

Organizace skladování a výdeje transfuzních přípravků Sekundární výroba

SIMONA HOHLOVÁ

TRANSFUZNÍ A TKÁŇOVÉ ODDĚLENÍ

 **FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO**

Osnova

- ▶ Definice + obecné poznámky
- ▶ Příjem TP na sklad
- ▶ Skladování TP
- ▶ Monitorování TP
- ▶ Výdej TP
- ▶ Transport TP
- ▶ Sekundární úprava TP

Organizace skladování a výdeje TP

- ▶ Vyhláška MZ ČR 143/2008 (vyhláška o lidské krvi)
- ▶ Skladovací podmínky musí zajistit optimální životnost a funkčnost skladovaných TP po celou dobu jejich skladování
- ▶ Uložení TP nesmí vést k jejich mechanickému poškození či bakteriální kontaminaci (produktu i vaku)
- ▶ Nutno zajistit celistvost balení, ochrana před znečištěním, poškozením a záměnou
- ▶ Dodržení doby použitelnosti TP a suroviny pro další výrobu
- ▶ Nutná:
 - ▶ validace postupů skladování a distribuce
 - ▶ písemné postupy a záznamy
- ▶ Systém kvality ZTS - správná výrobní praxe

Organizace skladování a výdeje TP

- ▶ Zařízení transfuzní služby (ZTS) = výrobci transfuzních přípravků
- ▶ **Transfuzní přípravky:**
 - ▶ individuálně vyráběné léčivé přípravky (IVLP), které plní výhradně substituční funkci
 - ▶ vyráběny z krve dobrovolných bezplatných dárců, vždy z krve jednoho dárce, z jednotlivého odběru nebo aferézy
 - ▶ výjimka: směsné trombocyty, kryoprotein (obvykle směs krevních složek od 4-6 různých osob-dárců krve)
 - ▶ expedovány nativní nebo zmrazené
 - ▶ baleny ve vacích (PVC-DEHP-ftaláty)
 - ▶ v ČR t.č. nejsou povinně ošetřeny metodami inaktivace patogenů

Organizace skladování a výdeje krevních derivátů

▶ **Krevní deriváty**

- ▶ hromadně vyráběné léčivé přípravky (HVLP)
- ▶ vyráběny komerčně ve frakcionačních centrech
- ▶ ze směsí plazmy od tisíců osob nebo rekombinantními technikami (koagulační faktory VII, VIII a IX)
- ▶ jsou povinně ošetřeny metodami inaktivace patogenů minimálně dvěma způsoby (eliminace obalených a neobalených virů)
- ▶ baleny ve skle nebo PVC vacích (FLEXBUMIN)
- ▶ expedovány nativní nebo lyofilizované s nutnou rekonstitucí
- ▶ jsou považovány za mnohem bezpečnější z hlediska možného přenosu krví přenosných chorob než transfuzní přípravky
- ▶ Skladování: většina 2-6°C, při pokojové teplotě do 25°C (Willfact), při -18°C a nižší (Octaplas)



Kontrolujeme:

- ▶ vzhled a neporušenost obalu
- ▶ správnost a úplnost dokumentace
- ▶ úplnost údajů na štítku přípravku a jejich shodu s dodanou dokumentací včetně zajištění podmínek skladování během přepravy



- ▶ bezpečné a oddělené skladování TP
- ▶ autologní TP oddělené od alogenních
- ▶ **doporučené vlastnosti skladovacího zařízení:**
 - ▶ dostatečná kapacita
 - ▶ vhodné osvětlení
 - ▶ snadný přístup
 - ▶ požadavky na bezpečnost práce a snadnou údržbu
 - ▶ sanace (desinfekční prostředky - silné detergenty)
 - ▶ musí splňovat bezpečnostní a technické předpisy ČR
 - ▶ v případě selhání zařízení pro skladování nebo selhání dodání el.energie
 - ▶ zaveden náhradní režim - postupy stěhování, náhradní skladovací prostory
 - ▶ napojení na náhradní zdroj



▶ **teplota**

- ▶ teplota rovnoměrná (homogenní) v celém skladovacím prostoru
- ▶ pravidelně kontrolovaná nepřetržitým monitorováním
 - ▶ teplota se zaznamenává v intervalu nejméně 15 minut
- ▶ oznámení odchylky teploty - alarm - akustický, optický
- ▶ pravidelné testování alarmu - min. 1x týdně
- ▶ centrální monitorovací jednotka, na kterou jsou napojena teplotní čidla všech skladovacích prostor ZTS (TTO - Falcon)
- ▶ u komorových zařízení - snímače registrující otevření dveří
- ▶ v zařízení na skladování trombocytů - snímač pohybu třepačky

Skladování
TP

Erytrocytové TP

Teplota:

Od +2°C do +6°C, komorová lednice

Doba skladování:

21-49 dnů ode dne odběru v závislosti na použitém konzervačním roztoku

- ery z PK do CPD 21 dnů
- ery z PK do CPD-A1 35 dnů
- ery v SAGM 42 dnů

Transport:

+1°C do +10°C, max 24 hod

Odděleně TP pro:

- aktuální zásobu
- konkrétní pacienty (s platným testem kompatibility)
- autologní TP

Přípravky nevyšetřené, určené k likvidaci a proexpirované TP - musí být skladovány odděleně.

Hemolýza na konci doby skladování méně než 0,8%.

Při poklesu teploty pod 0°C jsou ery TP likvidovány

Skladování
TP

Trombocytové TP

Teplota:

Od +20°C do +24°C, inkubátor s agitátory

Doba skladování:

5-7dnů, v závislosti na použitých roztocích a provedení vyšetření sterility přípravku

Transport:

Od +20°C do +24°C, při přepravě kratší než 10 hod není třeba zajišťovat třepání

Agitace:

zajišťuje výměnu plynů přes stěny vaků

Skladování
TP

Plazmové TP

Teplota:

-25°C a nižší, mrazící skříně, pulty, komory

Doba skladování:

-25°C a nižší 36 měsíců

-18 až -25°C 3 měsíce

Transport:

Teplota shodná s teplotou skladování

Zachování funkce koagulačních faktorů (zejm. f.VIII) a přirozených inhibitorů koagulace - zajištěno šokovým zmrazením během 1 hodiny v jádře vaku na teplotu -30°C.

Před použitím:

rozmražení při teplotě 37°C v kontrolovaném prostředí, po rozmražení nesmí být v plazmě sraženiny.

FFP = fresh frozen plazma

▶ z odběru PK

- oddělí se do 6-ti hod po odběru PK, nejdéle do 18-ti hod.
- pokud zchlazení na 20-24°C, lze před centrifugací skladovat až 24 hod.

▶ aferetická

- do 6-ti hod. šokové zmražení

KP = kryoprotein

plazma se rozmrazuje při teplotě 2-6°C, při následné centrifugaci se oddělí kryoprotein od supernatantní plazmy, která se odstraňuje do satelitního vaku

Objem: 30-40ml - šokově se zmrazuje

Obsah: fVIII, vWf, fbg, f.XIII, fibronektin

Skladování
TP

Granulocyty

Teplota:

Od +20°C do +24°C

Doba skladování:

krátkodobě, určeny k okamžitému podání, max 24 hod bez třepání

Transport:

Od +20°C do +24°C

- připravují se aferézou od dárce po předchozí stimulaci kostikoidy nebo G-CSF
- granulocyty resuspendovány v plazmě (TP <500ml, $0.9-1.2 \times 10^{10}$ /jednotka
- přípravek obsahuje příměs erytrocytů=>nutný test kompatibility
- vždy ozářit!

Skladování
TP

Kryokonzervace

Erytrocyty - kryokonzervace možná 7 dnů po odběru přidáním glycerolu a následným zmražením

Teplota skladování:

-60°C až -80°C, elektrický mrazicí box, při přidání glycerolu o vysoké koncentraci
-140°C až -150°C, v parách kapalného dusíku, při přidání glycerolu o nízké koncentraci

Doba skladování:

30let

Před použitím:

rozmražení a odstranění kryoprotektiva promýváním, přidání resuspenzního roztoku, podat co nejdříve po přípravě, krátkodobé skladování (do 24 hod) a transport při teplotě 2-6°C

Trombocyty - kryokonzervace zahrnuje přidání kryoprotektivního roztoku k původnímu přípravku trombocytů do 24 hod a následné zmražení.

Teplota skladování:

-80°C v elektrickém mrazicím boxu, kryoprotektivum dimetyl sulfoxid (DMSO 6%)
-150°C v parách kapalného dusíku

Doba skladování:

24 měsíců

Před použitím:

rozmražení a odstranění kryoprotektiva promýváním, přidání resuspenzního roztoku, podat co nejdříve po přípravě, krátkodobé skladování (do 12-ti hod) a transport při teplotě 20-24°C
Po rozmražení trombocytů není přítomen „swirling“ fenomén



- ▶ provádí pracovník, který je oprávněn provádět výdej na základě písemného pověření
- ▶ TP je vydán na základě žádanky (Žádanka o výdej TP)
- ▶ vydaný TP je provázen dokumentací, která umožňuje ověřit název a adresu vydávajícího ZTS, identifikační údaje ZZ, které je odběratelem TP, identifikační číslo a název TP, příp. požadavky na přepravu
- ▶ příbalový leták
- ▶ dále umožňuje ověřit datum provedení a výsledek předtransfuzního imunohepatologického vyšetření (pokud se provádí) a podpis zaměstnance, který vyšetření provedl
- ▶ pokud TP pro konkrétního pacienta - jméno, příjmení, rodné číslo
- ▶ ZTS
 - ▶ vydávají TP pro hemoterapii pro daného pacienta
 - ▶ prodávají jiným ZTS



- ▶ během transportu musí být dodrženy skladovací podmínky pro jednotlivé typy TP
- ▶ dobu přepravy omezit na minimum
- ▶ přepravní boxy vytemperované dle typu TP před vložením TP, označené, chrání TP před poškozením během přepravy
- ▶ skladovací podmínky během transportu jsou monitorovány, pravidelně kontrolovány a validovány
- ▶ přeprava odebrané krve (meziproduktu), krevních vzorků a TP při teplotě 20-24°C
 - ▶ ve validovaných termoboxech/validovaném prostoru přepravního vozu s řízeným tepelným režimem
- ▶ skladování a přeprava mimo teplotní limit - havarijní mimořádné situace - o dalším použití TP/meziproduktů rozhoduje kvalifikovaná osoba ZTS

Sekundární výroba

Deleukotizace

Ozařování

Dělení TP

Promývání TP

Deleukotizace

Definice

- ▶ **deleukotizace** = leukodeplece
- ▶ odstranění leukocytů z transfuzního přípravku na hodnotu $<1 \times 10^6$ leukocytů na jednotku
- ▶ **prestorage** - v procesu výroby TP
- ▶ **poststorage** - před podáním pacientovi (výhradně filtrace) - laboratorní, výběr TP do 10-ti dnů po odběru, expirace se nezkracuje
- ▶ **deleukotizace u lůžka pacienta** (tzv. bed-side filtrace) - méně bezpečná, uvolnění bradykininu z filtru - riziko těžké hypotenze s rozvojem šokového stavu

Deleukotizace

Indikace

- ▶ opakované febrilní nehemolytické potransfuzní reakce v anamnéze
- ▶ při průkazu cytotoxických HLA protilátek
- ▶ při průkazu antigranulocytárních protilátek
- ▶ chronická léčba transfuzními přípravky (pacienti v dialyzačních programech, hematoonkologičtí pacienti)
- ▶ před a po orgánových transplantacích (kostní dřeň, srdce, ledviny, játra)
- ▶ imunosuprimovaní pacienti
- ▶ nedonošené děti a novorozenci
- ▶ intrauterinní transfuze
- ▶ těhotné ženy
- ▶ u dětí po operacích srdce a velkých cév

Ozařování TP

Definice

- ▶ představuje účinnou prevenci proti TA-GvHD (*transfusion associated graft versus host disease* = s transfuzí spojená reakce štěpu proti hostiteli), může vznikat po aplikaci transfuzních přípravků jedincům s nevyvinutým nebo poškozeným imunitním systémem
- ▶ ozařuje se paprsky gamma v dávce 25-50Gy, zdroj radionuklid Cs
- ▶ **princip:**
 - ▶ zničení viability T lymfocytů, zablokováním jejich proliferační aktivity
 - ▶ destrukce buněčné membrány ery (akceptovatelná hemolýza)
 - ▶ ozařujeme TP 14 dnů po odběru, doba expirace se zkracuje na 28 dní
- ▶ ozáření TP nenahrazuje deleukotizaci a neničí žádná krví přenosná agens

Ozařování TP

Indikace

- ▶ primární nebo sekundární imunologický defekt
- ▶ orgánové transplantace a transplantace krvetvorných buněk
- ▶ vysokodávkovaná chemoterapie
- ▶ Hodgkinova choroba
- ▶ celotělové ozáření
- ▶ intrauterinní transfuze
- ▶ transfuze novorozencům
- ▶ transfuzní přípravky získané od pokrevních příbuzných
- ▶ transfuze HLA kompatibilních transfuzních přípravků

Dělení TP



- ▶ v situacích, kdy je nutné pro pacienta zajistit menší objem transfuzního přípravku (pediatrický pacient)
- ▶ TP můžeme rozdělit (nebo oddělit jeho část) - pomocí sterilní svářečky (zabezpečení uzavřeného systému výroby)
- ▶ nový TP → nové číslo TP

Dělení TP

Erytrocyty



- ▶ tzv. pediatrická jednotka = erytrocyty pro podání novorozencům a kojencům
 - ▶ objem 25-150ml (15ml/kg)
 - ▶ čerstvé, do 5 dnů

(při delším skladování erytrocytů vzrůstá extracelulární koncentrace K-riziko pro dítě s nízkou tělesnou hmotností)
- ▶ deleukotizované (prevence přenosu CMV transfuzí)
- ▶ ozářené (prevence TA-GvHD), 25-50Gy, podat do 48hod
- ▶ náhradní roztok v TP (ve FN Brno se neliší od TP pro dospělé pacienty)

Dělení TP

Trombocyty



- ▶ pediatrická jednotka trombocytů – trombocyty z aferézy de leukotizované resuspendované v náhradním roztoku SSP+
 - ▶ indikace u dětí:
 - ▶ ŽOK, těžké trombocytopenie (zvýšená utilizace nebo nižší produkce v KD)
 - ▶ při hodnotách méně než $50 \times 10^9/l$ (hematoonkologie méně než $10 \times 10^9/l$, pokud nejsou krvácivé projevy)
-
- ▶ dodržování ABO RhD kompatibility - standard
 - ▶ 5-10 ml/kg

Promývání TP



- ▶ erytrocytů, trombocytů fyziologickým roztokem = odstranění plazmatických bílkovin obsažených v původním přípravku
- ▶ po centrifugaci se odstraní supernatant a přidá se resuspenzní roztok, postup se opakuje 2-3x
- ▶ při použití FR je nutné zkrátit expiraci i při práci v uzavřeném systému (5 dní)
- ▶ „ERYTROCITY PROMYTÉ“ 40gHb, htk 0,65-0,75, obsah bílkoviny ve finálním supernatantu je nižší než 0,5g na jednotku
- ▶ indikace:
 - ▶ závažné alergické reakce na příměs plazmatických proteinů v TP
 - ▶ prevence potransfuzní reakce u pacientů s IgA deficitem a současně přítomnou protilátkou anti-IgA
 - ▶ není náhrada deleukotizace