

ZASADY DOBORU KKP DLA BIORCÓW ZIMMUNIZOWANYCH W UKŁADZIE HLA .

lek.Jolanta Raś, mgr Joanna Flaszka

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Krakowie



Koncentrat krwinek płytkowych z aferezy (KKP z aferezy)

Składnik krwi wyizolowany z krwi pełnej krwiodawcy przy użyciu separatora komórkowego.

Zawartość krwinek płytkowych wynosi $3-8 \times 10^{11}$ krwinek płytkowych co daje możliwość pozyskania w trakcie jednego zabiegu dwóch opakowań KKP o zawartości 3×10^{11} krwinek płytkowych zawieszonych w osoczu lub mieszaninie osocza i roztworu wzbogacającego .

Rodzaj używanego separatora ma wpływ na ilość zanieczyszczeń krwinkami białymi i erytrocytami.

KKP z aferezy pozyskany od jednego krwiodawcy:

- ograniczenie ekspozycji biorcy na kontakt z obcymi antygenami,
- zmniejszenie ryzyka przeniesienia zakażeń wirusowych przez krew,
- możliwość przetaczania KKP od dawców dobranych w układach HLA i HPA.

Separatory wykorzystywane w RCKiK w Krakowie

- ▣ Amicus Fresenius Kabi Polska Sp. z o.o.
- ▣ Trima Terumo BCT
- ▣ Spectra Optia Terumo BCT

Wszystkie urządzenia pozwalają na otrzymywanie Ubogoleukocytarnego Koncentratu Krwinek Płytkowych (UKKP z aferezy) czyli zanieczyszczenie krwinkami białymi jest mniejsze od 1×10^6 /preparat ,
o średniej zawartości krwinek płytkowych $-3,9 \times 10^{11}$

UKKP :

Zmniejsza ryzyko alloimmunizacji HLA i związanych z tym powikłań
czyli niehemolitycznego odczynu gorączkowego i oporności na transfuzje
KKP.

Ogranicza możliwość przeniesienia niektórych zakażeń wirusowych np. CMV.

Roczna produkcja/wydania UKKP z aferezy.

Rok	Produkcja UKKP z aferezy/UKKP zlewany	Wydania UKKP z aferezy/UKKP zlewany do Szpitala Uniwersyteckiego
2013	2 052/4 485 op.	380/1 281 op.
2014	2 333/5 271 op.	539/1 731 op.
2015	2 861/5 482 op.	805/1 589 op.
2016	3 143/5 598 op.	910/1 649 op.

UKKP z aferezy

warunki przechowywania: 22-24°C ,
ciągłe mieszane,
czas ważności -5 dni,
przetaczanie przez zestaw z filtrem 170-200 um , natychmiast po otrzymaniu,
czas transfuzji-30 min.

Modyfikacja:

- przemywanie,
- napromieniowanie,
- rekonstytucja,
- mrożenie,
- inaktywacja biologicznych czynników chorobotwórczych.*

KKP rekonstruowany(RKKP)

Rekonstruowany KKP to składnik zawierający krwinki płytkowe zawieszone w osoczu zgodnym grupowo z biorcą.

Krwinki płytkowe grupy O RhD- w osoczu grupy AB mogą być stosowane dla każdego biorcy krwi..

Inne możliwości zastosowania KKP przy braku preparatu jednoimiennego:

- 1.Biorca grupy AB RhD+ może otrzymać krwinki płytkowe grupy O RhD+, O RhD-, A RhD+, A RhD-, B RhD+ lub B RhD- zawieszone w osoczu AB
 - 2.Biorca grupy AB RhD- może otrzymać krwinki płytkowe grupy O Rh-D, A RhD-, lub B RhD- zawieszone w osoczu AB
 - 3.Biorca grupy A RhD+ może otrzymać krwinki płytkowe grupy O RhD+ lub O RhD- zawieszone w osoczu grupy A
 - 4.Biorca grupy A RhD- może otrzymać krwinki płytkowe grupy O Rh-D zawieszone w osoczu grupy A
 - 5.Biorca grupy B RhD+ może otrzymać krwinki płytkowe grupy O RhD+ lub O RhD - zawieszone w osoczu grupy B
 - 6.Biorca grupy B Rh- może otrzymać krwinki płytkowe grupy O RhD- zawieszone w osoczu grupy B
- Biorca grupy O RhD+ może otrzymywać wyłącznie krwinki płytkowe grupy O RhD+, lub O RhD- , a biorca O Rh D- wyłącznie krwinki płytkowe O RhD -

Immunologiczne zasady przetaczania KKP u chorych bez oporności na KKP

- przetaczać KKP zgodny w antygenach układu ABO,
- w przypadku braku KKP jednoimiennego z grupą krwi biorcy przetaczać:
KKP rekonstruowany,
KKP przemiany /zawieszony w roztworze wzbogacającym
- niezgodność w antygenie RhD nie ma wpływu na skuteczność
przetaczanych KKP , ale zawartość krwinek czerwonych RhD + może
stwarzać ryzyko wytworzenia przeciwciał anty-D
przetoczenie niezgodnych KKP z aferezy wymaga podania 50 ug
immunoglobuliny anty Rh-D,
- nie przestrzega się zgodności w między dawcą,a biorcą w zakresie
antygenów HLA i HPA

Standardowe dawki koncentratu krwinek płytkowych

Niemowlęta

10 ml KKP / kg m.c.

Dzieci

1 j KKP /10-15 kg m.c.

Dorośli

KKP zlewany (5-6 jednostek)
lub KKP z aferezy

Wzrost liczby płytek krwi o $30-50 \times 10^9/l$ u chorego o powierzchni $1,8 \text{ m}^2$

Ocena efektywności przetaczanych KKP.

1.Ocena kliniczna: zahamowanie krwawień , brak świeżych wybroczyn lub wylewów podskórnych .

2.AP-absolutny wzrost płytek po przetoczeniu:
zadowalający $10 \times 10^9 / l$ po godz. od transfuzji
 $5 \times 10^9 / l$ po 24 godz. od transfuzji.

3.Skorygowany wskaźnik wzrostu płytek po przetoczeniu KKP- CCI
(*Corrected Count Increment*)

$$CCI = \frac{\text{l. płytek po przetoczeniu} (x10^{11}) - \text{l. płytek przed przetoczeniem} (x10^{11})}{\text{liczba płytek krwi w KKP} (x10^{11})} \times \frac{\text{powierzchnia ciała} (m^2)}$$

CCI efektywny wyższy od $10 \times 10^9 / l$ po 1 godz. i wyższy od $7,5 \times 10^9 / l$ po 20-24 godz.

Nieefektywny : mniejszy od $7,5 \times 10^9 / l$ po godzinie i $5 \times 10^9 / l$ po 24 godzinach

Oporność chorych na przetaczane koncentraty krwinek płytkowych 30-70%

brak wzrostu liczby płytek po kolejnych 2 lub 3 przetoczeniach KKP

Przyczyny

Czynniki nieimmunologiczne (2/3 przypadków)

np. splenomegalia, infekcja, leczenie antybiotykami, wykrzepianie wewnątrznaczyniowe ,krwawienie.

Czynniki immunologiczne

przeciwciała anty-HLA (ok. 90% wg IHiT)

przeciwciała p-płytkowe (ok. 2-10%).

autoimmunizacja płytkowa-autoprzeciwciała skierowane do glikoprotein płytkowych
przeciwciała zależne od leku(np. chinidyna ,heparyna , antybiotyki, diuretyki)

Czynniki nieimmunologiczne i immunologiczne zwykle współistnieją.

Oporność chorych na przetaczane koncentraty krwinek płytkowych.

Prawdopodobne immunologiczne przyczyny niszczenia płytek:

niskie wartości **CCI** po 10 min. do 1 godz.

od przetoczenia

Czynniki nieimmunologiczne:

CCI prawidłowe po 1 godz. , a obniżone po 24 godz.

(red. J.Korsak, M.Łętowska- Transfuzjologia kliniczna, 2009)

Antygeny układu HLA – jedne z najsilniej uczulających

w przybliżeniu

pojedyncza komórka APC (*Antigen Presenting Cell*)
prezentująca obcy antygen HLA aktywuje 1/100
do 1000 (1-10%) naiwnych limfocytów T

dla porównania

na cząstki wirusa odpowiada tylko 1/200 000
limfocytów

Przeciwciała anty-HLA

Przeciwciała anty-HLA wykrywane u 20-50% wielokrotnych biorców krwi.

Duży polimorfizm antygenów HLA klasy I i II przyczyną powstawania różnorodnych przeciwciał anty-HLA, jedno- i wieloswoistych .

Niszczenie płytek krwi przez przeciwciała anty HLA klasy I (tylko antygeny tej klasy obecne na płytkach).

Immunizacja wywołana jest zanieczyszczeniami składników krwi leukocytami, przebytymi ciążami (po 1-szej ciąży 4% kobiet wytwarza przeciwciała, po 4-tej ciąży 26% kobiet wytwarza przeciwciała) .

Przeciwciała są jedno i wieloswoiste, ; IgM/IgG ,mają zdolność wiązania dopełniacza ,aktywność cytotoksyczną oraz zdolność do leukoaglutynacji.

**Immunologiczne zasady dobierania KKP
u chorych opornych na przetaczanie KKP**
Pracownia HLA –Dział Immunologii transfuzjologicznej
RCKiK w Krakowie

1.Dobieranie KKP w układzie HLA poprzedzone kontrolą obecności przeciwciał anti-HLA (w teście LCT-mikrolimfocytotoksycznym)

– badania wykonywane w dalszym ciągu z użyciem kolejnych próbek surowicy pobranych w różnym czasie dostarczają informacji o tendencji chorego do wytwarzania przeciwciał i o ich aktywności.

2.U chorych z wykrytymi przeciwciałami anti-HLA typowanie antygenów HLA klasy I (gdy brak takiego typowania).

Uwaga: zlecić oznaczenie antygenów HLA chorego wcześniej, gdyż wykonanie badania bezpośrednio przed przetoczeniem może być niemożliwe np. w związku z leczeniem.

3.Dla chorych z przeciwciałami anti-HLA dobieranie dawców płytek krwi z rejestru z zachowaniem całkowitej lub częściowej zgodności w antygenach HLA klasy I (locus A i B) między dawcą i biorcą

Rejestr dawców RCKiK w Krakowie z oznaczonymi antygenami HLA zawiera ok. 3000 dawców.

**Immunologiczne zasady dobierania KKP
u chorych opornych na przetaczanie KKP
Pracownia HLA –Dział Immunologii Transfuzjologicznej
RCKiK w Krakowie**

Stopień zgodności	Liczba antygenów zgodnych	Liczba antygenów krzyżowo-reagujących lub tzw. splitów lub nieoznaczonych*
Zgodny	4	0
Częściowo zgodny	3	1
Częściowo zgodny	2	2
Częściowo zgodny	1	3
Częściowo zgodny	0	4

* Dopuszcza się również niezgodność 1 lub 2 antygenów

**Immunologiczne zasady dobierania KKP
u chorych opornych na przetaczanie KKP**
Pracownia HLA –Dział Immunologii transfuzjologicznej
RCKiK w Krakowie

**4.Określenie swoistości przeciwciał biorcy i wybór dawcy z rejestru
bez antygeny do którego skierowane są przeciwciała anty-HLA**

ocena przeciwciał więcej niż o jednej swoistości jest trudna, więc taki dobór
rzadko stosowany, zwykle gdy przeciwciała są jedno- lub dwuswoiste.

Określenie swoistości odbywa się przy wykorzystaniu limfocytów o znanych
fenotypach HLA.

5.Wykonanie próby zgodności w teście LCT (kopia wyniku próby zgodności
wydawana jest do Działu Ekspedycji i do jednostki zamawiającej.)

Pracownia HLA –Dział Immunologii Transfuzjologicznej RCKiK w Krakowie

Osoba odpowiedzialna-mgr Joanna Flaszka ,telefon:122618870

e-mail: hla@rckik.krakow.pl

materiał do badań:

-diagnostyka przeciwciał anty-HLA , należy pobrać próbkę krwi na skrzep o obj. 4 ml

-określenie antygenów HLA klasy I, należy pobrać ok.10 ml krwi na antykoagulant (NH , LH lub Na₂EDTA,K₃EDTA)

zlecenie na badanie-formularz zlecenia na konsultacyjne badanie

Immunohematologiczne (do Pracowni Badań Konsultacyjnych DIT RCKiK w Krakowie)..

Rodzaj badania-

Inne:

poszukiwanie przeciwciał anty-HLA

i/lub określenie antygenów HLA klasy I

próba zgodności w układzie HLA

dobieranie KKP w układzie HLA

Zlecenie na badanie

RCKiK w Krakowie Formularz SOP 1/195 – F01

Obowiązuje od 08.03.2016r.

(Pieczęć placówki kierującej)

Data:.....

Do Pracowni Badań Konsultacyjnych DIT Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Krakowie

ZLECENIE NA KONSULTACYJNE BADANIE IMMUNOHEMATOLOGICZNE

Tryb badania: NORMALNY PILNY

Nazwisko i imię pacjenta:

Numer PESEL/ data urodzenia:

Płeć : **K** **M**

Jeżeli pacjent NN: numer księgi głównej.....numer księgi oddziałowej.....

lub niepowtarzalny numer identyfikacyjny.....

Rozpoznanie choroby:

Wyniki laboratoryjne: RBCs:.....; Hb:.....; Ht:.....; Retykulocyty:.....; Haptoglobina:.....; Bilirubina:....., Inne.....

Wywiad: czy pacjent był leczony składnikami krwi: ☐ NIE ☐ TAK

data ostatniego przetoczenia..... przebyte ciążę, poronienie(daty):

dotyczy ciążarnych: ciąża: tydzień.....czy w obecnej ciąży podano preparat immunoglobuliny anty-RhD: ☐ NIE ☐ TAK

data podania preparatu immunoglobuliny anty-RhD.....

zabieg przeszczepienia KKM: ☐ NIE ☐ TAK data przeszczepienia: grupa krwi biorcy przed przeszczepieniem:

grupa krwi dawcy przeszczepu:

Rodzaj badania:

☐ Identyfikacja alloprzeciwciał ☐ Badanie w kierunku konfliktu matczyno-łożniowego

☐ Określenie grupy krwi ☐ Badanie w kierunku choroby hemolitycznej noworodka

☐ Diagnostyka NAIH: (BTA, przeciwciała do krwinek czerwonych, ewentualnie hemolizyny)

☐ Badanie u biorcy przed przeszczepieniem KKM i u dawcy (BTA, przeciwciała, fenotyp, miano anty-A/B)

☐ Badanie u biorcy po przeszczepieniu KKM

☐ Inne:

Rodzaj materiału badanego: ☐ próbka krwi na EDTA ☐ próbka krwi na skrzep

Lekarz kierujący (pieczęć i podpis)

Rodzaj transportu (RCKiK/ własny).....

Data i godzina pobrania próbki krwi do badań konsultacyjnych:

Czytelny podpis osoby pobierającej próbkę krwi do badań

Data i godzina przyjęcia próbki do badania w Pracowni Badań Konsultacyjnych.....

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Krakowie
FORMULARZ SOP Nr 1/300/F-02
Sprawozdanie z badania laboratoryjnego

Obowiązuje od dnia: 01.02.2013 r.

Strona 1 z 1

1.Dane laboratorium wykonującego badanie

RCKiK w Krakowie Dział Immunologii Transfuzjologicznej Pracownia HLA
31-540 Kraków, ul. Rzeźnicza 11 ,tel. 12 261 88 70 fax: 12 261 88 79

2.Data wydruku sprawozdania z badania :

3.Data wykonania badania i numer identyfikacyjny badania:

4.Rodzaj badania, rodzaj użytej techniki:

Próba zgodności leukocyтарно-пłytkowa dla chorego uodpornionego antygenami HLA, test LCT

5.Data i godzina pobrania materiału:

Data i godzina przyjęcia materiału:

6.Imię i nazwisko pacjenta, PESEL:

7.Grupa krwi:

8.Płeć:

9.Miejsce zamieszkania lub szpital kierujący:

10.Lekarz kierujący:

11.Miejsce przesłania sprawozdania z badania:

12.Wynik badania:

L.p.	Numer donacji/grupa krwi	Wynik próby zgodności surowicy biorcy z limfocytami dawcy krwi (test LCT)
------	--------------------------	---

1.		
----	--	--

13.Uwagi:

Badanie wykonał:

Autoryzował:

Pracownia HLA –Dział Immunologii Transfuzjologicznej RCKiK w Krakowie

KKP dobierany w układzie HLA zamawiany jest przez lekarza telefonicznie w Dziale Pobierania (zamówienie jest uzupełnione zamówieniem pisemnym przesyłanym przez Bank krwi SU do Działu Ekspedycji RCKiK w Krakowie).

Informacje dotyczące zamówienia przekazywane są pracownikowi Pracowni HLA DIT , który kontaktuje się z lekarzem zamawiającym ustalając zasady pobrania od pacjenta i przesłania materiału do badania ze zleceniem .

W oparciu o wyniki badań Pracownia HLA typuje krwiodawców do aferezy.

Składnik krwi wraz z wynikami badań przekazywany jest za pośrednictwem szpitalnego Banku krwi do Oddziału zamawiającego.

Dobór dawców znacznie utrudniają przeciwciała anty-HLA z wysokim PRA >80%

indeks PRA - *Panel Reactive Antibodies* – stopień zimmunizowania; odsetek reakcji dodatnich w teście LCT)

Dobór oparty na zgodności antygenów HLA stosowany jest także dla biorców opornych na przetaczanie KKP z niewykrywalnymi przeciwciałami anty-HLA.

Podwyższone ryzyko wystąpienia potransfuzyjnej choroby przeszczep przeciw biorcy (TA-GvHD) w przypadku:

- przetaczania KKP dobieranego w układzie HLA
- przetaczania składników krwi od dawcy – homozygoty we wspólnym haplocyocie HLA z pacjentem

(układ odpornościowy biorcy nie rozpoznaje komórek T dawcy, ale komórki T dawcy rozpoznają antygeny HLA biorcy jako obce)

Biorcy KKM z niedoborami odporności szczególnie narażeni na TA-GvHD

Zapobieganie TA-GvHD – napromieniowanie składników.

Immunizacja antygenami krwinek płytkowych HPA:

1. Częstotliwość 5-10%, przeciwciała klasy IgG, rzadziej IgM niekompletne, nie mają zdolności wiązania dopełniacza. Wykrywane w surowicy lub związane z płytkami krwi.
2. W przypadku obecności przeciwciał anty- HLA częstość występowania przeciwciał płytkowych 15-20%.
3. Najczęstsza swoistość anty HPA-1a, HPA-1b, HPA-5b, HPA-3a
4. Techniki badania: test immunofluorescencyjny PIFT, enzymatyczny ELISA- oba wykrywają również przeciwciała anty- HLA, mogą być wykorzystywane do prób zgodności swoisty test immunoenzymatyczny MAIPA (użycie swoistych przeciwciał monoklonalnych do glikoprotein płytkowych GPIIb/IIIa, Ib, Ia/IIa).
5. Autoprzeciwciała p-płytkowe-rozróżnienie z allo- możliwe na podstawie ustalenia genotypu lub fenotypu płytek chorego. Wykrywane autoprzeciwciała po przeszczepie szpiku auto- lub allogenicznego – mogą mieć charakter przejściowy oraz mogą być przyczyną oporności na płytki krwi.

Zasady przetwarzania KKP u chorych uodpornionych antygenami HPA

1. Przygotowanie płytek krwi od dawcy ,który nie posiada antygeny na płytkach do którego chory wytworzył przeciwciała-rejestr dawców z oznaczonymi antygenami płytkowymi w IHiT w Warszawie oraz w niektórych RCKiK(ok.5 872. dawców)
 2. Obecność przeciwciał płytkowych zwykle towarzyszy przeciwciałom anti-HLA-dobierać dawców zgodnych w HLA i HPA.
 3. Przeciwciała płytkowe odpowiedzialne są za poprzetoczniołą skazę małopłytkową (PTP-post transfusion purpura) oraz alloimmunologiczną małopłytkowość noworodków (NAIT-neonatal alloimmune thrombocytopenia).
- Autoprzeciwciała płytkowe skierowane do glikoprotein płytkowych GPIIb/IIIa, GPIb. Nie zaleca się przetoczeń KKP, wyłącznie w przypadku zagrożenia życia.

Przeciwwskazania do przetaczania KKP

1. Zakrzepowa plamica małopłytkowa (TTP)-przetoczenie KKP
- nasilenie mikrozakrzepów.

Leczenie: nabyta-plazmafereza, wrodzona-osocze.

2. Małopłytkowość zależna od heparyny (HIT)-przetoczenie KKP
- aktywacja płytek i ich agregacja.

Leczenie: odstawienie heparyny

3. Potransfuzyjna skaza małopłytkowa (PTP)-przeciwciała niszczą płytki przetoczone i własne: autoprzeciwciała?.

Leczenie: duże dawki IgG, sterydy.

4. Małopłytkowość samoistna (ITP)-autoprzeciwciała p-płytkowe skierowane przeciw glikoproteinom płytkowym. Przetoczenie KKP ograniczone do skazy zagrażającej życiu.

Dziękuję za uwagę

