

**Corso avanzato di Medicina
Trasfusionale – Genova 26 novembre
2008**


**Linee guida alla
irradiazione ed alla
leucodeplezione**



Gino Tripodi Servizio di Immunoematologia e
Medicina Trasfusionale I.R.C.C.S.

G. Gaslini, Genova

Come gestire la pletora informativa

 *“sounding like you’ve read the
literature when you haven’t read a
thing.”*

Redelmeier DA et al., CMAJ 1998

Raccomandazioni e linee guida

Servono a indirizzare la decisione clinica:

- Individuare l'obiettivo finale del trattamento
- Selezionare il trattamento più adeguato
- Definire i criteri di utilizzo, interruzione e/o modifica del programma terapeutico

“le decisioni cliniche risultano dalla integrazione tra l'esperienza del medico e l'utilizzo delle migliori evidenze scientifiche disponibili (D. Sackett, JAMA 1992)”

EVIDENCE-BASED MEDICINE

RILEVANZA DELLE FONTI

(IN ORDINE DI IMPORTANZA)

- **RI-ANALISI DI STUDI CLINICI (Revisioni, metanalisi, analisi sistematiche)**
- **TRIALS CONTROLLATI RANDOMIZZATI**
- **STUDI PER COORTE**
- **STUDI CASO-CONTROLLO**
- **CASES SERIES**
- **CASES REPORT**
- **OPINIONI DI ESPERTI**
- **STUDI PRELIMINARI (LAB.)**

Il percorso delle Linee-Guida

I livelli di evidenza (US Agency for Health Care Policy and Research)

- **Ia:** meta-analisi di studi clinici controllati randomizzati
- **Ib:** almeno 1 studio controllato randomizzato
- **Ila:** almeno 1 studio controllato non randomizzato ben disegnato
- **Ilb:** almeno 1 altro tipo di studio quasi sperimentale ben disegnato
- **III:** studi descrittivi non sperimentali ben disegnati (studi comparativi, di correlazione e di casi)
- **IV:** rapporti di commissioni di esperti o opinioni e/o esperienze cliniche di persone autorevoli

Il percorso delle Linee-Guida

Forza delle raccomandazioni (US Agency for Health Care Policy and Research)

➤ A = molto forte

deriva prevalentemente da revisioni sistematiche di studi controllati randomizzati o da studi controllati randomizzati (**liv. di evidenza Ia, Ib**)

➤ B = abbastanza forte


deriva prevalentemente da studi controllati non randomizzati, da studi osservazionali prospettici o da studi osservazionali retrospettivi ma non da studi controllati randomizzati (**liv. di evidenza IIa, IIb, III**)

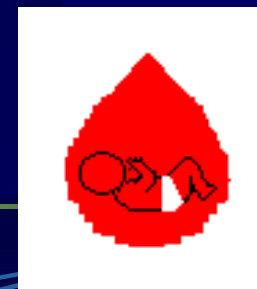
➤ C = debole/Parere di esperti

in assenza di studi che valutino l'efficacia dell'intervento in letteratura, quando vi è consenso dei professionisti esperti nel raccomandare una procedura (**liv. di evidenza IV**)

RACCOMANDAZIONI per la TERAPIA TRASFUSIONALE in NEONATOLOGIA

SOCIETÀ' ITALIANA DI NEONATOLOGIA E GRUPPO DI STUDIO DI EMATOLOGIA NEONATALE

 Motta M, Casadei AM, Casani A, Chirico G, D'ajello L, Delvecchio A, Frusca T, Muratori C, Perrone S, Pinto L, Radicioni M, Rugolotto R, Santilli T, Testa M, Anzoni R e Bonocore G



SOCIETÀ ITALIANA DI MEDICINA TRASFUSIONALE E IMMUNOEMATOLOGIA

Tripodi G, Antoncecchi S, Fanetti G, Girelli G, Isernia P, Marini M, Perugini L, Pupella S, Reali G, Salvaneschi L, Tiburzi A e Bonomo P



Aspetti generali della trasfusione pediatrica

- Sostanziale mancanza di studi clinici randomizzati in pediatria (e ancora di più nel neonato critico)*
- Nella > parte dei casi i criteri adottati derivano dall'esperienza clinica e dalla mutua condivisione dei protocolli proposti

Ovvero:

Livello di evidenza = IV

Forza della raccomandazione = C

- Altre volte si adattano al pediatrico evidenze estrapolate dall'adulto sottovalutando le differenze tra neonati ed adulti.....

Aspetti specifici del neonato

- < compenso cardiocircolatorio
- Elevata HbF.....ipossia tissutale
- Scarsa risposta reticolocitaria all'anemia
- Immaturità renale ed epatica (K+, Citrato, Conservanti)
- Immaturità immunologica (susceptibilità alle infezioni)

➤ *Low birth weight (LBW): < 2500 g*

➤ *Very low birth weight (VLBW): < 1500 g*

➤ *Extremely low birth weight (ELBW): < 1000 g*

RACCOMANDAZIONI per la TERAPIA TRASFUSIONALE in NEONATOLOGIA:

Obiettivi

- Queste raccomandazioni rappresentano le opinioni degli autori ed includono, ove presenti, dati basati sull'evidenza
- Esse rappresentano una guida condivisa che garantisca comunque ai singoli operatori una libertà decisionale nelle diverse situazioni cliniche, il cui scopo è uniformare i protocolli trasfusionali in uso nelle diverse Unità di Terapia Intensiva Neonatali e nei diversi SIT

Raccomandazioni particolari:

Per ridurre il rischio infettivologico:

- Donatori periodici
- Utilizzo di emocomponenti cellulari suddivisi in subunità da assegnare al medesimo paziente
- Utilizzo di emocomponenti cellulari CMV-safe (leucodepleti –**IIb, B** -o da donatori CMV neg.)

nel feto;

nel neonato <1500 g e/o < 30 sett. EG;

nel neonato con immunodeficienza;

candidati all'allograpianto;

donne in gravidanza

LEUCODEPLEZIONE ed effetti sfavorevoli della trasfusione di leucociti

- ❖ FNHTR-Reazione post-trasfusionale febbrile non emolitica (IL-1b,IL-6,IL-8, TNF α)
- ❖ Infezioni trasmesse tramite leucociti (virus, batteri, prioni ?)
- ❖ Refrattarietà piastrinica (HLA, HPA)
- ❖ Immunomodulazione
- ❖ TA-GVHD
- ❖ TRALI (Transfusion-related Acute Lung Injury) (?)

Contenuto medio di leucociti negli emocomponenti

emocomponente	N° di leucociti per unità
Sangue intero	10^9
Concentrato eritrocitario	5×10^8
Concentrato plt da singolo donatore	5×10^7
Concentrato plt da aferesi	10^6-10^8
Plasma fresco	5×10^5
Plasma fresco congelato	Non dimostrabili

Non-Hemolytic febrile transfusion reaction (NHFTR)

- ❖ È la più comune reazione trasfusionale
- ❖ È indotta da citochine liberatesi dai leucociti durante la conservazione degli emocomponenti (IL-1b, IL-6, IL-8, TNF α)
- ❖ La leucodeplezione ($< 5 \times 10^6$ WBC) è efficace solo se precoce, altrimenti non rimuove sufficientemente le citochine
- ❖ N.B. In realtà sia la frequenza che l'intensità del quadro clinico risultano notevolmente ridotti anche in caso di semplice riduzione del buffy coat al momento della scomposizione dell'unità di sangue intero.

Infezioni trasmesse tramite leucociti

- ❖ **Virus: CMV** (2 trials dimostrano che emocomponenti leucodepleti CMV+ e non leucodepleti CMV- sono altrettanto efficaci nel ridurre le infezioni da CMV nei trapiantati), **HTLV I, EBV** (non esiste analogo dimostrazione di efficacia, ma la trasmissione appare ridotta con prodotti leucodepleti)
- ❖ **Batteri: Y. Enterocolitica** (nei prodotti leucodepleti *pre-storage* la y. Enterocolitica non si sviluppa o lo fa lentamente)
- ❖ **Protozoi: Trypanosoma Cruzi** (la leucodeplezione ne riduce la trasmissione in studi sperimentali)

Refrattarietà piastrinica

- ❖ **Refrattarietà:** incremento piastrinico inadeguato dopo 2 trasfusioni piastriniche consecutive in assenza di motivazioni cliniche note che influenzino l'incremento atteso. Spesso sovrastimata per la difficoltà ad identificare altre cause.
- ❖ **Eziologia:** anticorpi anti-HLA (raramente anti-HPA) nel ricevente
- ❖ La leucodeplezione di PLT e GRC riduce l'incidenza dell'allo-immunizzazione e quindi la refrattarietà piastrinica, soprattutto nei pazienti non precedentemente sensibilizzati (es. gravidanze o pregresse trasfusioni).
- ❖ Non esistono TCR che dimostrino vantaggi della filtrazione *pre-storage* versus *post-storage*, ma è possibile che esistano

Immunomodulazione

- ❖ Molti studi clinici riportano dati relativi agli effetti immunosoppressivi delle trasfusioni (trapianti renali, infezioni post-chirurgiche, recidive di K colon)
- ❖ L'immunosoppressione appare da tempo ben dimostrabile in modelli animali e, più di recente, anche nell'uomo,

Altro

TA-GVHD

- ❖ Dipende dalla trasfusione di linfociti ($> 10^4$ linfociti/Kg peso)
- ❖ La prevenzione standard della TA-GVHD rimane l'irradiazione degli emocomponenti

TRALI

- ❖ Non viene di norma prevenuta dalla filtrazione in quanto causata da anticorpi anti-leucociti presenti nel plasma del donatore
- ❖ In cardiocirurgia lo stress da riperfusione è determinato dai leucociti del donatore ma non vi sono evidenze di miglioramento clinico usando prodotti leucodepleti = ruolo dei leucociti del paziente che ricircolano in extracorporea

Tecniche di filtrazione

- ❖ Filtrazione in linea
- ❖ Filtrazione *pre-storage*
- ❖ Filtrazione *post-storage*
- ❖ Filtrazione *bed side*

Filtrazione in linea

- ❖ Si realizza su sangue intero entro le 3 ore dal prelievo
- ❖ Il sistema viene mantenuto chiuso
- ❖ Si ha immediata disponibilità di emocomponenti già filtrati in emoteca con riduzione dei carichi di lavoro
- ❖ Viene evitata la formazione di microaggregati leucocitari (possibile ostacolo alla successiva leucodeplezione)
- ❖ Viene evitata la produzione di frammenti leucocitari, con liberazione di BRM, antigeni HLA e granulocito-specifici, metaboliti (elastasi, istamina, enzimi idrolitici e tripsino-simili)
- ❖ Riduzione della capacità battericida dovuta ai fagociti (*Yersinia enterocolitica*)

Filtrazione *pre-storage*

- ❖ Si realizza dopo la preparazione degli emocomponenti (su GRC o conc. PLT)
- ❖ Il sistema viene mantenuto chiuso grazie all'utilizzo di connessione sterile
- ❖ Presenta in sostanza i medesimi vantaggi e svantaggi della filtrazione in linea

Filtrazione *post-storage*

- ❖ Viene effettuata a domanda per la trasfusione di emocomponenti in pazienti selezionati
- ❖ Il prodotto deve venir preparato poco prima della trasfusione (necessità di personale e durata limitata del prodotto in caso di rinvio della trasfusione)
- ❖ Rispetto al bed-side:
 - Permette di istituire accurati controlli di qualità
 - Permette di rispettare i parametri ideali per una efficace leucodeplezione (basse temp., velocità di flusso)
 - Possono venir eliminati i BRM deplasmando il prodotto

Filtrazione *bed side*

- Largamente utilizzato per la semplicità d'uso
- Ridotte possibilità di procedere a controlli di qualità accurati e di mantenere le condizioni ideali di funzionamento del filtro
- Scarsa eliminazione di frammenti leucocitari e BRM dai prodotti meno recenti
- Impossibilità di permettere un rapido flusso dell'emocomponente durante la somministrazione
- Scarsa applicabilità alla casistica pediatrica

Raccomandazioni particolari:

Prevenzione della GvHD

- L'unica lavorazione efficace nel prevenire la GvHD è l'**irradiazione** degli emocomponenti cellulari (**III, B**) con una dose compresa tra 25 e 50 Gray (2500-5000 rad)
- In particolare si considera obbligatoria l'irradiazione in caso di:
 - trasfusione intrauterina (TIU) di GR e PLT
 - trasfusione di GR e PLT (anche ET) dopo TIU
 - trasfusione di granulociti
 - trasfusione di GR e PLT nel neonato <1500 g e/o < 30 sett. EG;
 - trasfusione di GR e PLT nel neonato con immunodeficienza
 - donazione da parente di I° o II° grado o HLA related
 - **trasfusione nel paziente neoplastico: non sempre necessario ma indicato in molte circostanze.....**

Trasfusione in onco-ematologia

riceventi di trapianto di cellule staminali emopoietiche

- Allotrapianto: (fino alla fine della profilassi della GvHD o al raggiungimento di linfociti $> 1 \times 10^9/L$)
- Autotrapianto: (nei 7 giorni precedenti la raccolta delle CSE e fino a tre mesi dopo il trapianto o 6 mesi nei pazienti sottoposti a TBI)

Pazienti affetti da Linfoma di Hodgkin

Pazienti trattati con analoghi delle purine (fludarabina, cladribine e deoxicoformicina)

Pazienti in chemioterapia in cui il protocollo prevede intensi livelli di immunosoppressione

Raccomandazioni particolari:

Prevenzione delle complicanze metaboliche

Qualora si eseguano trasfusioni di grandi volumi (>20 mL/Kg) occorre tener conto gli effetti della conservazione sul sangue (CE o sangue ricostituito):

- **rilascio di potassio intracellulare nel sovranatante**
- **Riduzione della concentrazione di 2,3-DPG**
- **Tossicità da additivi**

E' necessario utilizzare:

CE "freschi" (<5 giorni), eventualmente deprivati del SAG-mannitolo

Se non disponibili: si possono utilizzare prodotti più vecchi previo lavaggio

Raccomandazioni particolari:

Irradiazione e potassio:

- L'irradiazione deve avvenire entro i 14 giorni dalla raccolta e trasfusi entro 48 ore dalla irradiazione. (in alternativa, entro 28 giorni dalla raccolta ma rimuovendo l'eccesso di potassio e citochine mediante lavaggio)
- In caso di TIU o trasfusione di grandi volumi utilizzare CE freschi (max. 5 giorni) e trasfondere entro 24 ore dalla irradiazione
- In caso di ripetute trasfusioni di piccoli volume conviene irradiare la sola frazione destinata alla trasfusione piuttosto che l'intera unità (IV, C)

Emocomponenti per TIU

Emazie concentrate

- Gruppo O/Rh neg. In caso di MEN anti-D (se noto il gruppo del feto e non vi è incompatibilità ABO è possibile utilizzare emazie omogruppo)
- In ogni caso compatibili con il siero materno (ovvero prive dell'antigene verso cui la madre ha prodotto anticorpi)
- < 5 giorni, leucodeplete e irradiate, eventualmente lavate con fisiologica
- Ht 0,75-0,85 trasfondere a 5-10 mL/min

Concentrati piastrinici

- Leucodeplete, irradiate,
- si possono utilizzare, in assenza di piastrine compatibili, le piastrine materne lavate, leucodeplete ed irradiate
- Trasfondere molto lentamente (1-5 mL/min)

Emocomponenti per ET

Sangue intero ricostituito (l'uso di sangue in toto è da proscrivere) (IV,C)

EMAZIE: Omogruppo o gruppo ABO/Rh compatibile con il neonato e con il plasma materno: in particolare Rh(D) negativo nelle MEN Rh (D) di gruppo O nelle MEN ABO

- < 5 giorni (se non possibile lavate)
- Leucodeplete e irradiate (se indicato)
- Privato del conservante

PLASMA: quando è possibile usare del sangue omogruppo utilizzare il plasma dello stesso donatore da cui si ottengono le emazie (altrimenti usare plasma AB da altro donatore)

PRODOTTO FINALE:

- Ht: 0,40-0,60 (160-200 mL/kg per lo scambio di doppio volume)
- Trasmesso entro 24 ore dalla produzione e entro 48 dalla irradiazione

Emocomponenti per trasfusioni di piccoli volumi (10-20 mL/Kg)

Emazie concentrate:

- Omogruppo o gruppo ABO/Rh compatibili con il neonato e con il siero della madre
- Ht finale 0.50-0,70
- Leucodeplete, irradiate (se indicato)
- Raccolte più di recente possibile (in ogni caso <35 giorni se in SAG-mannitolo o <28 giorni in CPD-A) (I,A)
- Se possibile aliquotate in subunità da destinarsi al medesimo paziente

Plasma fresco congelato:

- Gruppo ABO compatibile o AB
- Preferibilmente da aferesi, aliquotato in subunità e “safe” (inattivato o da quarantena)

Quando e quanto utilizzare la leucodeplezione ?

Aspetti da considerare:

- Costo (rapporto costo/beneficio)
- Aspetti organizzativi (raccolte esterne, tempi di esecuzione ecc.)
- Aspetti inerenti le politiche sanitarie che vengono perseguite:

Il modello inglese e l'europa.....

vCJD

- **1980** = identificazione della BSE in UK, trasmessa ai bovini da mangimi contenenti farine animali (comprese pecore infettate da scrapie)
- **1995** = 1° caso di adolescente con CJD atipico chiamato vCJD

età esordio 26 anni vs 65 anni

Sopravvivenza 14 mesi vs 4-6 mesi

Localizzazione delle aree degenerate differente, con specifiche alterazioni EEC e RM

BSE e vCJD

- Summary of vCJD cases (UK)

Età di esordio (mediana): 26 anni

Età del decesso (mediana): 28,5 anni

Durata della malattia (mediana): 14 mesi

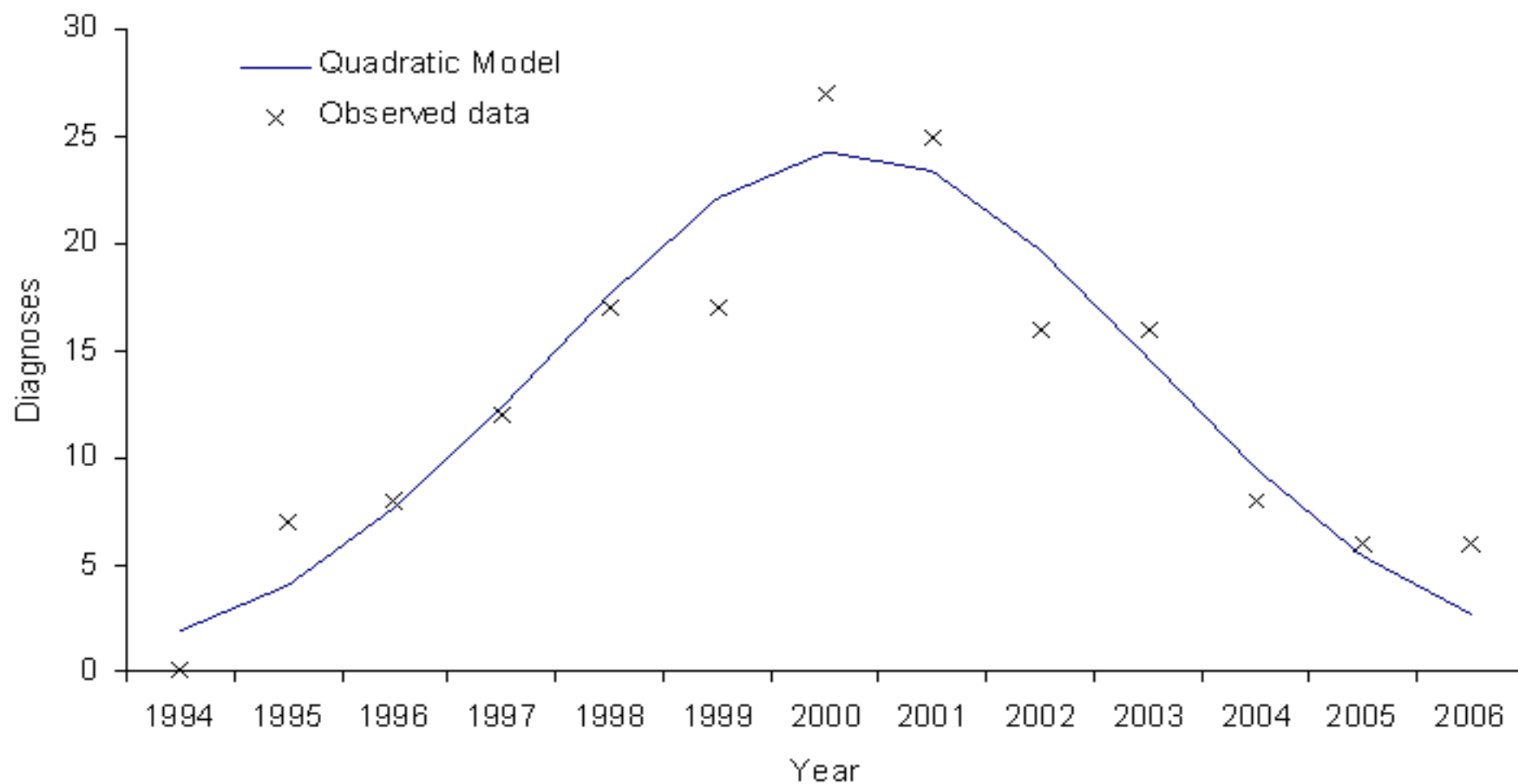
NB: le indagini genetiche dimostrano che tutti i casi indagati (123) mostrano omozigosi per metionina al codon 129 del gene codificante il prione.

● Deaths from definite vCJD (confirmed):	114
● Deaths from probable vCJD (without neuropathological confirmation):	48
● Deaths from probable vCJD (neuropathological confirmation pending):	1
● Number of deaths from definite or probable vCJD:	163
● Number of definite/probable vCJD cases still alive:	3
● Total number of definite or probable vCJD cases (dead and alive):	166

(Table updated 16 January 2008)

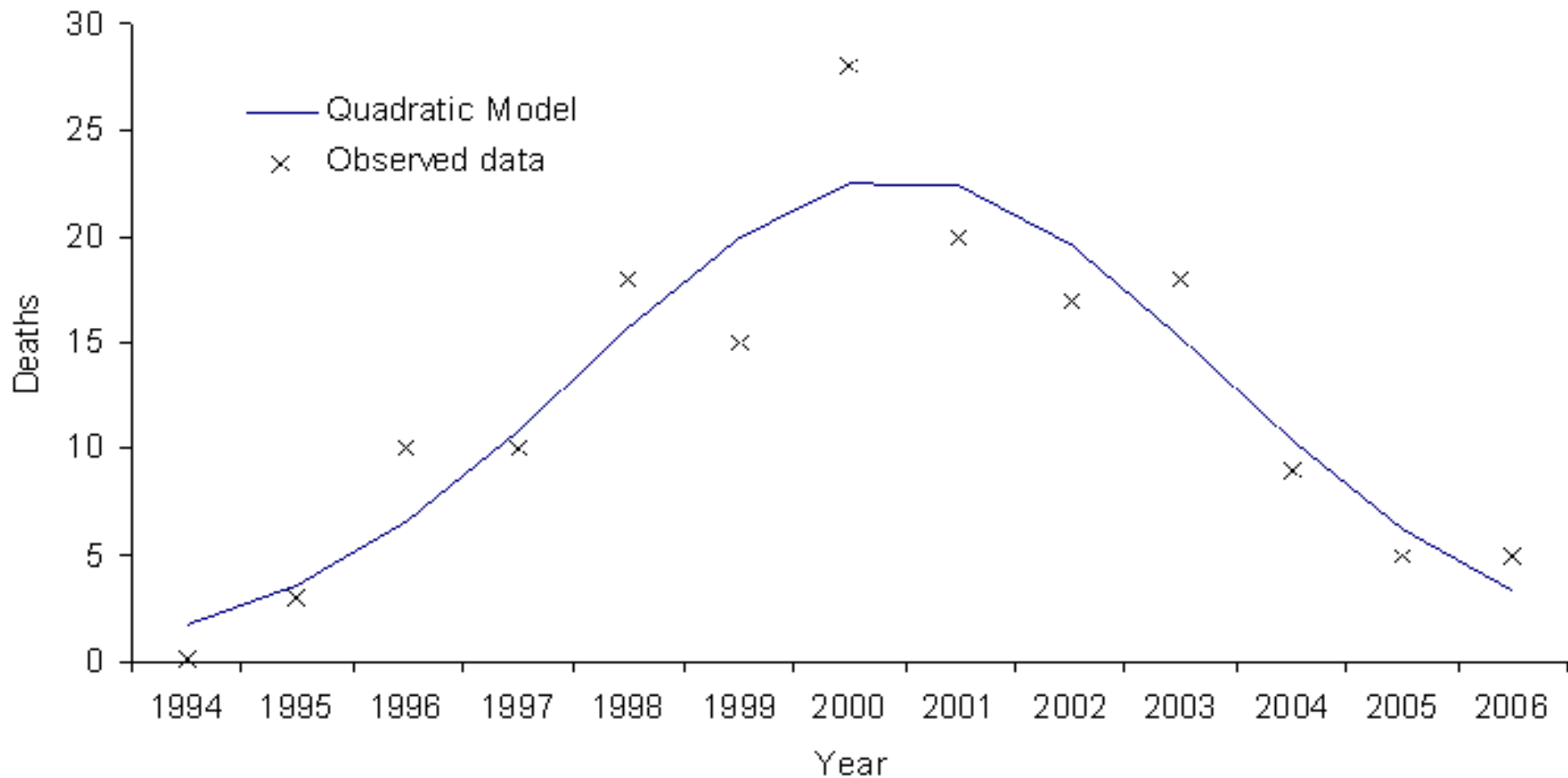
Diagnosi di vCJD (*) dati aggiornati al 2-2-2007

Figure 1: Quadratic-exponential model for vCJD diagnoses incidence trend



Decessi da vCJD (*) dati aggiornati al 2-2-2007

Figure 2: Quadratic-exponential model for vCJD deaths incidence trend



VARIANT CREUTZFELDT-JAKOB DISEASE CURRENT DATA (OCTOBER 2007)

COUNTRY	TOTAL NUMBER OF PRIMARY CASES (NUMBER ALIVE)	TOTAL NUMBER OF SECONDARY CASES: BLOOD TRANSFUSION (NUMBER ALIVE)	CUMULATIVE RESIDENCE IN UK > 6 MONTHS DURING PERIOD 1980-1996
UK	163 (3)	4 (0)	166
France	22 (2)	-	1
Republic of Ireland	4 (1)	-	2
Italy	1 (0)	-	0
USA	3 [†] (0)	-	2
Canada	1 (0)	-	1
Saudi Arabia	1 (1)	-	0
Japan	1* (0)	-	0
Netherlands	2 (0)	-	0
Portugal	2 (1)	-	0
Spain	1 (0)	-	0

[†] the third US patient with vCJD was born and raised in Saudi Arabia and has lived permanently in the United States since late 2005. According to the US case-report, the patient was most likely infected as a child when living in Saudi Arabia.

*the case from Japan had resided in the UK for 24 days in the period 1980-1996

BSE e vCJD

- **2004:** 1° segnalazione di possibile trasmissione attraverso le trasfusioni:
- Unità di GRC donata da un paziente deceduto per vCJD 3,5 anni prima dell'esordio clinico della malattia
- Il ricevente si è ammalato di vCJD 6,5 anni dopo aver ricevuto la trasfusione

(Llewlyn et al. LANCET 2004, 363:417-421)

BSE e vCJD

Ad oggi: 4 segnalazioni di trasmissione attraverso le trasfusioni:

2° caso

- **2004: paziente deceduto (per altre cause) 5 anni dopo la trasfusione di CE da donatore che ha sviluppato vCJD 18 mesi dopo la donazione: a livello autoptico dimostrava il prione nella milza e in un linfonodo cervicale. No prioni nel SNC e assenza di clinica per vCJD. Eterozigote per M al codon 129**

BSE e vCJD

3° caso

- **paziente con diagnosi di vCJD 6 anni dopo la trasfusione di CE da donatore che ha sviluppato vCJD 20 mesi dopo la donazione.**

4° caso

- **paziente con diagnosi di vCJD 8,5 anni dopo la trasfusione di CE da donatore che ha sviluppato vCJD 17 mesi dopo la donazione.**

N.B. nei casi 3 e 4 il donatore era il medesimo

N.B.2 tutti (salvo il 2°, eterozigote) erano omozigoti per metionina al codon 129.....

BSE e vCJD

Esistono stime di rischio per la trasmissione della vCJD tramite sangue?

Transf Clin Biol 2006;13:320

Modello matematico: 900 casi da oggi al 2080

Modello "realistico": 250 casi da oggi al 2080

Conclusioni:

scenari in cui si è di fronte a una diffusione epidemica sostenuta sono ritenuti altamente improbabili

Provocazione del 2003

- Il tasso di crescita dei casi di vCJD è molto inferiore alle previsioni iniziali e non mostra l'andamento esponenziale atteso per una così massiccia esposizione a carne infetta (**mentre la curva osservata nei bovini mostrava una crescita esponenziale tra il 1983 e il 1988 con 350.000 casi nel 1988, picco dell'epidemia-Nature, 1996**)
- Il tasso di crescita sembra meglio rappresentare una patologia rara precedentemente misconosciuta e messa in evidenza dalla maggiore accuratezza nel classificare casi precedentemente non classificati nell'ambito del CJD (N.B. nella prima descrizione della vCJD - *Lancet 1996* - **è degno di nota che i primi 10 casi descritti non sarebbero entrati nei criteri fissati dall'UK Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit! Ovvero non sarebbero stati registrati.....**)

BSE e vCJD

Provvedimenti di prevenzione in ambito trasfusionale:

- **In Italia:** Esclusione dalla donazione per soggiorni complessivi superiori a 6 mesi nel Regno Unito tra il 1980 e il 1996
- Controllo sui casi sospetti di CJD nei donatori (ad oggi 6 segnalazioni)
- **La scelta inglese: Leucodeplezione totale (?) e utilizzo di soli plasmaderivati da plasma non prelevato nel Regno Unito**

...e se fosse tutto sbagliato?

- **A 25 nm virion is the likely cause of transmissible spongiform encephalopathies.** (*Proc Natl Acad Sci U S A. 2007*)

The transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) such as endemic sheep scrapie, sporadic human Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), and epidemic bovine spongiform encephalopathy (BSE) may all be caused by a unique class of "slow" viruses. This concept remains the most parsimonious explanation of the evidence to date, and correctly predicted the spread of the BSE agent to vastly divergent species. **We had repeatedly found approximately 25-nm-diameter virus-like particles in highly infectious brain fractions with little prion protein (PrP), and therefore we searched for similar virus-like particles in situ in infected cell lines with high titers.**

***Grazie per
l'attenzione.....***

