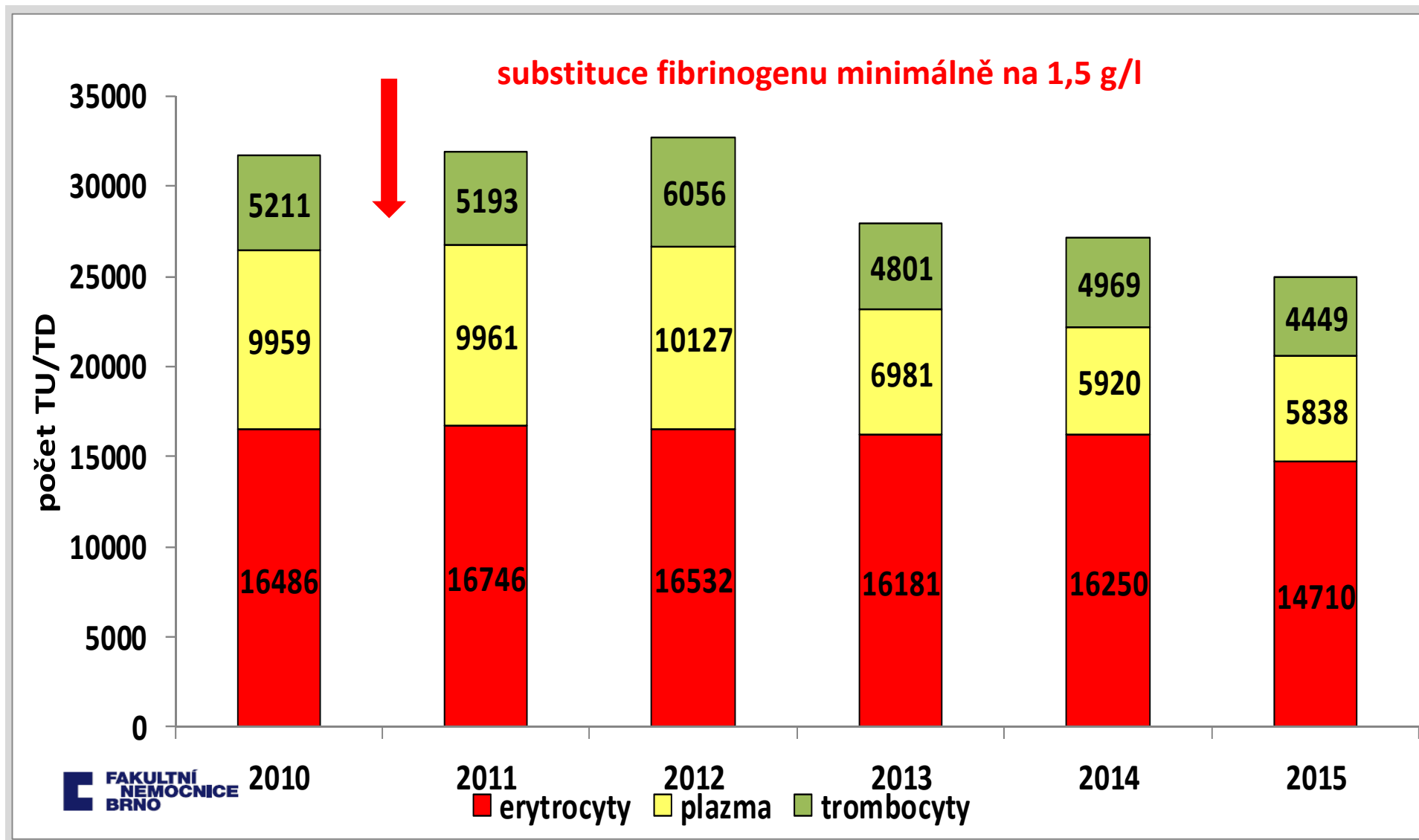
# Preventivní opatření TTO FN Brno

- 2006 – klinická plazma výhradně od dárců mužů
- 2008 – výroba směsných trombocytů v PAS
- 2010 – trombocyty v PAS plošně
- 2010 – trombocyty prestorage deleukotizované plošně
- 2010 – detekce RNA HIV a HCV, DNA HBV (RT PCR, MPX ROCHE<sup>®</sup>)
- 2011 – plazma výhradně od dárců - mužů bez transfuze
- 2012 – zkrácení karantény plazmy ze 6 na 4 měsíce
- 2012 – prestorage ERD KS 0 RhD negat.
- 2012 – PI plazma, trombocyty CERUS<sup>®</sup>
- 2012 – OCTAPLAS<sup>®</sup>
- 2013 – PI kryoprotein CERUS<sup>®</sup> (validace)
- 2014 – PI kryoprotein CERUS<sup>®</sup> (výroba)
- 2015 – PI kryoprotein CERUS<sup>®</sup> (nabídka)

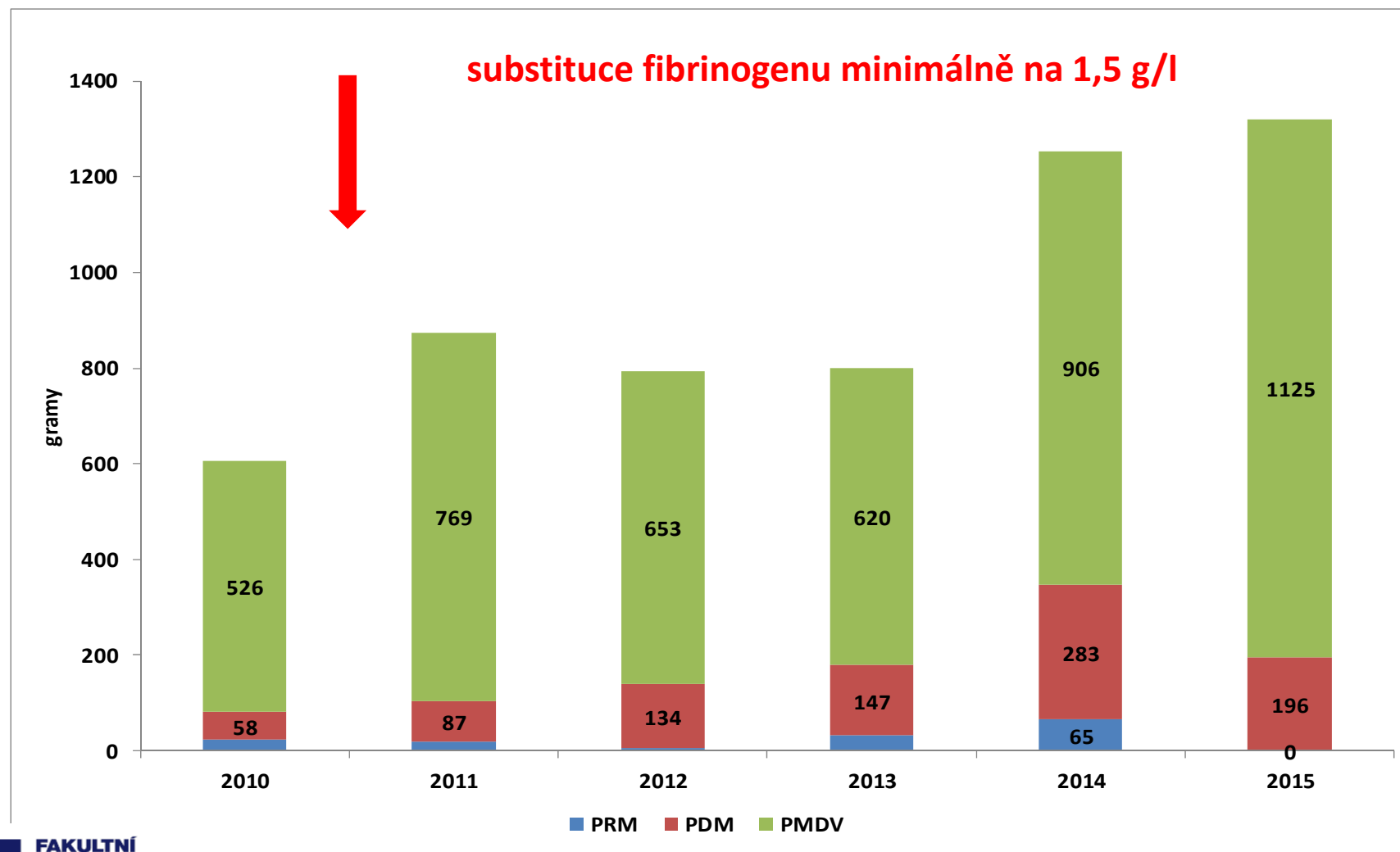
# Spotřeba TP ve FN Brno



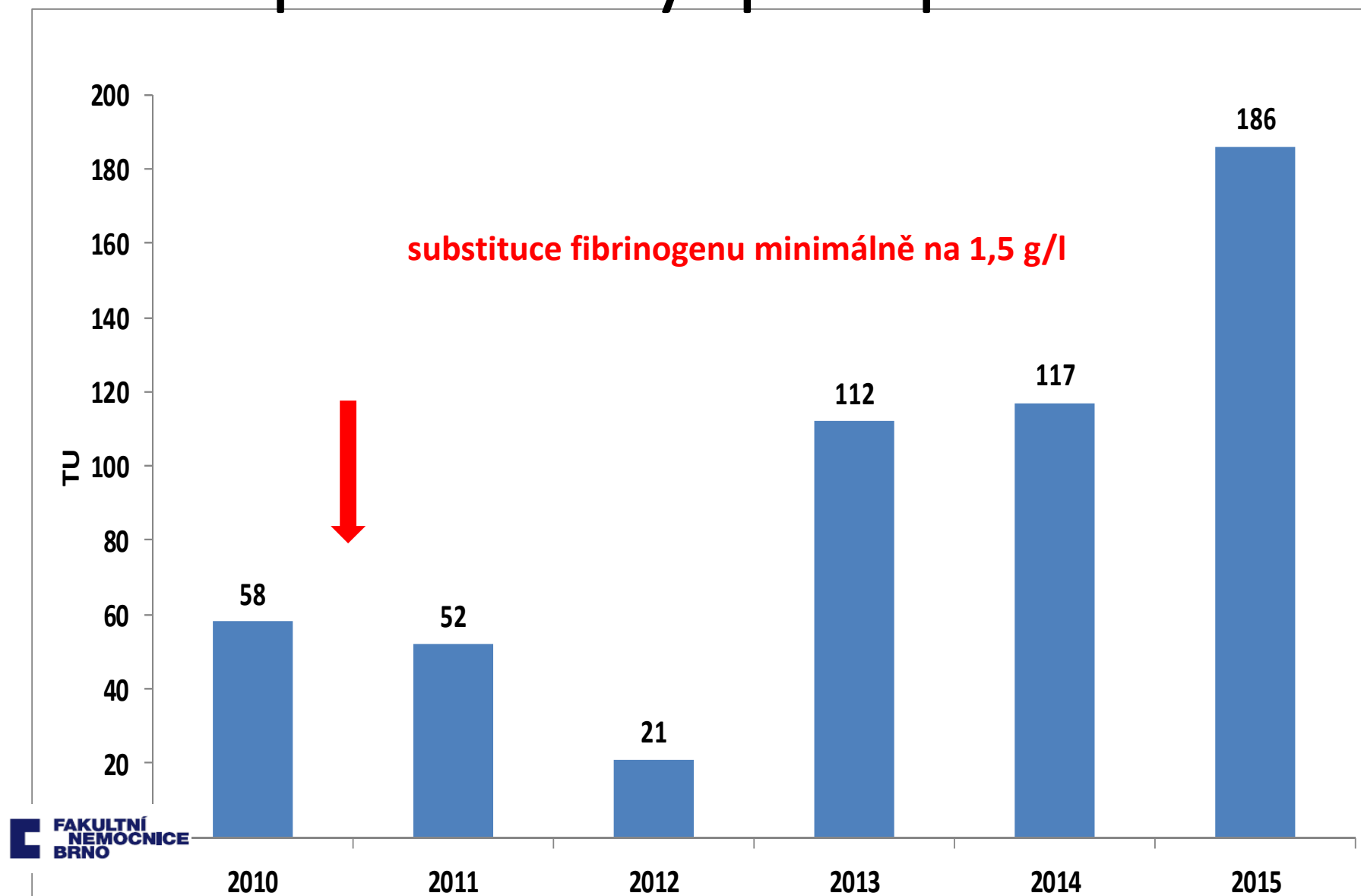
# Spotřeba TP ve FN Brno



# Spotřeba koncentráту fibrinogenu



# Spotřeba kryoprecipitátu



# Četnost potransfuzních reakcí (%)

	<b>erythrocyty</b>	<b>plazma</b>	<b>destičky</b>
<b>2003</b>	<b>0,14</b>	<b>0,09</b>	<b>0,85</b>
<b>2004</b>	<b>0,13</b>	<b>0,10</b>	<b>1,13</b>
<b>2005</b>	<b>0,14</b>	<b>0,04</b>	<b>0,92</b>
<b>2006</b>	<b>0,14</b>	<b>0,09</b>	<b>0,68</b>
<b>2007</b>	<b>0,18</b>	<b>0,10</b>	<b>0,72</b>
<b>2008</b>	<b>0,16</b>	<b>0,12</b>	<b>0,58</b>
<b>2009</b>	<b>0,11</b>	<b>0,11</b>	<b>0,31</b>
<b>2010</b>	<b>0,15</b>	<b>0,14</b>	<b>0,23</b>
<b>2011</b>	<b>0,11</b>	<b>0,14</b>	<b>0,17</b>
<b>2012</b>	<b>0,08</b>	<b>0,22</b>	<b>0,17</b>
<b>2013</b>	<b>0,06</b>	<b>0,12</b>	<b>0,08</b>
<b>2014</b>	<b>0,06</b>	<b>0,25</b>	<b>0,14</b>
<b>2015</b>	<b>0,09</b>	<b>0,17</b>	<b>0,15</b>

# Četnost potransfuzních reakcí (%)

	erythrocyty	plazma	destičky
2003	0,14	0,09	0,85
2004	0,13	0,10	1,13
2005	0,14	0,04	0,92
2006	0,14	0,09	0,68
2007	0,18	0,10	0,72
2008	0,16	0,12	0,58
2009	0,11	0,11	0,31
2010	0,15	0,14	0,23
2011	0,11	0,14	0,17
2012	0,08	0,22	0,17
2013	0,06	0,12	0,08
2014	0,06	0,25	0,14
2015	0,09	0,17	0,15

# Riziko bakteriální kontaminace

- ❖ Riziko bakteriální kontaminace trombocytů 1 : 2.000<sup>1</sup>
- ❖ Mortalita sepse po podání kontaminovaných trombocytů 1 : 4<sup>2</sup>
- ❖ Klinické projevy bakterémie v prospektivní studii<sup>3</sup>
  - ❖ 3.584 trombocytů pro 161 pacientů – příjemců BM
    - 16 pacientů
    - 1 : 350 transfuzí
- ❖ UK SHOT data 3 úmrtí 1996 - 1999 po podání trombocytů kontaminovaných bakteriemi<sup>4</sup>
- ❖ retrospektivní studie CZ: 4.728 testů sterility, z toho 1.798 trombocytů - 100 % negativní (*Turek et al. TaHD,2011; 17: 10*)

<sup>1</sup> Blajchman MA, *The Safety of the Blood Supply*, Hillyer CD ed. 1999: 18-27.

<sup>2</sup> Goodnough LT et al, *New England Journal of Medicine*. 1999; 340/6: 438-447.

<sup>3</sup> Chiu EKW et al, *Transfusion*. 1994;34:950-953.

<sup>4</sup> Love EM et al. *The Serious Hazards of Transfusion Annual Report 1999-2000*. Published March 2001.

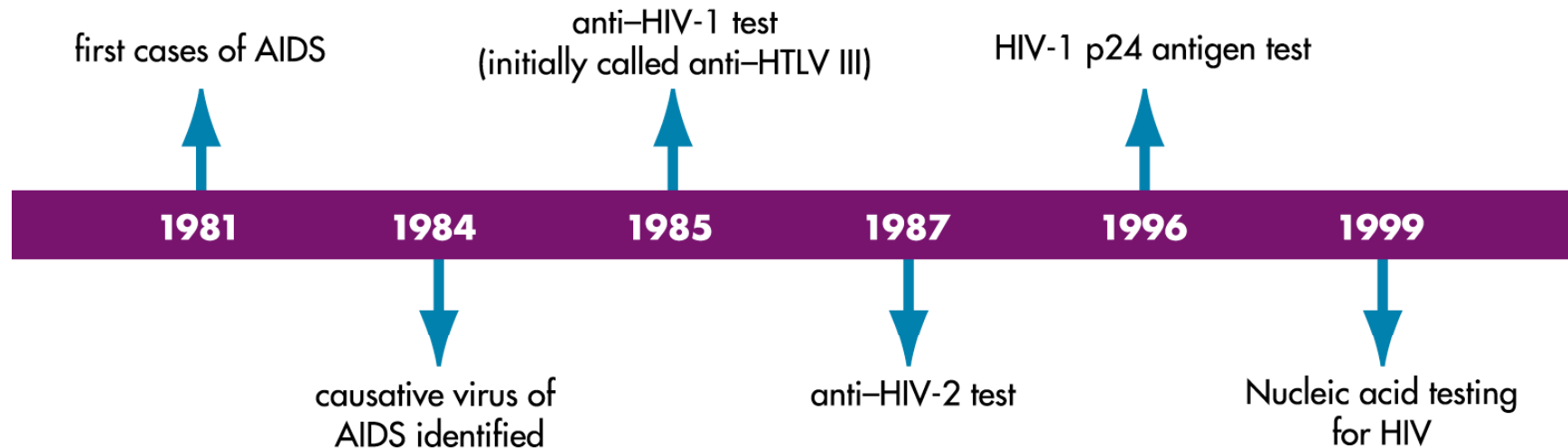
# Neznámé patogeny

- ❖ V případě objevu nových patogenů nelze zajistit bezpečnou hemoterapii
- ❖ Nové viry jsou objevovány v intervalu 2 - 3 let
- ❖ Nové krví přenosné viry - v intervalu 5 let<sup>1</sup>

# Známé patogeny

- ❖ Patogeny jsou známy, nejsou testovány
  - ❖ absence screeningového testu
  - ❖ kolísající riziko
  - ❖ nedostupnost screeningového testu
    - ❖ cena, náročnost provedení
- ❖ Přenos parazitů
  - ❖ Příklad: Chagasova choroba - důvody vzestupu rizika výskytu
    - cestování, migrace
    - klimatické změny

# Od objevu HIV k implementaci testu



# Principy inaktivace patogenů

- Chemické - SD metoda
  - narušení obalu
  - poškození buněčných membrán
- Fotodynamické
  - poškození DNA/RNA
- Jiné
  - toxicita volných radikálů

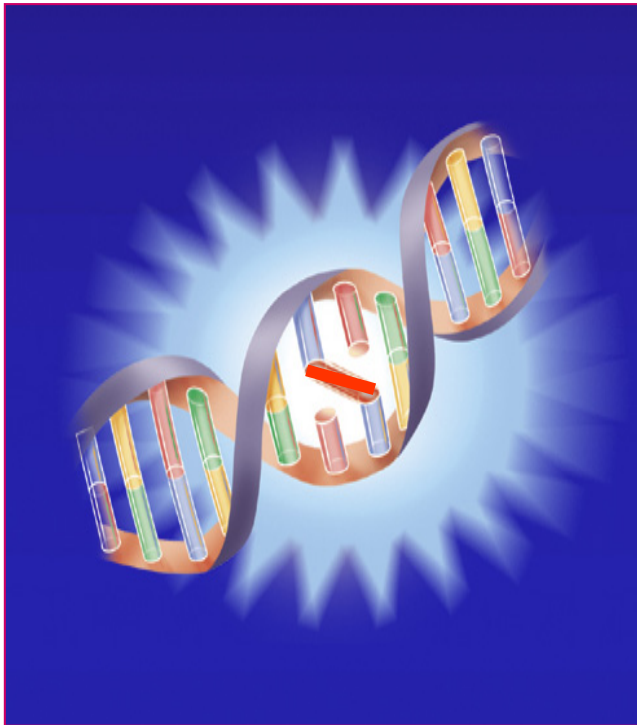
# TP – inaktivační postupy

metoda	plazma	trombocyty	erythrocyty
<b>SD</b>	<b>+</b>		
<b>MB + UV</b>	<b>+</b>		
<b>Pasterizace</b>	<b>+/-</b>		
<b>S-59/UVA (150 <math>\mu</math>M)</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	
<b>S-303/UVA (200 <math>\mu</math>M)</b>			<b>+</b>
<b>Riboflavin + UV</b>	<b>+/-</b>	<b>+</b>	<b>+/-</b>
<b>UVC</b>	<b>+/-</b>	<b>+/-</b>	<b>-</b>

# Specifita inaktivačních postupů

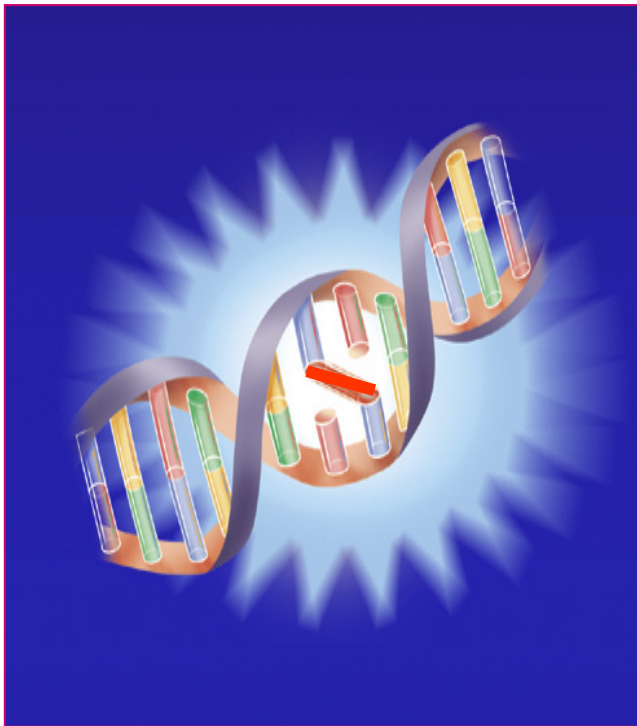
<b>metoda</b>	<b>účinek</b>
<b>SD</b>	<b>poškození membrán, obalu viru</b>
<b>MB + UV</b>	<b>poškození membrán/NK</b>
<b>Pasterizace</b>	<b>poškození nekovalentních vazeb</b>
<b>S-59/UVA</b>	<b>DNA/RNA</b>
<b>S-303/UVA</b>	<b>DNA/RNA</b>
<b>Riboflavin + UV</b>	<b>DNA/RNA</b>
<b>UVC</b>	<b>DNA/RNA</b>

# INTERCEPT CERUS<sup>®</sup> Blood system



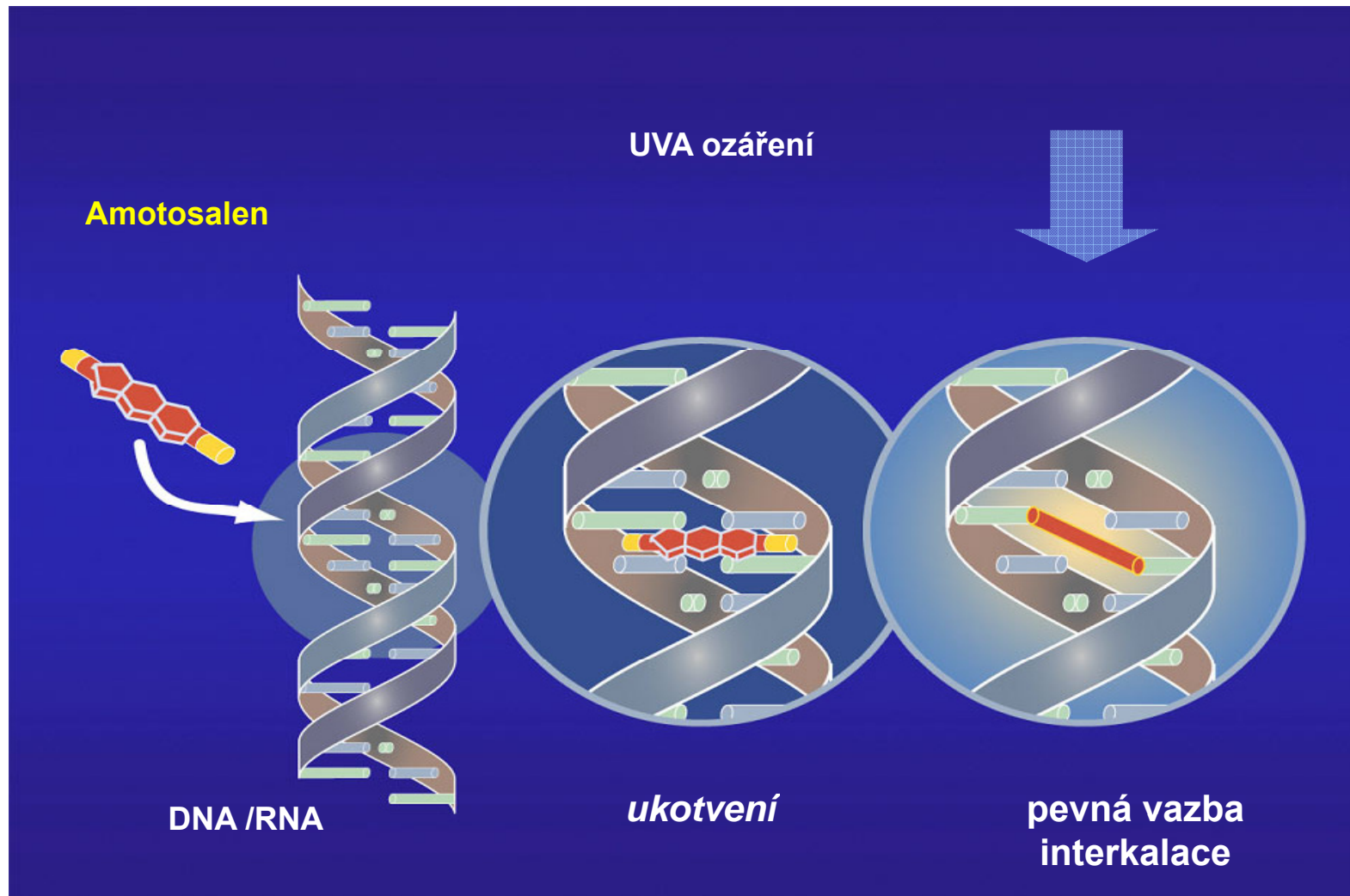
- nejpropracovanější systém na úrovni ovlivnění DNA /RNA
- testovaná toxicita
  - akutní
  - dlouhodobá
  - fototoxicita
  - neonatální toxicita
  - genotoxicita
  - karcinogenita
- farmakologie
- pracovní bezpečnost

# INTERCEPT CERUS<sup>®</sup> Blood system

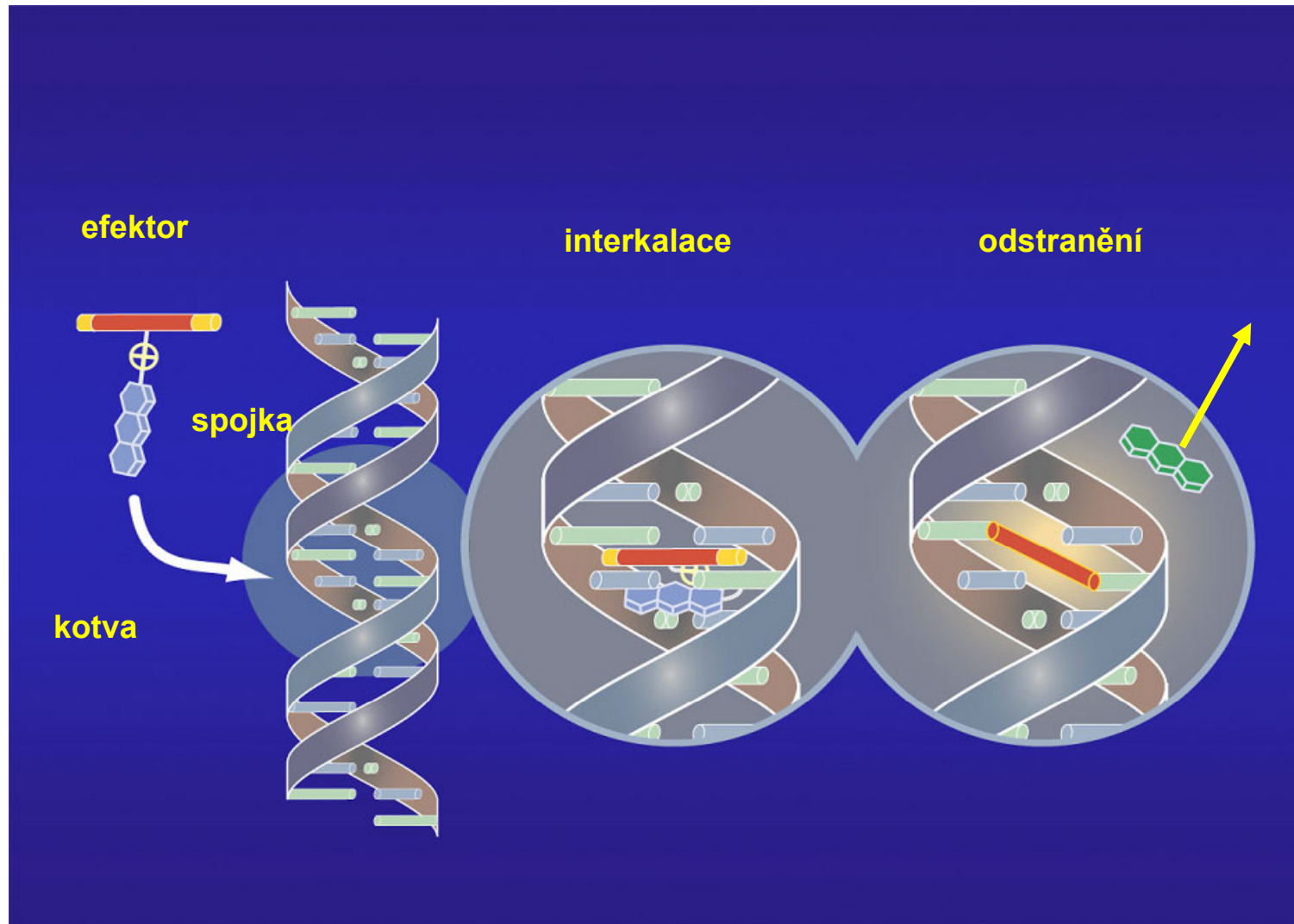


- klinické zkušenosti
  - Belgie, Španělsko
  - Norsko, Itálie
  - Francie, Rakousko
  - Švýcarsko, Slovinsko
- zkušenosti s podáním dětem
- signifikantní snížení TR
  - o 30 % Belgie
  - o 70 % La Reunion
- více než 250.000 podaných dávek
  - absence smrtelné komplikace
  - absence potransfuzní sepse

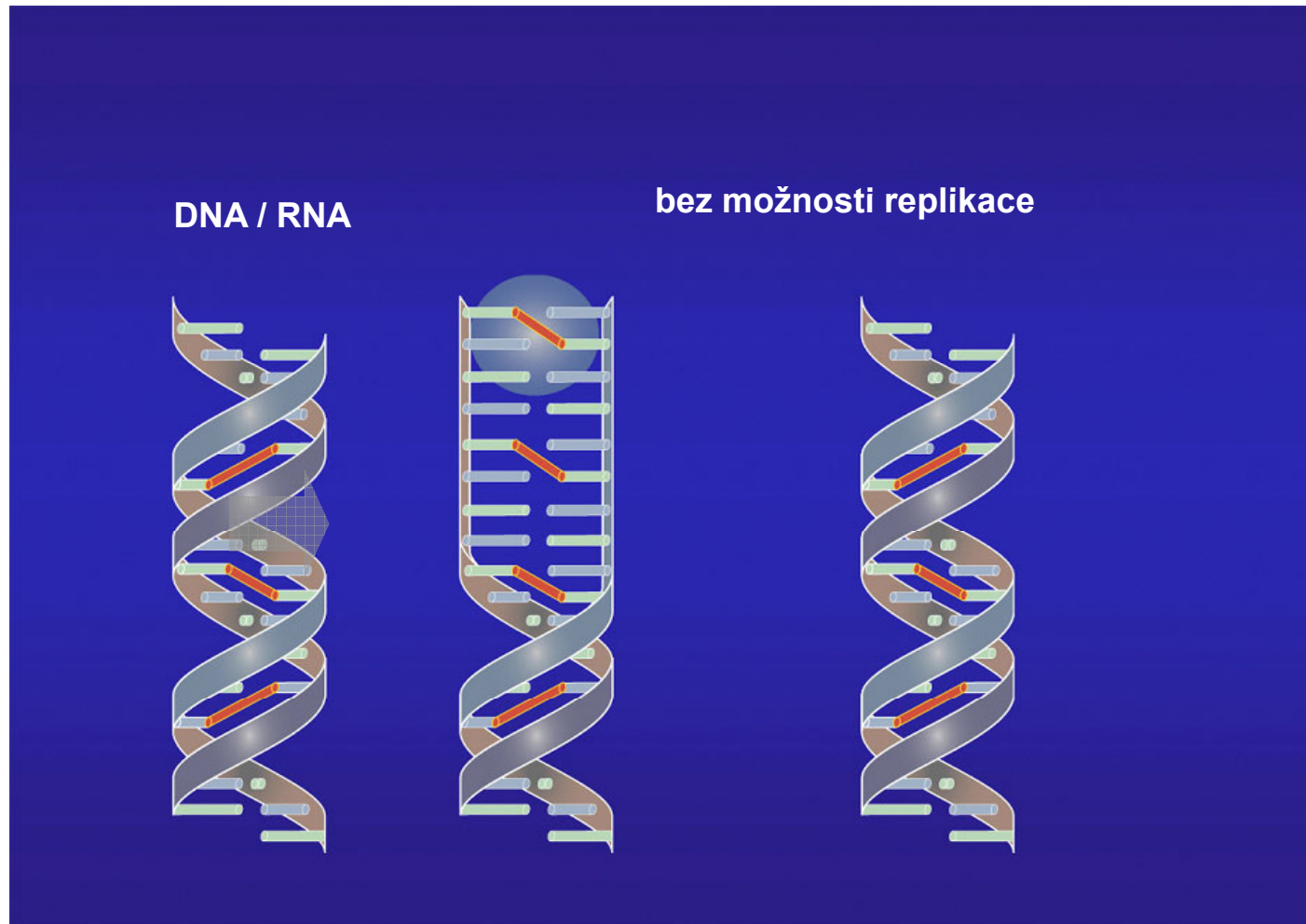
# Mechanismus účinku



# Mechanismus účinku

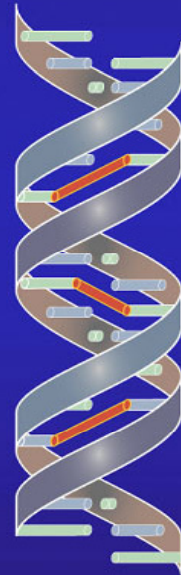


# Mechanismus účinku

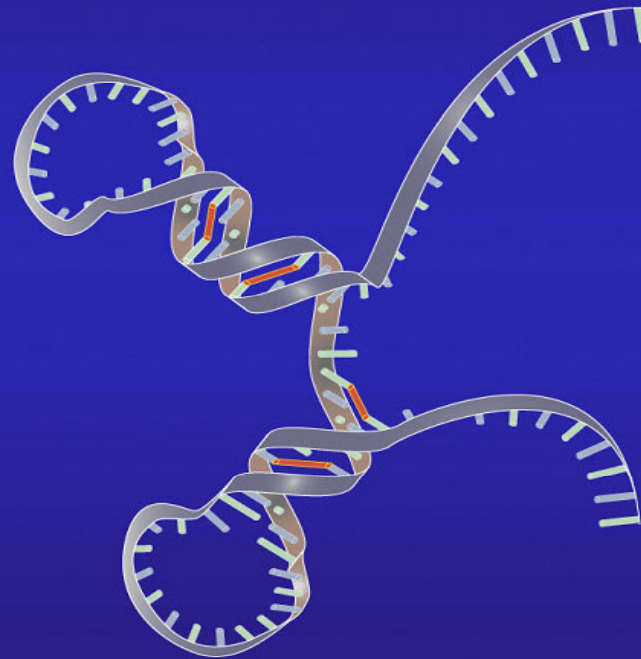


# Mechanismus účinku

dvouvláknová DNA / RNA



jednovláknová DNA / RNA



# Redukce známých patogenů

Skupina	Patogen
<b>Obalené viry</b>	<i>HBV, HCV, HEV, HGV, HIV 1/2, HTLV I/II, DHBV, BVDV, CMV, LCMV, WNV, EBV, HHV-8, SARS-CoV, Chikungunya, Dengue, Influenza - H1N1, H5N1, ZIKA</i>
<b>Neobalené viry</b>	<i>Parvovirus B19, Human adenovirus 5, Bluetongue virus 11, Feline calivirus</i>
<b>G- bakterie</b>	<i>Klebsiella pneumoniae, Yersinia enterocolitica, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella, Enterobacter, Serratia marcescens</i>
<b>G+ bakterie</b>	<i>Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Listeria monocytogenes, Corynebacterium, Bacillus cereus, Lactobacillus sp., Propionibacterium acnes, Clostridium perfringens</i>
<b>Spirochety</b>	<i>Treponema pallidum, Borrelia burgdorferi</i>
<b>Parazité</b>	<i>Trypanosoma cruzi, Babesia microti, Leishmania sp., Plasmodium sp.</i>

# Prevence TA-GvHD (náhrada ozařování)

## **S-59, S-303/UVA**

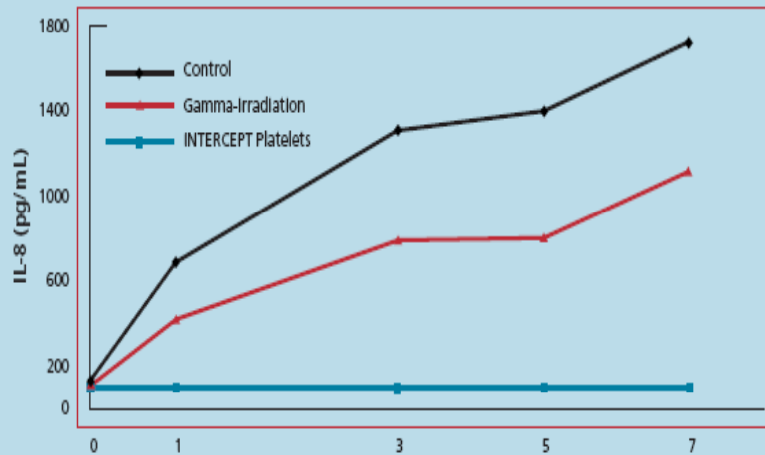
- permanentní propojení na každém 83 páru nb
- inhibuje replikaci a účinek na krátké sekvence DNA
- efektivní inaktivace

## **$\gamma$ záření (25 – 50 Gy)**

- poškození vazby NK na každém 37.000 páru nb
- bez efektu na krátké sekvence DNA
- efektivita inaktivace lymfocytů klesá při nižší dávce nebo nehomogenitě záření

# Inaktivace leukocytů

**Figure 2: The INTERCEPT Blood System completely inhibits cytokine synthesis during platelet storage**



Value Brochure. ADV 2337F Mar 03.

- neošetřené leukocyty produkují IL-8 a IL 1 $\beta$  během skladování
- $\gamma$  záření částečně zabrání syntéze
- S-59, S-303 blokuje produkci IL-8 a IL 1 $\beta$

# Kryoprotein

- Transfuzní přípravek - kryoprotein, se v současné době v ČR již prakticky nepoužívá, mimo jiné, také z důvodu, že jeho složitá role v procesu hemostázy nebyla dosud dostatečně popsána.

# Kryoprotein

<b>Prokoagulační faktory v kryoproteinu</b>	<b>Hmotnost (velikost)</b>	<b>Poločas (hod.)</b>
<b>F I</b>	<b>340 kDa</b>	<b>72 – 120</b>
<b>F VIII</b>	<b>330 kDa</b>	<b>8 – 12 (1 – 2)</b>
<b>F v Will</b>	<b>250 kDa (multimery až 20 000 kDa)</b>	<b>6 - 8</b>
<b>F V</b>	<b>330 kDa</b>	<b>12 – 15</b>
<b>F XIII</b>	<b>320 kDa</b>	<b>120 – 220</b>
<b>Fibronektin</b>	<b>440 kDa</b>	<b>4 - 6</b>
<b>Mikropartikule destičkových membrán</b>	<b>0,1 – 1,0 <math>\mu</math>m</b>	<b>??</b>

# Kryoprotein



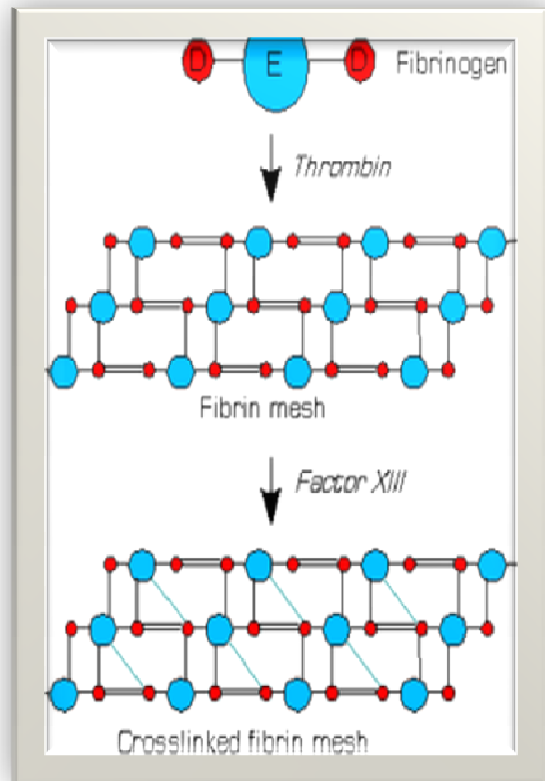
# Kryoprotein - PI



# Kryoprotein PI

	Plazma po separaci	Plazma po ošetření INTERCEPT®	Kryoprotein PI	Výtěžnost v %
<b>Průměrné hodnoty obsahu koagulačních faktorů ve 30 testovaných procesech</b>				
Fibrinogen (g)	1,74	1,48	0,84	48
Faktor XIII (U)	828	722	213	26
FvWill (IU)	NT	NT	630	NT
F VIII:C (IU)	NT	NT	251	NT

# F XIII – fibrin stabilizující faktor



## FAKTOR XIII

- Laki – Lorand faktor, 1948
- katalyzuje formace různých proteinů
- nelze jej testovat globálními testy
- funkční nebo imunochemické testy ke stanovení antigenu
- orientační stanovení – rozpustnost koagula v močovíně
- metoda odhalí jen významné snížení hladiny F XIII

# Stanovení F XIII – OKH FN Brno

- set Berichrom Factor XIII (Siemens)
- fotometrické stanovení funkční aktivity F XIII kinetickou metodou při 340 nm na fotometru UV Mini-1248

## **Princip metody:**

- Transglutamináza F XIIIa, vznikající aktivací F XIII ve vzorku trombinem, konjuguje specifický peptidický substrát s glycinetylerem za současného uvolňování amoniaku. Toto uvolňování amoniaku se stanovuje pomocí paralelně probíhající enzymatické reakce.

# OOP 05 – 2015 SÚKL

kód	název	m.j.	Úhrada 1	Úhrada 2
0207926	Kryoprotein	TU	2.584,64	-

KRYOPROTEIN – úhrada dle přílohy č. 12 Vyhlášky 273/2015 Sb. – vyjmuto z případového paušálu

# PI KRYOPROTEIN FN BRNO

## HAEMOCOMPLETTAN P

- vyrobeno z plazmy zdravých dárců krve (HIV 1/2, HCV, HBV, sérologicky a NAT negativních)
- vyrobeno ze směsi tisíců osob
- PI pomocí nejméně dvou kroků
- bez skupinové příslušnosti
- rozpuštění max. 15 minut
- dávka 1 g fibrinogenu v 1 balení
- objem: 50 ml
- cena 9 768 Kč/1 g

## PI KRYOPROTEIN

- vyrobeno z plazmy zdravých dárců krve (HIV 1/2, HCV, HBV, sérologicky a NAT negativních – pouze muži bez transfuze)
- vyrobeno z plazmy jednoho dárce krve
- PI INTERCEPT CERUS®
- dle ABO kompatibility
- rozmražení max. 15 minut
- fibrinogen dle definice v balení (3 TU)
- objem: 90 – 105 ml
- **cena PI KRYO 7.750 (3 TU)**
- **cena 9 694 Kč/1 g**
- **obsah F XIII > 200 IU v balení (3 TU)**

# Substituce při řešení koagulopatie

- vrozená hypofibrinogenémie a afibrinogenémie
- získaná hypofibrinogenémie v souvislosti se získanou koagulopatií a/nebo diseminovanou intravaskulární koagulací (DIC) s hypofibrinolýzou
- vrozený nebo získaný nedostatek koagulačního faktoru XIII

Koagulační faktor	HVLP	IVLP
<b>FI</b>	<b>Haemocompletan P</b>	<b>PI KRYOPROTEIN FN BRNO</b>
<b>FXIII</b>	<b>Novothirteen Fibrogammin P</b>	



